

Současné možnosti léčby BRAF V600E mutovaného metastatického kolorektálního karcinomu

Marián Liberko^{1,2}, Renata Soumarová^{1,2}

¹Onkologická klinika, 3. LF UK a FNKV, Praha

²3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha

Metastatický kolorektální karcinom (mCRC) je značně heterogenní onemocnění, u kterého se prognóza pacientů odvíjí od ne/přítomnosti specifických prognostických a prediktivních markerů. BRAF (v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B) V600E mutovaný mCRC, což je relativně malá podskupina mCRC, je spojen s vysokou biologickou agresivitou a krátkou dobou celkového přežití ve srovnání s jinými subtypy mCRC. Článek přináší přehled aktuálních poznatků o biologii tohoto onemocnění, možnostech systémové léčby včetně novinek v cílené terapii.

Klíčová slova: BRAF V600E, metastatický kolorektální karcinom, systémová terapie, FOLFOXIRI, encorafenib, cetuximab.

Current treatment options for BRAF V600E mutant metastatic colorectal cancer

Metastatic colorectal cancer (mCRC) is a heterogeneous disease, in which prognosis of patients depends largely on presence/absence of specific prognostic and predictive markers. BRAF (v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B) V600E mCRC, relatively small subgroup of mCRC, is characterised by high biological aggressiveness and short term survival when compared to other subtypes of mCRC. Review provides an overview about biology of this subtype, treatment options and recent advancements in targeted therapy.

Key words: BRAF V600E, metastatic colorectal cancer, systemic treatment, FOLFOXIRI, encorafenib, cetuximab.

Úvod

Kolorektální karcinom je celosvětově třetím nejčastějším nádorem a druhou nejčastější příčinou úmrtí na nádorové onemocnění (1). Díky pokrokům v řadě oblastí onkologie – ve screeningu, diagnostice, molekulární biologii se znalostí prediktivních, prognostických markerů, cílené léčby a multidisciplinárnímu přístupu, je patrný trend k poklesu mortality tohoto onemocnění. Nicméně, 15–30 % pacientů je diagnostikováno ve stadiu metastatického onemocnění a 20–50 % pacientů se vstupně lokalizovaným onemocněním do metastatického stadia dospěje.

Vzhledem k pokrokům v molekulární biologii a genetice nádorových onemocnění dochází i v případě mCRC k rozpadu zdánlivě

homogenní diagnózy na menší podjednotky, pro které je dostupná specifická cílená terapie. V současnosti je v případě mCRC nepodkročitelným minimem před zahájením systémové terapie testování RAS, (rat sarcoma virus) BRAF (v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B), MMR (miss-match repair), resp. MSI (mikrosatelitová instabilita) statutu. Stanovení těchto markerů má jak prediktivní, tak prognostický význam.

BRAF mutace u mCRC

Specifickým subtypem mCRC je BRAF mutovaný mCRC, který představuje přibližně 8–12 % případů. Gen BRAF kóduje serin-/threonin kinázu, kde mutace exonu 5 vedoucí k záporně aminokyselině valinu za glutamát vede

ke konstitutivní aktivaci kinázy, která zvyšuje buněčnou proliferaci, invazivitu a metastazování. Přítomnost BRAF V600E mutace je známý negativní prognostický marker mCRC s mediánem celkového přežívání (mOS) přibližně 12 měsíců a současně je tato mutace spojena s nižší odpovědí na standardní chemoterapii (2, 3). Mutace BRAF V600E představuje přibližně 95 % všech BRAF mutací a je spojena se specifickými charakteristikami onemocnění: vyšší věk, ženské pohlaví, pravostranná lokalizace primárních nádorů, mucinózní histologie a častá peritoneální diseminace (4). Na druhou stranu podstatně vzácnější (5 %) mutace BRAF non-V600 jsou spojovány spíše s mladším věkem, predominancí u mužů, levostrannou lokalizací primárního nádoru, nižším gradem.



MUDr. Marián Liberko
Onkologická klinika 3. LF UK a FNKV, Praha
marian.liberko@fnkv.cz

Cit. zkr: Onkologie. 2023;17(5):329–334

Článek přijat redakcí: 21. 8. 2023

Článek přijat k publikaci: 9. 10. 2023

Prognóza těchto *BRAF* non-V600 pacientů je výrazně lepší ve srovnání jak s *BRAF* V600E, tak i wt*BRAF* pacientů (mOS 60,7 vs. 11,4 vs. 43,0 měsíce, respektive; $p < 0,001$) (5).

BRAF V600E mutace je prakticky vždy vzájemně se vylučující s *KRAS* mutací a současně asi 30 % pacientů s *BRAF* mutací má mikrosatelitně instabilní onemocnění (MSI-H) (4). Přítomnost *BRAF* V600E mutace je spojena s fenotypem vysoké metylace CpG ostrůvků, což vede k hypermetylaci promotorů DNA a snížení genové exprese. V případě *BRAF* V600E mCRC je MSI-H status způsoben hypermetylací MLH1 promotoru a jeho „umlčením“ (6). Navíc pacienti s *BRAF* V600E MSI-H nádory mají lepší prognózu než pacienti s *BRAF* V600E MSS nádory, kdy je negativní prognostický vliv přítomnosti *BRAF* mutace částečně oslaben současně přítomným MSI-H statutem, kdy tento hypermutovaný fenotyp nádoru vede ve vyšší míře k rozpoznání buňkami imunitního systému v rámci tzv. imunitního dohledu (2).

BRAF mutace lze z funkčního hlediska a senzitivity na *BRAF* inhibitory dělit do 3 skupin. Třída I jsou *BRAF* mutace aktivní jako monomery, třída II jsou *BRAF* mutace aktivní pouze jako dimery a třída III jsou *BRAF* mutace s nízkou kinázovou aktivitou, tzv. kinase-dead a jejich aktivace je proto *RAS* dependentní (7, 8).

Existují i další subklasifikace *BRAF* mutovaných nádorů z hlediska transkriptomického

profilu, kdy *BRAF* mutované nádory jsou typicky zastoupené v CMS (consensus molecular subtype) 1 subtypu (9). Jiná klasifikace, z hlediska profilu genové exprese, rozděluje *BRAF* V600E nádory do dvou subtypů, BM1 a BM2. BM1 nádory představují asi 30 % *BRAF* V600E mCRC a jsou spojovány s horší prognózou, jak s ohledem na OS, tak i s ohledem na přežití bez relapsu (RFS). Na druhou stranu 70 % BM2 nádorů má lepší prognózu a i tato klasifikace je důkazem heterogenity uvnitř *BRAF* V600E mCRC a s tím spojenou různou mírou odpovědi na terapii (10).

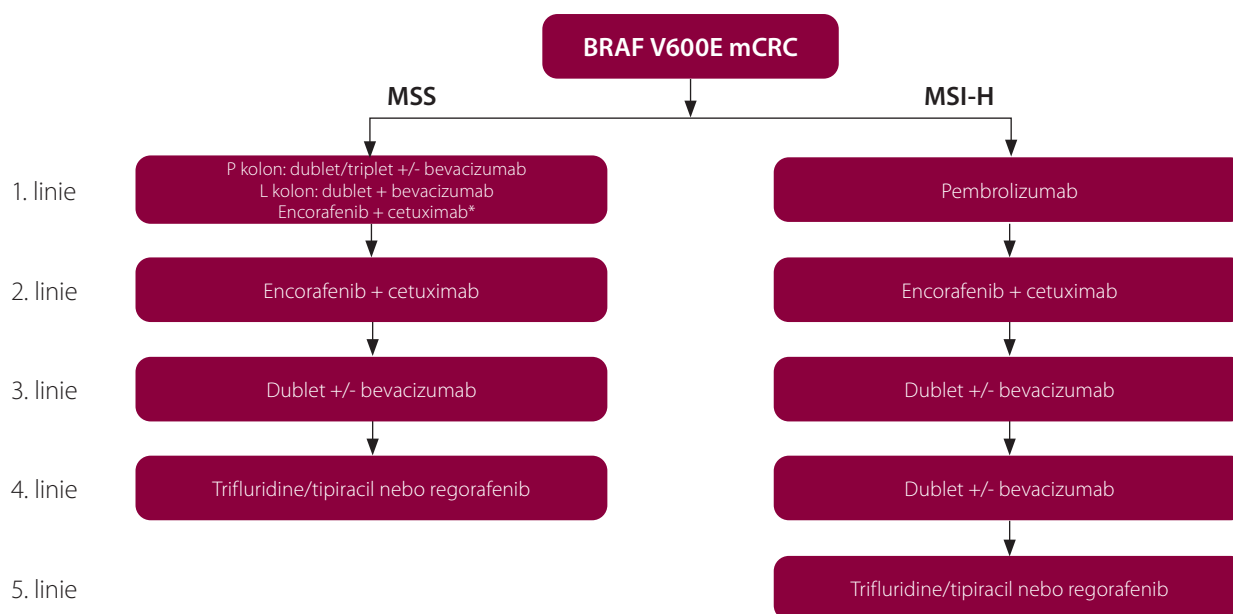
Systémová léčba BRAF V600E mCRC

Standardní léčbou pacientů s mCRC je chemoterapie založená na dubletech mFOLFOX6 nebo FOLFIRI v kombinaci s cílenou terapií dle znalosti prediktivních markerů. Existují konfliktní data s ohledem na postavení anti-EGFR preparátů v terapii *BRAF* V600E mCRC, nicméně ESMO guidelines tuto možnost nedoporučuje (11–16). Na druhou stranu jsou k dispozici data z podskupinových analýz, že anti-VEGF terapie je spojena s klinickým benefitem v populaci *BRAF* V600E mCRC. Studie fáze III VELOUR srovnávala FOLFIRI + aflibercept vs. FOLFIRI. Ve studii bylo 36 pacientů s *BRAF* V600E mCRC, mOS byl 10,3 měsíce vs. 5,5 měsíce ve prospěch přidání anti-VEGF pre-

parátu (17). Podobně ve studii fáze III RAISE, která srovnávala FOLFIRI + ramucirumab vs. FOLFIRI (celkem bylo zařazeno 41 *BRAF* V600E mCRC pacientů) bylo přidání anti-VEGF preparátu spojeno se zlepšením mOS (9,0 vs. 4,2 měsíce) (18).

Vzhledem ke známé biologické agresivitě onemocnění s *BRAF* V600E mutací byla snaha intenzifikací chemoterapie zlepšit neuspokojivé výsledky. Studie fáze II, TRIBE, randomizovala 508 pacientů s nepředléčeným mCRC do ramene s FOLFOXIRI + bevacizumab vs. FOLFIRI. V rámci primárního cíle byl PFS signifikantně prodloužen v rameni s tripletem (12,1 měsíce vs. 9,7 měsíce, $p = 0,003$) v celkové populaci při vyšší míře toxicity (19). V aktualizované analýze studie TRIBE pacienti v rameni s tripletem měli signifikantně delší mOS než pacienti v kontrolním rameni FOLFIRI (mOS 29,8 měsíce vs. 25,8 měsíce, HR 0,80, $p = 0,03$). Současně v této analýze byly publikovány i výsledky mOS podskupin wt*RAS* + wt*BRAF* vs. mt*RAS* vs. mt*BRAF* (37,1 měsíce vs. 25,6 měsíce vs. 13,4 měsíce, respektive). Studie zahrnovala i malou podskupinu 28 pacientů s *BRAF* V600E mutací, kde intenzifikace terapie vedla k prodloužení mOS (19,0 měsíce vs. 10,7 měsíce) a PFS (7,5 měsíce vs. 5,5 měsíce) (20). Tato malá podskupina byla důvodem přijetí režimu FOLFOXIRI + bevacizumab jako optimálního režimu pro *BRAF* V600E mCRC.

Obr. 1. Možný algoritmus léčby BRAF V600E mCRC



*Encorafenib je v kombinaci s cetuximabem hrazen u dospělých pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem s mutací V600E genu BRAF, kteří již dříve podstoupili systémovou terapii a mají stav výkonnosti (ECOG) 0–1. Léčba je hrazena do progresu onemocnění nebo projevů neakceptovatelné toxicity, pokud nastanou dříve.

INZERCE

Nicméně tyto výsledky nebyly potvrzeny ve studii fáze III, TRIBE-2, která randomizovala 679 pacientů do ramene s upfront FOLFOXIRI + bevacizumab s následnou reintrodukcí stejného režimu v případě progresu na maintenance terapii proti sekvenci mFOLFOX6 + bevacizumab následován FOLFIRI + bevacizumab v případě progresu. V rámci celkové populace sice i TRIBE-2 prokázala benefit intenzifikace chemoterapie v parametru PFS2 (definováno jako doba do druhé progresu – po reintrodukci FOLFOXIRI + bevacizumab, resp. po progresu na FOLFIRI + bevacizumab), kdy mPFS2 byl 19,2 měsíce vs. 16,4 měsíce (HR 0,74, $p = 0,0005$). Nicméně subanalýza 66 BRAF V600E mCRC pacientů v rámci studie TRIBE-2 neprokázala benefit intenzifikace terapie v této populaci pacientů (21).

Robustnější výsledky s ohledem na postavení intenzifikovaného režimu FOLFOXIRI + bevacizumab přinesla metaanalýza 5 italských studií (CHARTA, OLIVIA, STEAM, TRIBE, TRIBE-2). Celkem bylo v metaanalýze zahrnuto 1697 pacientů léčených FOLFOXIRI + bevacizumab ($n = 846$) nebo dublet + bevacizumab ($n = 851$). Pacienti v intenzifikovaném rameni měli delší mOS (28,9 měsíce vs. 24,5 měsíce, HR 0,81, $p < 0,001$), mPFS (12,2 měsíce vs. 9,9 měsíce, HR 0,74, $p < 0,001$), vyšší ORR (64,5 % vs. 53,6 %, $p < 0,001$), vyšší míru R0 resekce (16,4 % vs. 11,8 %, $p = 0,007$). Ve studii bylo celkem 115 pacientů s BRAF V600E mCRC (61 v experimentálním rameni a 54 v kontrolním rameni). V rámci mOS nebyl pozorován v populaci BRAF V600EmCRC rozdíl (13,586 měsíce vs. 14,507 měsíce, HR 1,14) (22).

Větší soubor BRAF V600E mCRC pacientů léčených dubletem, resp. tripletem byl publikován recentně v CAPSTAN CRC studii. Jednalo se o retrospektivní, multicentrickou observační studii hodnotící reálnou klinickou praxi léčby. Ve studii bylo zahrnuto 255 pacientů. 68,7 % pacientů bylo léčeno chemoterapií v kombinaci s cílenou léčbou a 31,3 % pacientů chemoterapií samotnou. mPFS byl velmi podobný mezi jednotlivými rameny (4,4 měsíce pro chemoterapii samotnou (dublet nebo triplet), 6,1 měsíce pro dublet + cílená léčba a 6,7 měsíce pro triplet + cílená léčba). Podobně nebyl pozorován rozdíl v parametru mOS mezi rameny (11,7 měsíce vs. 12,9 měsíce vs. 13,5 měsíce). Dle očekávání

byl triplet + cílená terapie spojen s vyšší mírou toxicity (75 %) vs. triplet samotný (50 %) vs. dublet samotný (36,1 %). I tato studie je dalším důkazem, že intenzifikace chemoterapie v populaci BRAF V600E mCRC nemusí být cesta správným směrem (23).

Nicméně existují podskupiny pacientů s BRAF V600E mCRC, kteří mohou mít benefit z intenzifikace terapie ve smyslu tripletu + cílené terapie. V podskupinové analýze výsledků studie TRIBE-2 byl nalezen benefit v PFS pro intenzifikovanou terapii pro pacienty s pravostrannou lokalizací primárního nádoru, $p = 0,05$ (24). Jednalo se ale o velmi malou populaci pacientů. Robustnější data jsou k dispozici z analýzy dat z reálné klinické praxe (BRAF BeCool), kde bylo léčeno 296 pacientů tripletem, nebo dubletem +/- cílenou terapií. Studie prokázala benefit intenzifikace terapie jednak v parametru PFS ($p = 0,010$), jednak v parametru OS ($p = 0,003$) pro pacienty s pravostrannou lokalizací primárního tumoru (25).

Cílená terapie BRAF V600E mCRC

Máme k dispozici robustní data s ohledem na benefit chemoterapie v populaci BRAF V600E mCRC a zdá se, že intenzifikace chemoterapie v kombinaci s cílenou terapií dosáhla svého maxima, resp. nevede k výrazně lepším klinickým výsledkům proti standardní chemoterapii – dublet + cílená terapie. Navíc je spojena s vyšší mírou toxicity. Úspěchy cílené terapie v léčbě BRAF V600E pozitivního maligního melanomu vedly ke snahám cílit obdobným způsobem tuto alteraci i v populaci pacientů s mCRC. Nicméně, optimistická očekávání nebyla naplněna, když vemurafenib v monoterapii nebyl spojen s klinickým benefitem u BRAF V600E mCRC (26). Podobně selhal i dabrafenib a encorafenib v monoterapii (27, 28).

In vitro studie prokázaly, že inhibice BRAF monoterapií vedla k rychlé zpětnovazebné fosforylaci EGFR a aktivaci MAPK dráhy (29). Na druhou stranu preklinická data kombinace BRAF inhibitorů a anti-EGFR preparátu byla spojena s klinickým benefitem (30).

Studie SWOG 1406 testovala tento přístup v populaci 106 pacientů s BRAF V600E mCRC, kteří byli předlčeni jedním nebo dvěma režimy. Studie randomizovala pacienty do

ramene irinotecan + cetuximab s nebo bez vemurafenibu. Primární cíl studie, PFS, byl zlepšen přidáním vemurafenibu (4,2 měsíce vs. 2,0 měsíce, HR 0,50, $p = 0,001$). Rovněž bylo dosaženo vyšší míry odpovědi (RR 17 % vs. 4 %, $p = 0,05$) a vyšší míry kontroly onemocnění (DCR 65 % vs. 21 %, $p < 0,001$). mOS byl numericky delší ve prospěch přidání vemurafenibu (9,6 měsíce vs. 5,9 měsíce). Nebylo dosaženo statisticky signifikantního rozdílu mezi rameny pravděpodobně z důvodu vysoké míry cross-over (42 %). Studie přinesla první klinická data ukazující na synergický efekt BRAF inhibitorů a anti-EGFR preparátů (31).

Slibné výsledky této kombinace vedly k iniciaci studie fáze III, která měla definitivně zakotvit kombinaci BRAF inhibitorů s anti-EGFR preparáty jako nového standardu léčby pro pacienty s BRAF V600E mCRC. Studie BEACON randomizovala 665 pacientů v poměru 1 : 1 : 1 do jednoho ze 3 ramen: encorafenib + binimetinib + cetuximab vs. encorafenib + cetuximab vs. volba terapie dle investigátora (irinotecan + cetuximab, FOLFIRI + cetuximab). Pacienti ve studii byli předlčeni jednou až dvěma liniemi systémové léčby. V rámci primární analýzy byl mOS 9,0 měsíce v rameni s tripletem a 5,4 měsíce v kontrolním rameni (HR 0,52, $p < 0,001$). V rameni s tripletem byla i vyšší míra RR ve srovnání s kontrolním ramenem (26 % vs. 2 %). mOS v rameni s dubletem byl 8,4 měsíce (HR 0,60, $p < 0,001$) (32).

Aktualizované výsledky studie BEACON při delším sledování přinesly identické výsledky s ohledem na mOS (9,3 měsíce pro triplet vs. 9,3 měsíce pro dublet). mOS v kontrolním rameni byl 5,9 měsíce. Triplet i dublet vedly k prodloužení PFS ve srovnání s kontrolním ramenem (4,5 měsíce vs. 4,3 měsíce vs. 1,5 měsíce). ORR pro triplet byl 26,8 % vs. 19,5 % pro dublet vs. 1,8 % pro kontrolní rameno. V rámci podskupinových analýz byl benefit tripletu proti dubletu identifikován v populaci s elevací CRP (HR 0,76), PS 1 WHO (0,81), nekompletně resekovaným primárním nádorem (HR 0,80) a s postižením více než 3 orgánů (HR 0,69) (33). Toxicita byla v případě tripletu i dubletu nižší než v kontrolním rameni. Kromě těchto klinických parametrů, které naznačují benefit tripletu, jsou k dispozici data i na úrovni transkriptomické, kdy pacienti s CMS4 a BM1 subtypem mohou mít větší be-

INZERCE

nefit z tripletu (34). Nicméně i v rámci populace pacientů léčených dubletem lze pozorovat velké rozdíly v účinnosti, kdy lze opět identifikovat podskupinu pacientů, u které lze očekávat signifikantní klinický benefit. Jedná se o populaci pacientů s RNF43 (ring finger protein 43) mutací (35). V případě efektivity BEACON režimu u podskupin dle CMS, BM, RNF43 mutace se jedná zatím o data, které nemají uplatnění v běžné klinické praxi, nicméně jsou důkazem potřeby identifikace dalších prediktivních markerů s cílem maximalizovat benefit terapie pro konkrétní pacienty. I přes tato důležitá data lze konstatovat, že kombinace encorafenib + cetuximab se stala novým standardem léčby pro všechny předléčené pacienty s BRAF V600E mCRC v běžné klinické praxi.

Positivní výsledky studie BEACON vedly k logické úvaze testovat tuto kombinaci v časnějších liniích léčby s vědomím vysoké biologické agresivity BRAF V600E mCRC a omezených možností léčby ve vyšších liniích v případě progresu na léčbě. Studie ANCHOR byla multicentrická, jednoramenná, otevřená studie fáze II, která hodnotila efektivitu, bezpečnost a kvalitu života kombinace encorafenib + binimetinib + cetuximab v první linii léčby BRAF V600E mCRC. Do studie bylo zařazeno 95 pacientů. Studie přinesla slibné výsledky, kdy ORR byl 47,4 % (všechny byly parciální odpovědi), mPFS byl 5,8 měsíce a mOS 18,3 měsíce. Toxicita byla zvladatelná a odpovídala známému profilu toxicity encorafenibu a cetuximabu (36).

Kombinace encorafenibu (E) + cetuximabu (C) s nebo bez chemoterapie proti standardní terapii v kontrolním rameni je testována i v aktuálně probíhající otevřené, multicentrické, randomizované studii fáze III, BREAKWATER. První výsledky, v rámci safety-lead-in populace (n = 57) byly prezentovány na kongresu ESMO 2022. Slibné výsledky v parametru ORR

pro pacienty léčené v první linii (68,4 % pro EC + mFOLFOX6 a 66,7 % pro EC + FOLFIRI), mPFS byl 9,9 měsíce pro EC + mFOLFOX6 a nebyl dosažen pro EC + FOLFIRI. Dle dostupných farmakokinetických údajů encorafenib vedl k 25 % redukci expozice irinotecanu a SN-38 a z tohoto důvodu studie BREAKWATER bude dále v experimentálním rameni pokračovat pouze v kombinaci EC + mFOLFOX6 (37).

Možnosti léčby BRAF V600E a MSI-H mCRC

Vzhledem k tomu, že přibližně 30 % pacientů s BRAF V600E mutací je současně MSI-H, nabízí se automaticky úvaha o kombinaci cílené terapie s check-point inhibitory. V tomto ohledu jsou již k dispozici první data zpravidla z časných studií fáze I a II.

Studie fáze II v populaci BRAF V600E a MSI-H mCRC hodnotila efektivitu kombinace dabrafenib + trametinib + spartalizumab (anti-PD1 monoklonální protilátka). Ve studii bylo dosaženo ORR 33 % a DCR 76 % (38). Podobný design má i aktuálně probíhající studie SEAMARK hodnotící kombinaci encorafenib + cetuximab + pembrolizumab v první linii léčby BRAF V600E MSI-H mCRC (39).

Jiná studie fáze I/II hodnotila encorafenib + cetuximab + nivolumab v populaci BRAF V600E MSS mCRC. Celkem bylo zařazeno 26 pacientů. ORR byl 50 % a DCR 96 %. mPFS 7,4 měsíce a mOS 15,1 měsíce (40).

Zdá se, alespoň dle prvních výsledků těchto studií časných fází, že kombinace BRAF inhibitoru s check-point inhibitory je spojena s klinickým benefitem jak v populaci MSS, tak i dle očekávání v populaci MSI-H mCRC.

Nabízí se ale i otázka jak postupovat v případě (ne tak zcela vzácném) současně přítomné BRAF V600E mutace a MSI-H. Léčit pacienty vstupně monoterapií BRAF inhibi-

tory, checkpoint inhibitory nebo kombinací BRAF inhibitorů a check-point inhibitorů? V současnosti nemáme k dispozici data z velkých randomizovaných studií, které by nám poskytla odpověď. Nicméně dle aktuálně dostupných podskupinových analýz studií s checkpoint inhibitory se zdá, že současná koincidence BRAF V600E mutace a MSI-H fenotypu není kontraindikací k zahájení terapie v první linii pomocí checkpoint inhibitorů.

Ve studii KEYNOTE-164, ve které byl pembrolizumab hodnocen v populaci MSI-H mCRC předléčených pacientů, byla odpověď na pembrolizumab 20 % a 55 % ve druhé nebo třetí linii léčby, s dlouhodobou léčebnou odpovědí (41). Podobně, i ve studii CheckMate-142, bylo dosaženo vysoké míry ORR (55 %) v populaci BRAF V600E, která byla podobná jako u wtBRAF populace a navíc 2letý PFS byl 35 % (42). A konečně i v rámci studie KEYNOTE-177 měli pacienti s BRAF V600E MSI-H mCRC signifikantně lepší PFS v případě léčby check-point inhibitory upfront než v kontrolním rameni s chemoterapií (43).

Závěr

mCRC s přítomností aktivační BRAF V600E mutace je onemocnění spojené s vysokou biologickou agresivitou a nedobrou prognózou. Intenzifikace systémové terapie se nejeví jako ideální postup pro tento subtyp mCRC. Vzhledem k prohlubování poznatků molekulární biologie je dnes tento subtyp léčen cílenou terapií BRAF inhibitory v kombinaci s anti-EGFR preparáty, kdy výsledky u předléčených pacientů dávají naději dalšího zlepšení prognózy pacientů v případě posunu této moderní cílené terapie do 1. linie léčby. Zdá se, že dalšího zlepšení v této populaci pacientů lze očekávat v případě kombinace s jinými molekulami, jako jsou například check-point inhibitory nebo chemoterapie.

LITERATURA

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021;71(3):209-249. doi: 10.3322/caac.21660. Epub 2021 Feb 4. PMID: 33538338.
2. Venderbosch S, Nagtegaal ID, Maughan TS, et al. Mismatch repair status and BRAF mutation status in metastatic colorectal cancer patients: a pooled analysis of the CAIRO, CAIRO2, COIN, and FOCUS studies. Clin Cancer Res. 2014;20(20):5322-5330. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0332. Epub 2014 Aug 19. PMID: 25139339; PMCID: PMC4201568.
3. Seligmann JF, Fisher D, Smith CG, et al. Investigating the

- poor outcomes of BRAF-mutant advanced colorectal cancer: analysis from 2530 patients in randomised clinical trials. Ann Oncol. 2017;28(3):562-568. doi: 10.1093/annonc/mdw645. PMID: 27993800.
4. Clarke CN, Kopetz ES. BRAF mutant colorectal cancer as a distinct subset of colorectal cancer: clinical characteristics, clinical behavior, and response to targeted therapies. J Gastrointest Oncol. 2015;6(6):660-667. doi: 10.3978/j.issn.2078-6891.2015.077. PMID: 26697199; PMCID: PMC4671844.
5. Jones JC, Renfro LA, Al-Shamsi HO, et al. Non-V600 BRAF Mutations Define a Clinically Distinct Molecular Subtype of Me-

- tastatic Colorectal Cancer. J Clin Oncol. 2017;35(23):2624-2630. doi: 10.1200/JCO.2016.71.4394. Epub 2017 May 9. PMID: 28486044; PMCID: PMC5549454.
6. Weisenberger DJ, Siegmund KD, Campan M, et al. CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. Nat Genet. 2006;38(7):787-793. doi: 10.1038/ng1834. Epub 2006 Jun 25. PMID: 16804544.

**Další literatura u autora
a na www.onkologics.cz**