

## **Praktický návod pro testování a cílenou léčbu dospělých pacientů se solidními nádory s *NTRK* genovou fúzí v běžné klinické praxi**

Tomáš Büchler (1), Pavel Dundr (2), Jindřich Fínek (3), Igor Kiss (4), Radoslav Matěj (5,6), Bohuslav Melichar (7), Michal Michal (8,9), Luboš Petruželka (10)

1. Onkologická klinika 1. LF UK a Thomayerovy nemocnice, Praha
2. Ústav patologie 1. LF UK a Všeobecné fakultní nemocnice, Praha
3. Onkologická a radioterapeutická klinika Fakultní nemocnice Plzeň
4. Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno
5. Oddělení patologie a molekulární medicíny Thomayerovy nemocnice, Praha
6. Ústav patologie Fakultní nemocnice Královské Vinohrady
7. Onkologická klinika Fakultní nemocnice Olomouc
8. Šiklův ústav patologie, Fakultní nemocnice Plzeň
9. Biopstická laboratoř s.r.o, Plzeň
10. Onkologická klinika 1. LF UK a Všeobecné fakultní nemocnice, Praha

### **Klíčová slova:**

neurotrofní receptor s tyrosin kinázovou aktivitou, cílená léčba, entrectinib, larotrectinib, solidní nádory

### **Souhrn:**

Inhibitory kinázy tropomyosinového receptoru (TRK) nabízí možnost selektivního ovlivnění této signální dráhy s dramatickým a dlouhodobým účinkem na nádory, u nichž se nachází fúze genů pro neurotrofní receptory s tyrosin kinázovou aktivitou (*NTRK*). Vzhledem k nízké incidenci těchto aberací u běžných typů solidních nádorů dospělých je identifikace pacientů s touto aberací velkou výzvou pro klinickou praxi. Cílem tohoto sdělení je poskytnout stručný a přehledný návod k testování na přítomnost *NTRK* genových fúzí a indikaci léčby inhibitory TRK (TRKi) pro běžnou onkologickou klinickou praxi.

Prakticky využitelné metody testování *NTRK* genových fúzí jsou imunohistochemie (IHC), fluorescenční in situ hybridizace (FISH) a různé způsoby genetického testování nejčastěji metodou masivního paralelního sekvenování nové generace (next-generation sequencing, NGS). Po uvážení charakteristiky uvedených testů doporučujeme pro klinickou praxi u nádorů s nízkou incidencí *NTRK* genových fúzí dvoustupňové testování. V prvním kroku se otestuje čerstvý nebo archivní vzorek pomocí validované IHC metody. Při pozitivním výsledku

následuje ověření pomocí RNA NGS, preferenčně z čerstvého vzorku, při nemožnosti jeho získání (například neúměrné riziko pro pacienta) pak z archivního vzorku. Ideálním postupem, o jehož zavedení bychom měli usilovat, je genomické testování většiny nádorů a následující individualizovaná cílená léčba. U nádorů s vysokou incidencí NTRK genových fúzí doporučujeme jako první krok NGS sekvenování, preferenčně z čerstvého vzorku, při nemožnosti jeho získání (například pro neúměrné riziko nebo dyskomfort pro pacienta) pak z archivního vzorku. V současnosti je v Evropské unii registrován jako jediný TRKi larotrectinib. Další TRKi entrectinib sice zatím v EU registrován není, nicméně je nově v ČR dostupný v rámci Specifického léčebného programu.

## **A practical guide for testing and targeted treatment of adult patients with solid tumours harbouring *NTRK* gene fusion in routine clinical practice**

### **Keywords:**

neurotrophic receptor kinase, targeted molecular therapy, entrectinib, larotrectinib, neoplasms

### **Abstract**

Tropomyosin receptor kinase (TRK) inhibitors have been shown to produce a dramatic and long-lasting effect on tumours harbouring fusions of neurotrophic receptor tyrosine kinase (*NTRK*) genes. Due to the low incidence of these molecular aberrations in common types of solid adult tumours, the identification of patients eligible for treatment with TRK inhibitors in routine clinical practice is a major challenge. The aim of this paper is to provide concise and clear guidance on testing for the presence of *NTRK* gene fusions and indications for treatment with TRK inhibitors in the routine clinical oncology practice.

The current methods for *NTRK* gene fusion testing include immunohistochemistry (IHC), fluorescence in situ hybridization (FISH), and several genomic assays using next-generation sequencing (NGS). After considering the characteristics of these tests, we recommend two-step testing for clinical practice in tumours with a low incidence of *NTRK* gene fusions. In the first step, a fresh or archival formalin fixed paraffin embedded (FFPE) sample is tested using a validated IHC method. If the IHC result is positive, verification using RNA-based should follow, preferably using fresh tissue sample. If fresh tissue biopsy cannot be obtained, for example due to disproportionate risk or discomfort for the patient, an archival FFPE sample

may be used for testing. For tumours with a high incidence of NTRK gene fusions, we recommend upfront NGS sequencing. Larotrectinib is currently the only TRK inhibitor registered in the European Union (EU). Although entrectinib, another TRK inhibitor, is not yet registered in the EU, it is currently available in the Czech Republic within an Early Access Programme.

## Úvod

Geny pro neurotrofní receptory s tyrosin kinázovou aktivitou (*NTRK 1-3*) kódují receptory TRKA, TRKB a TRKC pro neurotrofin. Fúzní translokace *NTRK* genů se vzácně vyskytují u širokého spektra solidních a hematologických nádorů. Fúze genů *NTRK 1-3* jsou výsledkem intrachromozomální nebo interchromozomální přestavby v nádorové buňce, jejímž následkem je vznik fúzního transkriptu a konstitučně onkogenního aktivního proteinu. Inhibitory kinázy tropomyosinového receptoru (TRK) nabízí možnost selektivního ovlivnění této signální dráhy s dramatickým a dlouhodobým účinkem na nádory, u nichž se NTRK fúze vyskytují (1–4).

Existují raritní typy nádorů, u nichž se *NTRK* genové fúze nachází ve vysokém procentu případů (Tabulka 1) (1,5–8). Protože však výskyt *NTRK* genových fúzí není obvykle spojen s odlišnou histopatologickou nebo klinickou charakteristikou nádoru a vzhledem k jejich nízké incidenci u běžných typů solidních nádorů dospělých (zpravidla nepřevyšující 1%), je identifikace pacientů s touto aberací velkou výzvou pro klinickou praxi (Tabulka 1).

**Cílem tohoto sdělení je poskytnout stručný a přehledný návod k testování na přítomnost *NTRK* genových fúzí a indikaci léčby inhibitory TRK (TRKi) pro běžnou onkologickou klinickou praxi. Dalším cílem je poskytnout expertní stanovisko pro jednání o úhradě příslušných prediktivních testů s plátcí – tyto testy v současné době nejsou z prostředků veřejného zdravotního provedení hrazeny.**

**Tabulka 1. Podíl positivity na *NTRK* genovou fúzi u solidních nádorů dospělých a výsledky léčby TRKi larotrectinibem nebo entrectinibem (1,5–9) . U některých diagnóz je procento výskytu vypočteno na základě jednotlivých pozitivních případů v souboru, tudíž dochází k velkému rozptylu měření.**

Diagnóza	Podíl pozitivních nádorů (%)		ORR (%)	Trvání léčebné odpovědi ≥12 měsíců (%)
	Studie Solomon et al (vyšetřeno 33997 případů) (7)	Přehledové publikace Chen a Chi (8), Penault-Llorca (1), SPC Vitrakvi (5) a FDA Label Rozlytrek (9)		
Sekreční karcinom prsu	n.d.	96	75	n.d.
Sekreční karcinom mammárního typu (MASC)	n.d.	89,1	86	n.d.
Karcinom slinných žláz	5,08	n.d.	90	91
Karcinom štítné žlázy	2,28	1,2 Papilární 8,8 Poradiační papilární 14,5	20-79	86
Sarkomy	0,68	1,0 Uterinní sarkom 2,1	46-81 (měkké tkáně) 50 (kosti)	78 (měkké tkáně) 0 (kosti)
Karcinom plic	0,23	1,7	70-75	75
Kolorektální karcinom*	0,31	0,61	25-50	n.d.
Gliové a neuroepitelové nádory	0,55	Astrocytom 3,1 High-grade gliom 2,1 Glioblastom 1,2	11	n.d.
Karcinom prsu (nesekreční)	0,13	<0,1	83	n.d.
Adenokarcinom pankreatu	0,34	n.d.	50	0
Melanom	0,36	0,3	43	
Inflamatorní myofibroblastický nádor	17,7	n.d.	n.d.	n.d.
Cholangiokarcinom	0,25	3,6	50	0
Neuroendokrinní nádory	0,48	n.d.	n.d.	n.d.
Nádory hlavy a krku	0,2	0,24	n.d.	n.d.
Gastrointestinální stromální sarkom	n.d.	1,9	100%	67
Nádory neznámé primární lokalizace	n.d.	n.d.	100%	n.d.

ORR- procento nádorových odpovědí, n.d. – údaj není k dispozici

Zvláštní situace je u kolorektálních adenokarcinomů. U těchto nádorů je známo, že se fúze *NTRK* většinou nacházejí u mikrosatelitně instabilních nádorů (MSI-high) asociovaných s hypermetylací promotorů pro *MLH1* gen. Zatímco při nahodilé NGS sekvenaci kolorektálních adenokarcinomů je pravděpodobnost nálezu *NTRK* translokací velmi nízká - 12 ze 7500 nádorů v dosud největší studii (10). U skupiny MSI-high kolorektálních adenokarcinomů asociovaných s hypermetylací promotorů pro *MLH1* gen se *NTRK* fúzní geny našly v recentní studii u 4 z 23 pacientů (11).

## Proč testovat

**Při prokázání fúzní translokace některého *NTRK* genu je indikována terapie TRKi.**

V současnosti je v Evropské unii (EU) registrován jako jediný lék tohoto typu larotrectinib. Další TRKi entrectinib zatím v EU registrován není, ale nově je v ČR dostupný v rámci Specifického léčebného programu. Účinnost léků je pravděpodobně srovnatelná, přímé srovnání samozřejmě neexistuje.

**Larotrectinib** (Vitrakvi<sup>®</sup>, Bayer) je perorální lék dostupný ve formě tobolek 25 mg a 100mg. Dále je k dispozici roztok 20 mg/ml, potenciálně využitelný u nemocných s poruchou polykání. Doporučená dávka u dospělých je 100 mg larotrectinibu dvakrát denně až do progresu onemocnění nebo dokud se nedostaví nepřijatelná toxicita. Při poruše jater stupně Child-Pugh B nebo C se dávka snižuje na 50%. Úprava dávky při poruše funkcí ledvin není nutná. Larotrectinib je registrován na základě tří studií zařazujících pacienty s prokázanou *NTRK* genovou fúzí (12–14). Dále byla publikována sdružená analýza těchto tří studií s celkem 159 pacienty (6). Účinnost larotrectinibu prokázaná v těchto studiích uvádíme v Tabulce 1.

Nejčastějšími nežádoucími příhodami ve studiích s larotrectinibem všech stupňů závažnosti, bez ohledu na deklarovaný vztah k léku byly únava (32 %), zvýšená hladina ALT (29 %), kašel (28%), zácpa (28%), anémie (27%), zvýšená hladina AST (27%), závratě (26%), nauzea (25 %), zvracení (25%), a průjem 24%). Nejčastější nežádoucí příhody stupňů 3-4 byly anémie (10%), neutropenie (5%), lymfopenie (3%), elevace ALT (3%), hypokalémie (3%) a hypofosfatémie (3%) (6).

**Entrectinib** (Rozlytrek<sup>®</sup>, Roche) je perorální lék ve formě 100mg a 200mg tobolek. Podává se v dávce 600mg jednou denně do progresu onemocnění nebo dokud se nedostaví nepřijatelná toxicita (9).

Nejčastějšími nežádoucími účinky ( $\geq 20\%$ ) byly únava, zácpa, dysgeusie, edém, závratě, průjem, nauzea, dysestezie, dušnost, myalgie, kognitivní porucha, zvýšená hmotnost, kašel, zvracení, pyrexie, artralgie a poruchy vidění.

U 3,4% pacientů léčených entrectinibem v klinické studii došlo v rozvoji kardiálního selhání. Proto je doporučeno před nasazením léku a v průběhu léčby kontrolovat ejekční frakci a

symptomatologii, která by mohla svědčit pro kardiální insuficienci. U 27% pacientů se objevily kvalitativní poruchy vědomí (včetně kognitivní dysfunkce, zmatenosti, poruchy pozornosti amnézie, afázie a dalších). Dále u 10% došlo k poruchám nálady.

U mírné a středně závažné renální insuficience ani mírné jaterní insuficience není nutné měnit dávku. Neexistují data pro pacienty se středně těžkým a těžkým funkčním postižením jater (bilirubin >1,5x horní hranice normy) a u pacientů s těžkou renální insuficiencí (9,15).

### **Koho testovat**

Racionální indikace léčby TRKi samozřejmě vyžaduje komplexní posouzení stavu nemocného. Léčby TRKi je indikovaná jen pokud potenciální prospěch z léčby převyšuje její rizika. V době zahájení léčby by měl být výkonnostní stav pacienta v rozsahu 0-2 podle ECOG. V tabulce 2 uvádíme vybraná základní kritéria pro zařazení pacientů do studie NAVIGATE, dosud největší klinické studie s larotrectinibem (12). V klinické praxi je možné v odůvodnitelných případech dle zvážení ošetřujícího onkologa indikovat i pacienty nespĺňující některé z uvedených kritérií.

Během léčby mužů a žen s reprodukčním potenciálem je během terapie TRKi a minimálně 3 měsíce po jejím ukončení nutná účinná antikoncepce.

**Tabulka 2. Vybraná kritéria pro zařazení pacientů do studie NAVIGATE (12).**

- Výkonnostní stav Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 0-2
- Očekávané přežití minimálně 3 měsíce dle odhadu onkologa
- Přiměřené orgánové funkce
  - absolutní počet neutrofilních granulocytů  $\geq 1,5 \times 10^9/L$  nevyžadující podporu růstovým faktorem po dobu nejméně 7 dnů
  - počet krevních destiček  $\geq 100 \times 10^9/L$  nevyžadující transfuzní podporu po dobu nejméně 7 dnů
  - ALT nebo AST  $< 2,5 \times$  horní hranice normy (ULN) nebo AST a ALT  $< 5 \times$  ULN pokud jsou abnormality funkce jater způsobeny základní malignitou
  - Celkový bilirubin  $< 2,0$  ULN (s výjimkou pacientů se známou anamnézou Gilbertovy choroby a izolovaným zvýšením nepřímého bilirubinu)
  - Sérový kreatinin  $< 2,0 \times$  ULN nebo glomerulární filtrace  $\geq 30$  ml/min
- Absence velké operace do 4 týdnů před plánovaným zahájením léčby
- Pokud je přítomen nádor CNS nebo metastázy do CNS, musí být neurologicky stabilní po dobu 14 dnů bez potřeby zvýšení dávek steroidů minimálně 14 dní před testováním nebo zahájením léčby
- Absence klinicky významného aktivního kardiovaskulárního onemocnění nebo anamnéza infarktu myokardu do 6 měsíců
- Kardiomyopatie
- Malabsorpční syndrom nebo jiný stav ovlivňující perorální absorpci
- Prodloužený intervalu QTc  $> 480$ ms zachycen během posledních 6 měsíců
- Současná léčba silným inhibitorem nebo induktorem CYP3A4
- Aktivní nekontrolované systémové bakteriální, virové nebo plísňové infekce

## Jak testovat

Prakticky využitelné metody testování *NTRK* genových fúzí jsou **imunohistochemie, fluorescenční in situ hybridizace (FISH) a různé způsoby genetického testování nejčastěji metodou masivního paralelního sekvenování nové generace (next-generation sequencing, NGS).**

### 1. Imunohistochemické metody

Imunohistochemické metody mají limitace, protože komerčně dostupné protilátky vykazují různě vysokou míru nespecificity. Navíc při posuzování slabé imunohistochemické positivity je třeba si uvědomit, že mnohé tkáně vykazují fyziologickou přítomnost tyrozin kinázové positivity, která může u slabých specifických pozitivit v preparátech interferovat. Průkaz exprese tyrozin kinázových receptorů ve tkáních nádorů není diagnostické vyšetření pro přítomnost *NTRK1/2/3* fúzních genů. Imunohistochemická pozitivita pouze značí, že tyto fúzní geny mohou být přítomné, ale nemusí. **Vesměs však platí, že imunohistochemická negativita reakcí s těmito protilátkami svědčí pro to, že ve tkáni není přítomen žádný z *NTRK1/2/3* fúzních genů. Tohoto jevu se tedy dobře dá využít pro „skrínování“ přítomnosti *NTRK1/2/3* fúzních genů a imunohistochemickou pozitivitu je třeba následně genetickými metodami fúze potvrdit.**

### 2. Fluorescenční in situ hybridizace (FISH)

Pro detekci *NTRK1/2/3* fúzních genů je možné použít komerčně dostupných FISH metod, ale je to nepraktické, protože zlomy těchto fúzních genů jsou velmi rozmanité a komplexní a FISH metody nikdy nemohou detekovat všechny kombinace těchto zlomů. Tyto metody jsou tudíž zatíženy velikou falešnou negativitou.

### 3. Cílené NGS DNA a RNA sekvenování

Cílené NGS testy jsou nejvhodnějším nástrojem pro detekci přítomnosti *NTRK1/2/3* fúzních genů v nádorech. V současnosti se používá několik hlavních metod, např. MSK-IMPAKT, test FoundationOne CDx , ArcherDX AMP a technologie od firmy Illumina. První dvě metody nejsou komerčně dostupné. Limitace u ArcherDX AMP a technologie od firmy Illumina je, že z ekonomického hlediska je třeba u těchto NGS metod provádět NGS sekvenaci 30 nádorů (ArcherDX AMP) nebo 8 nádorů (Illumina)



najednou. Málokterá laboratoř je schopná provádět pravidelně několikrát týdně smysluplnou NGS sekvenaci takového počtu nádorů.

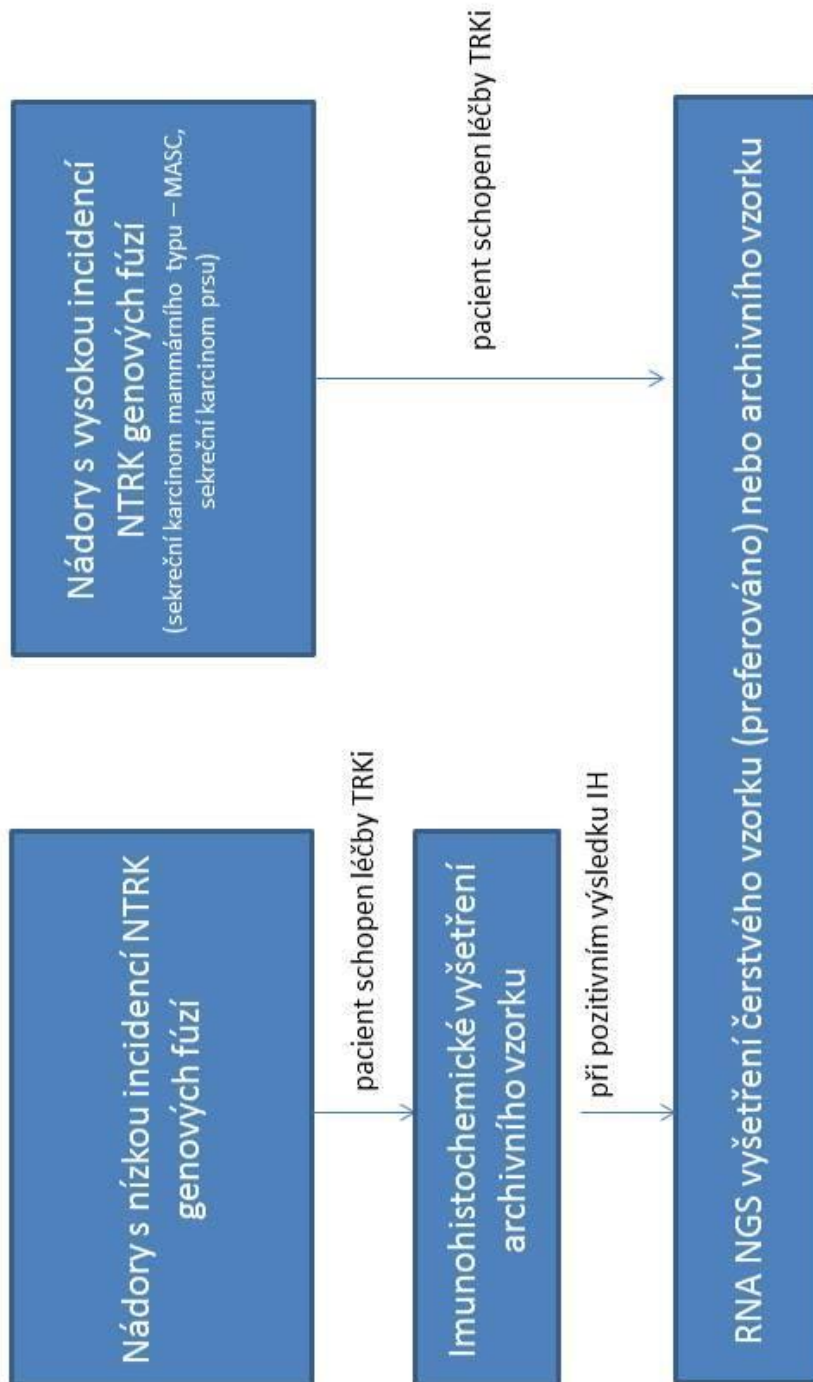
**Po uvážení uvedené charakteristiky testů doporučujeme pro klinickou praxi u nádorů s nízkou incidencí *NTRK* genových fúzí dvoustupňové testování.** V prvním kroku se otestuje čerstvý nebo archivní FFPE (formalin fixed paraffin embedded) vzorek pomocí validované IHC. Při pozitivním výsledku následuje ověření pomocí RNA NGS, preferenčně z čerstvého vzorku, při nemožnosti jeho získání (například neúměrné riziko pro pacienta) pak z FFPE vzorku (obrázek 1). Ideálním postupem je genomické testování většiny nádorů a následující individualizovaná cílené léčba.

**U nádorů s vysokou incidencí *NTRK* genových fúzí (tabulka 2) doporučujeme jako první krok NGS,** preferenčně z čerstvého vzorku, při nemožnosti jeho získání (například pro neúměrné riziko nebo dyskomfort pro pacienta) pak z FFPE vzorku (obrázek 1).

Obvyklá doba do vydání výsledku vyšetření je u IHC přibližně 3 dny, u NGS sekvenování pak přibližně 2-3 týdny od získání testovaného vzorku.

**Testování fúzí *NTRK* není klinickou studií a nevyžaduje podpis zvláštního informovaného souhlasu pacientem.**

Obrázek 1. Navržený postup testování na *NTRK* genové fúze v běžné klinické praxi. Testování by mělo být provedeno v době diagnózy metastatického onemocnění na žádost onkologa.



## **Kdy testovat**

**Testování *NTRK* genových fúzí se vždy provádí na žádost onkologa. Doporučujeme testování na přítomnost *NTRK* genových fúzí v době diagnózy metastatického nebo lokálně pokročilého neresekovatelného onemocnění u všech pacientů potenciálně indikovatelných k léčbě TRKi.**

Účelem testování je indikace léčby TRKi, ale žádný z těchto léků není zatím hrazený z veřejného zdravotního pojištění. Proto je v případě průkazu *NTRK* genové fúze možné zvážit zařazení pacienta do specifického léčebného programu s entrectinibem nebo nutné požádat o individuální úhradu podle § 16 Zákona o veřejném zdravotním pojištění č. 48/1997 Sb. Úspěch této žádosti je podmíněn absencí standardní, hrazené léčby pro daného pacienta. Tato podmínka obsahuje jednak situaci, kde došlo k progresi na dostupné hrazené léčbě, nebo kdy pacient tuto léčbu netoleruje.

Podání žádosti je přísně individuální záležitostí, která je zcela v kompetenci příslušného ošetřujícího onkologa. Pro běžnou klinickou praxi je užitečné definovat časové souvislosti podávání žádostí o úhradu léčby TRKi, aby se maximalizovala šance uznání mimořádné úhrady zdravotní pojišťovnou (tabulka 3).

**Tabulka 3. Doporučené načasování testování na *NTRK* genové fúze a podání žádosti o úhradu léčby zohledňující počet účinných a hrazených léčebných linií u dané diagnózy. Uvedené jsou jen nádory, u nichž byla *NTRK* genové fúze nalezena v dosud největší publikované studii Solomon et al (7). Výskyt těchto aberací u jiných typů nádoru však nelze vyloučit.**

<b>Diagnóza</b>	<b>Odeslání požadavku na úhradu TRKi v případě prokázání fúze</b>
Sekreční karcinom prsu	V době diagnózy metastatického onemocnění
Sekreční karcinom mammárního typu (MASC)	V době diagnózy metastatického onemocnění
Karcinom slinných žláz	Po selhání první linie systémové léčby
Karcinom štítné žlázy	Po selhání léčby radiojódem a jedním tyrozinkinázovým inhibítorem
Sarkomy	Po progresi na systémové léčbě zahrnující antracyklin, ifosfamid a pazopanib
Nemalobuněčný karcinom plic	Po progresi na dvou liniích systémové léčby
Kolorektální karcinom	Po progresi na třech liniích systémové léčby
Gliové nádory	Po progresi na první linii systémové léčby
Karcinom prsu (nesekreční)	Po progresi na dvou liniích chemoterapie
Adenokarcinom pankreatu	Po progresi na dvou liniích systémové léčby
Melanom	Po progresi na imunoterapii ± anti-BRAF léčbě
Inflamatorní myofibroblastický nádor	V době diagnózy metastatického onemocnění
Cholangiokarcinom	Po progresi na první linii systémové léčby
Neuroendokrinní nádory	Po progresi na první nebo druhé linii systémové léčby podle typu nádoru a léčebných možností

### **Kde testovat**

Imunohistochemické vyšetření se bude provádět na pracoviště patologie, které má metodu IHC validovanou. Vyšetření metodou NGS bude možné provádět na kterémkoli z diagnostických pracovišť patologie sítě tzv. referenčních laboratoří pro prediktivní

onkologii, které budou zahrnuty mezi poskytovatele příslušného výkonu podle dohody mezi plátcí zdravotní péče a odbornými společnostmi (1).

**Výše uvedené podmínky musí být v současnosti splněny pro využití výsledku vyšetření pro indikaci léčby hrazené individuální úhradou podle § 16 zákona č. 48/1997.**

## Literatura

1. Penault-Llorca F, Rudzinski ER, Sepulveda AR. Testing algorithm for identification of patients with TRK fusion cancer. *J Clin Pathol*. 2019 Jul;72(7):460–7.
2. Hsiao SJ, Zehir A, Sireci AN, Aisner DL. Detection of Tumor NTRK Gene Fusions to Identify Patients Who May Benefit from Tyrosine Kinase (TRK) Inhibitor Therapy. *J Mol Diagn*. 2019 Jul;21(4):553–71.
3. Skálová A. Jak testovat fúze NTRK v éře pan-TRK inhibitoru: incidence, indikace a technologie [Internet]. *ProLékaře.cz*. 2019. Available from: <https://www.prolekare.cz/tema/precizni-medicina/detail/jak-testovat-fuze-ntrk-v-ere-pan-trk-inhibitoru-incidence-indikace-a-technologie-112656>
4. Yoshino T, Pentheroudakis G, Mishima S, Overman MJ, Yeh K-H, Baba E, et al. JSCO-ESMO-ASCO-JSMO-TOS: international expert consensus recommendations for tumour-agnostic treatments in patients with solid tumours with microsatellite instability or NTRK fusions. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2020 Apr;
5. SPC Vitrakvi [Internet]. European Medicines Agency (EMA). 2019. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/vitrakvi-epar-product-information\\_cs.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/vitrakvi-epar-product-information_cs.pdf)
6. Hong DS, DuBois SG, Kummar S, Farago AF, Albert CM, Rohrberg KS, et al. Larotrectinib in patients with TRK fusion-positive solid tumours: a pooled analysis of three phase 1/2 clinical trials. *Lancet Oncol*. 2020 Apr;21(4):531–40.
7. Solomon JP, Linkov I, Rosado A, Mullaney K, Rosen EY, Frosina D, et al. NTRK fusion detection across multiple assays and 33,997 cases: diagnostic implications and pitfalls. *Mod Pathol an Off J United States Can Acad Pathol Inc*. 2020 Jan;33(1):38–46.
8. Chen Y, Chi P. Basket trial of TRK inhibitors demonstrates efficacy in TRK fusion-positive cancers. *J Hematol Oncol*. 2018 Jun;11(1):78.
9. Rozlytrek Prescribing Information [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. 2019. Available from: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2019/212725s000lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/212725s000lbl.pdf)
10. Lasota J, Chlopek M, Lamoureux J, Christiansen J, Kowalik A, Wasag B, et al. Colonic Adenocarcinomas Harboring NTRK Fusion Genes: A Clinicopathologic and Molecular Genetic Study of 16 Cases and Review of the Literature. *Am J Surg Pathol*. 2020

Feb;44(2):162–73.

11. Vaňková B, Vanecek T, Ptakova N, Hajkova V, Dusek M, Michal M, et al. Targeted next generation sequencing of MLH1-deficient, MLH1 promoter hypermethylated and BRAF/RAS-wild-type colorectal adenocarcinomas is effective in detecting tumors with actionable oncogenic gene fusions. *Genes Chromosom Cancer*. :in press.
12. Drilon A, Laetsch TW, Kummar S, DuBois SG, Lassen UN, Demetri GD, et al. Efficacy of Larotrectinib in TRK Fusion-Positive Cancers in Adults and Children. *N Engl J Med*. 2018 Feb;378(8):731–9.
13. Laetsch TW, DuBois SG, Mascarenhas L, Turpin B, Federman N, Albert CM, et al. Larotrectinib for paediatric solid tumours harbouring NTRK gene fusions: phase 1 results from a multicentre, open-label, phase 1/2 study. *Lancet Oncol*. 2018 May;19(5):705–14.
14. Hong DS, Bauer TM, Lee JJ, Dowlati A, Brose MS, Farago AF, et al. Larotrectinib in adult patients with solid tumours: a multi-centre, open-label, phase I dose-escalation study. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2019 Feb;30(2):325–31.
15. Doebele RC, Drilon A, Paz-Ares L, Siena S, Shaw AT, Farago AF, et al. Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1-2 trials. *Lancet Oncol*. 2020 Feb;21(2):271–82.
16. Společné stanovisko VZP ČR, SZP ČR, ČHS ČLS JEP a SČP ČLS JEP: Doporučené podmínky pro nasmlouvání a provádění výkonu 94365 - analýza sekvenace lidského somatického genomu technologií sekvenace nové generace (NGS) [Internet]. 2019. Available from: <https://media.vzpstatic.cz/media/Default/dokumenty/spolecne-stanovisko-vzp-cr-szp-cr-chs-cls-jep-a-scp-cls-jep-k-vykonu-94365.pdf>