

Piotr Tokajuk<sup>1</sup>, Ewa Sierko<sup>1, 2</sup>, Marek Z. Wojtukiewicz<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Oddział Onkologii Klinicznej im. dr Ewy Pileckiej, Białostockie Centrum Onkologii

<sup>2</sup>Klinika Onkologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

# Leczenie interferujące z funkcją EGFR u chorych na nowotwory złośliwe przełyku, żołądka, trzustki, wątroby i dróg żółciowych

Therapy interfering with EGFR activation in patients with cancers of oesophagus, stomach, pancreas, liver and bile ducts

## Adres do korespondencji:

Prof. dr hab. med. Marek Z. Wojtukiewicz  
Klinika Onkologii,  
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
Białostockie Centrum Onkologii  
ul. Ogrodowa 12, 15-027 Białystok  
Tel.: +48 (85) 664 67 34  
Faks: +48 (85) 664 67 83  
e-mail: onkologia@umwb.edu.pl  
mzwojtukiewicz@gmail.com

## STRESZCZENIE

Rokowanie u chorych na uogólnione nowotwory złośliwe górnego odcinka przewodu pokarmowego pozostaje poważne, mimo istotnego postępu, jaki osiągnięto w ostatnich latach w zakresie diagnostyki i leczenia chirurgicznego. Wynika to między innymi z faktu rozpoznawania choroby w zaawansowanych stadiach klinicznych, dodatkowo zaś z jej małej wrażliwości lub niewrażliwości na klasyczne leczenie cytotoksyczne. Z tego powodu trwają poszukiwania terapii celowanych ukierunkowanych na cele molekularne w komórce nowotworowej. Celami takiej terapii mogą być szlaki przekazywania sygnałów wewnątrzkomórkowych generowanych przez rodzinę receptorów czynnika wzrostu naskórka (EGFR). Zaburzenia molekularne związane z tymi szlakami przekazywania sygnałów wewnątrzkomórkowych występują dość często u chorych na nowotwory złośliwe przewodu pokarmowego. Dotychczas, na podstawie pozytywnych wyników badań klinicznych III fazy, do codziennej praktyki klinicznej wprowadzono dwa preparaty: trastuzumab (leczenie chorych na HER2-dodatniego uogólnionego raka żołądka) oraz erlotynib (leczenie chorych na raka trzustki w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby). Różnice w biologii i patogenezie nowotworów złośliwych przewodu pokarmowego uniemożliwiają sformułowanie ogólnych zaleceń terapeutycznych dotyczących leczenia interferującego z EGFR w tej populacji pacjentów. Wydaje się, iż kwalifikacja chorych na nowotwory złośliwe przewodu pokarmowego do leczenia celowanego będzie w przyszłości zależna od wyniku oceny indywidualnego profilu zaburzeń molekularnych u danego chorego. Będzie to wymagało identyfikacji czynników predykcyjnych i prognostycznych, co z kolei mogłoby umożliwić wyodrębnienie grupy chorych, którzy mogliby odnieść największe korzyści z określonej terapii. Należy podkreślić, iż prospektywna ocena wartości predykcyjnej i prognostycznej różnych czynników była niezwykle istotnym elementem zakończonych w ostatnich latach badań klinicznych III fazy oceniających stosowanie leków z kategorii terapii celowanych u chorych na nowotwory złośliwe przewodu pokarmowego. Ostateczne wyniki wielu z tych analiz dotychczas nie zostały przedstawione.

Obecność zaburzeń w szlakach przekazywania sygnałów wewnątrzkomórkowych związanych z EGFR można wykorzystać w celach terapeutycznych. Receptor EGFR może być celem terapii wykorzystujących drobnocząsteczkowe inhibitory kinaz tyrozynowych EGFR lub przeciwciała monoklonalne przeciwko tym receptorom. W niniejszej pracy dokonano przeglądu piśmiennictwa dotyczącego terapii ukierunkowanej na rodzinę receptorów EGFR u chorych na nowotwory złośliwe górnego odcinka przewodu pokarmowego. **Słowa kluczowe:** EGFR, terapia celowana, inhibitory kinazy tyrozynowej, przeciwciała monoklonalne, nowotwory górnego odcinka przewodu pokarmowego

**ABSTRACT**

Prognosis of patients with advanced cancers of the upper digestive tract remains dismal, despite significant improvements in diagnostic and surgical techniques in recent years. In part, it may be attributed to the considerable resistance to the standard cytotoxic treatment. Thus, there is ongoing extensive search for so called "targeted therapies" that are aimed at specific molecular abnormalities in cancer cells. Epidermal growth factor receptor (EGFR) intracellular signaling transduction pathways may constitute such targets. Importantly, molecular abnormalities related to above mentioned signaling pathways are frequently encountered in upper digestive tract neoplasms. To date, based on positive phase III clinical trials results, two novel drugs were introduced to clinical practice, e.g. trastuzumab (first line treatment of advanced gastric cancer) and erlotinib (first line treatment of advanced pancreatic cancer). However, there are significant differences in biology and pathogenesis of upper digestive tract cancers that make formulation of general treatment recommendations in this patient population impossible. It seems that in the future the indications for specific targeted therapy will be based on individual patients' profile of molecular abnormalities in cancer cells. Moreover, it will require identification of predictive and prognostic factors enabling clinicians to select a group of patients who will derive most significant benefits from specific therapies. It should be noticed that prospective assessment of various predictive and prognostic factors was incorporated in protocols of many phase III clinical trials that were completed in recent years. However, final results of majority of these analyses are not available yet. EGFR may be the target for small molecule tyrosine kinase inhibitors or monoclonal antibodies. In this paper we present a review of the results of clinical trials assessing targeted therapy interfering with EGFR in patients with upper digestive tract cancers that were reported in recent years.

**Key words:** EGFR, targeted therapy, tyrosine kinase inhibitors, monoclonal antibodies, upper digestive tract cancers

Onkol. Prak. Klin. 2011; 7, 4: 183–196

**Wstęp**

Rokowanie u chorych na uogólnione nowotwory złośliwe górnego odcinka przewodu pokarmowego pozostaje poważne, pomimo istotnego postępu w ostatnich latach w diagnostyce oraz metodach leczenia chirurgicznego i systemowego. Częściowo jest to pochodną rozpoznawania tych nowotworów w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby, po części zaś wynika z ich małej wrażliwości lub niewrażliwości na klasyczne leczenie cytotoksyczne. Z tego powodu poszukuje się terapii celowanych ukierunkowanych na cele molekularne w komórce nowotworowej. Wśród celów takiego leczenia można uwzględnić szlaki przekazywania sygnałów wewnątrzkomórkowych związanych z funkcjami rodziny receptorów dla czynnika wzrostu naskórka (EGFR, *epidermal growth factor receptor*). Zaburzenia molekularne związane z tymi szlakami przekazywania wewnątrzkomórkowego obserwuje się dość często u chorych na nowotwory złośliwe przewodu pokarmowego. Ekspresję EGFR obserwowano w znacznej części komórek nowotworowych raków przewodu pokarmowego. Do nadmiernej ekspresji EGFR może dochodzić między innymi w wyniku amplifikacji genu *EGFR*. Zarówno ekspresja EGFR, jak i amplifikacja genu *EGFR* mogą mieć u tych chorych istotne znaczenie prognostyczne. Należy podkreślić, że nowotwory złośliwe przewodu pokarmowego są heterogenną grupą chorób, o odmiennej biologii i odmiennym profilu zaburzeń

molekularnych. Obecność aktywujących mutacji w genie *EGFR*, stwierdzanych u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca, które mogą wiązać się ze zwiększoną wrażliwością na leczenie drobnocząsteczkowymi inhibitorami kinazy tyrozynowej *EGFR*, u chorych na nowotwory górnego odcinka przewodu pokarmowego obserwuje się prawdopodobnie dość rzadko. Z kolei występowanie aktywujących mutacji w genach *KRAS* i *BRAF*, stwierdzanych u chorych na raka jelita grubego, które mogą wiązać się z opornością na leczenie przeciwciałami monoklonalnymi przeciwko EGFR, w grupie chorych na nowotwory górnego odcinka przewodu pokarmowego prawdopodobnie może być dość częste. Ponadto, u części z tych chorych może dochodzić do amplifikacji genu *HER2* i związanej z tym nadmiernej ekspresji tego receptora.

Obecność zaburzeń w szlakach przekazywania sygnałów wewnątrzkomórkowych związanych z EGFR można wykorzystać w celach terapeutycznych. Receptor EGFR może być celem terapii wykorzystujących drobnocząsteczkowe inhibitory kinaz tyrozynowych EGFR lub przeciwciała monoklonalne przeciwko temu receptorowi.

**Leczenie interferujące z funkcją EGFR u chorych na raka przełyku**

Ekspresję EGFR w badaniu immunohistochemicznym (IHC, *immunohistochemistry*) w komórkach

nowotworowych obserwowano w 45–72% przypadków płaskonabłonkowego raka przełyku [1–6]. Wykazano przy tym istotną korelację ekspresji EGFR z występowaniem przerzutów odległych [5], zajęciem węzłów chłonnych i czasem przeżycia chorych [6]. Co więcej, w niektórych badaniach potwierdzono istotną wartość prognostyczną nasilenia ekspresji EGFR [1, 3, 7] lub amplifikacji genu *EGFR* w komórkach nowotworowych raka przełyku [8]. Amplifikację genu *EGFR* w badaniu fluoroscencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH, *fluorescent in situ hybridization*) stwierdzono w 15 z 53 poddanych badaniu guzów, przy czym wykazywała ona korelację z nasileniem ekspresji EGFR w komórkach nowotworowych [2]. W badaniu Kitagawy i wsp. [8] obecność amplifikacji genu *EGFR* wiązała się z zajęciem węzłów chłonnych ( $p < 0,05$ ) i czasem całkowitego przeżycia chorych ( $p < 0,001$ ). Aktywujące mutacje w genie *EGFR*, związane ze zwiększoną wrażliwością na leczenie drobnocząsteczkowymi inhibitorami kinazy tyrozynowej EGFR, w komórkach nowotworowych raka przełyku są obserwowane dość rzadko. W niektórych badaniach nie wykazano obecności aktywujących mutacji w egzonie 19. i 21. genu *EGFR* [2, 9], podczas gdy w innych badaniach potwierdzono obecność mutacji EGFR w jednej z badanych hodowli komórkowych raka przełyku i u około 1–2% chorych na płaskonabłonkowego lub gruczołowego raka przełyku [10, 11]. Z kolei w badaniu Kwaka i wsp. [12] wykazano obecność zarówno aktywujących mutacji, jak i mutacji T790M w genie *EGFR*, związanej z opornością na drobnocząsteczkowe inhibitory kinazy tyrozynowej EGFR, odpowiednio u 2 spośród 17 chorych (11,7%) na płaskonabłonkowego i u 1 chorego na gruczołowego raka przełyku.

Aktualnie dostępne są opublikowane w formie pełnej wyniki badań klinicznych II fazy, oceniających aktywność terapii interferującej z funkcją EGFR u chorych na raka przełyku w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby. W dwóch badaniach klinicznych II fazy poddano ocenie stosowanie gefitynibu w dawce 500 mg/dobę w monoterapii w grupie 27 i 36 chorych na raka gruczołowego i/lub raka płaskonabłonkowego przełyku, poddawanych uprzednio chemioterapii paliatywnej [13, 14]. Częściową regresję (PR, *partial regression*) choroby obserwowano odpowiednio u około 11% i 3% chorych, zaś stabilizację choroby (SD, *stable disease*) u około 27% chorych [13, 14]. Uzyskanie odpowiedzi na leczenie gefitynibem wiązało się z nasiloną ekspresją EGFR w komórkach nowotworowych [13]. Należy zauważyć, iż w grupie 26 chorych w uogólnionym stadium klinicznym raka przełyku nie wykazano obecności mutacji aktywujących w egzonach 18.–21. genu *EGFR*, natomiast u 2 spośród 23 chorych (8,7%) stwierdzono obecność mutacji aktywujących w kodonie 12. i 13. genu *KRAS*, przy czym u obu tych

chorych obserwowano wystąpienie wczesnej progresji choroby w trakcie terapii gefitynibem [13]. Skuteczność erlotynibu w dawce 150 mg/dz. w II rzucie leczenia chorych na uogólnionego raka przełyku oceniano w grupie 24 pacjentów [15]. Częściową regresję choroby uzyskano u około 8% chorych z ekspresją EGFR wykazaną w ocenie IHC w komórkach nowotworowych, natomiast nie obserwowano odpowiedzi na powyższe leczenie u chorych, u których nie wykazano ekspresji EGFR w komórkach raka przełyku [15]. Odpowiedzi na leczenie obserwowano wyłącznie u chorych na płaskonabłonkowego raka przełyku [15].

Aktywność cetuksymabu w skojarzeniu z cisplatyną i fluorouracylem (standardowy schemat CF) w porównaniu ze stosowaniem wyłącznie CF oceniono w grupie 63 chorych na płaskonabłonkowego raka przełyku w zaawansowanym stadium klinicznym choroby, nie poddawanych uprzednio chemioterapii paliatywnej [16]. Do badania tego mogli zostać włączeni jedynie ci chorzy, u których wykazano ekspresję EGFR metodą IHC w komórkach raka przełyku. W badaniu tym dokonano także oceny obecności mutacji aktywujących w kodonie 12. i 13. genu *KRAS* w grupie 37 chorych, jednak u żadnego z nich nie wykazano jej obecności [16]. Stosowanie cetuksymabu w skojarzeniu z chemioterapią CF wiązało się z istotną poprawą odsetka odpowiedzi na leczenie (RR, *response rate*): wyniósł on odpowiednio 19% vs. 13%,  $p = 0,18$ ; oraz z wydłużeniem mediany czasu przeżycia wolnego od progresji choroby (PFS, *progression-free survival*): wyniósł on odpowiednio 5,9 vs. 3,6 miesiąca; i mediany czasu całkowitego przeżycia chorych (OS, *overall survival*): odpowiednio 9,5 vs. 5,5 miesiąca, jednak poprawa tych parametrów nie była znamienna statystycznie [16]. Odsetek 2-letnich przeżyć wyniósł odpowiednio 28% vs. 18% [16]. W grupie chorych leczonych cetuksymabem istotnie częściej obserwowano działania niepożądane w stopniu 3. i 4. niż u chorych niestosujących cetuksymabu. Przyjmowanie tego przeciwciała wiązało się z istotnie częstszym występowaniem biegunki w stopniu 3. lub 4. (odpowiednio 16% vs. 0%) oraz wysypki skórnej (6% vs. 0%) [16]. Skuteczność cetuksymabu w monoterapii w II linii leczenia poddano ocenie w grupie 55 chorych na raka przełyku w stadium uogólnienia choroby [17]. Regresję częściową obserwowano u 3 chorych, mediana OS wyniosła 4 miesiące, zaś odsetek 6-miesięcznych przeżyć — 36% [17].

Obecnie trwają liczne badania II i III fazy oceniające aktywność i bezpieczeństwo stosowania erlotynibu, gefitynibu, cetuksymabu i panitumumabu w skojarzeniu z radioterapią lub chemioradioterapią w leczeniu chorych na raka przełyku w miejscowo zaawansowanych stadiach choroby, a także w skojarzeniu z chemioterapią w leczeniu chorych na raka przełyku w zaawansowanym stadium klinicznym choroby.

## Leczenie interferujące z EGFR1 u chorych na raka żołądka i połączenia przełykowo-żołądkowego

U 18–91% chorych na raka żołądka obserwowano ekspresję EGFR w komórkach nowotworowych (IHC) pochodzących z fragmentów guza pierwotnego, uzyskanych podczas leczenia operacyjnego lub biopsji przerzutów odległych [18–24]. W niektórych badaniach wykazano wartość prognostyczną ekspresji EGFR w komórkach raka żołądka. Udokumentowano korelację ekspresji EGFR z długością przeżycia chorych od pierwotnego leczenia chirurgicznego do momentu wystąpienia nawrotu choroby, częstością występowania przerzutów do węzłów chłonnych i przerzutów odległych, stopniem klinicznego zaawansowania choroby oraz czasem przeżycia całkowitego tych chorych [20–22, 24]. W badaniu Gamboa-Domingueza i wsp. [22] ekspresja EGFR była niezależnym czynnikiem prognostycznym w analizie wieloczynnikowej. Ekspresja EGFR w komórkach nowotworowych w błonie mięśniowej lub podśluzowej, przerzutach odległych i chorobie resztkowej wykazywała w analizie wieloczynnikowej istotną korelację z czasem przeżycia chorych ( $p < 0,05$ ) [22]. Co ciekawe, amplifikację genu *EGFR* w komórkach nowotworowych raka żołądka obserwowano jedynie w około 3–9% przypadków [25–28], tym niemniej jej obecność wykazywała istotną korelację z klinicznym zaawansowaniem choroby i czasem całkowitego przeżycia chorych ( $p < 0,05$ ) [27, 28]. Obecność mutacji w genie *KRAS* w raku żołądka udokumentowano u 0–20% chorych [29–34]. W badaniu Lee i wsp. [35] wykazano obecność mutacji w genie *KRAS* u około 3% chorych, zaś mutacji w genie *BRAF* u około 2% chorych, przy czym wszystkie mutacje w genie *BRAF* i niemal wszystkie w genie *KRAS* stwierdzono u chorych na raka żołądka w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby. Co ciekawe, u jednego chorego stwierdzono współwystępowanie mutacji w genach *KRAS* i *BRAF* [35].

Aktywność terapii interferującej z EGFR u chorych na uogólnionego raka żołądka w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby oceniono dotychczas w badaniach klinicznych II fazy. W badaniu Dragovicha i wsp. [23] 68 chorych na gruczolakoraka połączenia żołądkowo-przełykowego (GEJ, *gastro-esophageal junction*) oraz trzonu i dystalnej części żołądka poddano terapii erlotynibem w ramach I linii chemioterapii paliatywnej. Odpowiedź na leczenie obserwowano u 9% chorych na gruczolakoraka okolicy wpustu, natomiast nie obserwowano odpowiedzi na leczenie erlotynibem u chorych na gruczolakoraka trzonu i dystalnej części żołądka. Mediana OS u chorych na raka gruczolowego GEJ wyniosła 6,7 miesiąca, podczas gdy u chorych na gruczolakoraka trzonu i dystalnej części żołądka 3,5 miesiąca [23]. Ponadto nie obserwowano korelacji ekspresji EGFR w komórkach nowotworowych z wy-

kami leczenia erlotynibem. Dodatkowo w badaniu FISH nie wykazano obecności zarówno mutacji somatycznych w egzonach 18., 19. i 21. genu *EGFR*, jak też amplifikacji genu *EGFR* [23].

W innych badaniach klinicznych II fazy poddano ocenie aktywność cetuksymabu w skojarzeniu z różnymi schematami chemioterapii paliatywnej w leczeniu chorych na gruczolakoraka GEJ i żołądka w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby. Cetuksymab w skojarzeniu z docetakselem ( $n = 72$ ), programem XELOX ( $n = 44$ ), FUFOX ( $n = 52$ ), FOLFOX6 ( $n = 38$ ) i FOLFIRI ( $n = 38$ ) stosowano w ramach I linii chemioterapii paliatywnej [24, 36–39]. Odsetek odpowiedzi na leczenie wyniósł od około 41% do 65%. Mediana czasu do progresji choroby (TTP, *time to tumor progression*) wyniosła 5–8 miesięcy, zaś mediana OS 9–11,8 miesiąca [24, 36–39]. W badaniu Lordicka i wsp. [39] ekspresję EGFR stwierdzono u 60% chorych, lecz nie wykazano istotnej korelacji ekspresji EGFR z wynikami leczenia. Obecność mutacji w genie *KRAS* wykazano u 3% badanych chorych [39]. Z kolei w innym badaniu nie wykazano amplifikacji genu *EGFR* i obecności mutacji w genie *KRAS* u żadnego chorego [38]. Odsetek odpowiedzi na leczenie wyniósł 100% u 11 chorych z wykazaną ekspresją EGFR w komórkach nowotworowych i niskim stężeniem EGF i transformującego czynnika wzrostu guza alfa (TGF $\alpha$ , *transforming growth factor alpha*) w surowicy krwi, podczas gdy u 27 pozostałych chorych — 37% ( $p < 0,001$ ) [38]. Po skorygowaniu wyników analizy, uwzględniając wpływ wieku, płci, stanu ogólnego, klasyfikacji według Laurena, lokalizacji i liczby okolic zajętych przerzutami odległymi, w tej wyselekcjonowanej grupie chorych wykazano także istotne wydłużenie TTP i OS [38]. Ponadto, stwierdzono wzrost stężenia ligandów EGFR w momencie wystąpienia progresji choroby u 7 spośród 8 chorych z wykazaną ekspresją EGFR w komórkach nowotworowych i wyjściowo niskim stężeniem EGF i TGF $\alpha$  w surowicy krwi [38].

W innym randomizowanym badaniu klinicznym II fazy poddano ocenie skuteczność stosowania cetuksymabu w skojarzeniu z irynotekaniem, fluorouracylem i leukoworyną (program ILF) w I linii leczenia 48 chorych w zaawansowanych stadiach klinicznych gruczolakoraka okolicy połączenia żołądkowo-jelitowego i żołądka [40]. W skład programu ILF wchodził irynotekan w dawce 80 mg/m<sup>2</sup>, leukoworyna w dawce 200 mg/m<sup>2</sup> oraz 5-fluorouracyl w dawce 1500 mg/m<sup>2</sup> w 24-godzinnej infuzji w dniach 1., 8., 15., 22., 29. i 36. co 50 dni. Odsetek odpowiedzi na leczenie wyniósł 46%, mediana PFS wyniosła 9 miesięcy, zaś mediana OS — 16,5 miesiąca [40]. W badaniu tym ekspresję EGFR wykazano u 67% chorych. Odpowiedzi na leczenie obserwowano istotnie częściej w grupie chorych z ekspresją EGFR niż u chorych bez ekspresji EGFR w komórkach nowotworowych ( $p = 0,041$ ). Silna ekspresja EGFR w komórkach no-

wotworowych korelowała z uzyskaniem odpowiedzi na leczenie ( $p = 0,006$ ), podczas gdy w grupie chorych bez ekspresji EGFR odpowiedź na leczenie obserwowano jedynie u 13% chorych. Jednak ekspresja EGFR nie korelowała z PFS i OS [40]. Obecność mutacji w genie *KRAS* wykazano u 9% badanych. Ekspresja białka supresorowego PTEN (*phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten*) wiązała się z dłuższym PFS ( $p = 0,035$ ) i OS ( $p = 0,0127$ ) w porównaniu z jej brakiem. Wystąpienie wysypki skórnej w stopniu 1.–4. obserwowano u 58% chorych, jednak nie wykazano korelacji pomiędzy wystąpieniem wysypki skórnej a uzyskaniem odpowiedzi na leczenie i OS ( $p = 0,625$ ) [40]. Aktywność i bezpieczeństwo stosowania cetuksymabu w skojarzeniu z irynotekaniem, fluorouracyłem i leukoworyną są obecnie poddawane analizie w ramach badania klinicznego III fazy EXPAND. W toku są także badania II i III fazy oceniające skuteczność stosowania drobnocząsteczkowych inhibitorów kinazy tyrozynowej EGFR i przeciwciał monoklonalnych przeciwko EGFR w skojarzeniu z radioterapią lub chemioradioterapią u chorych na raka GEJ i żołądka w miejscowym stadium zaawansowania klinicznego, jak i z chemioterapią u chorych na raka żołądka w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby.

### Leczenie interferujące z funkcją EGFR2 (HER2) u chorych na raka żołądka i połączenia przełykowo-żołądkowego

Nadmierną ekspresję receptora HER2 w IHC w komórkach raka żołądka opisano po raz pierwszy w 1986 r. [41]. W serii badań IHC z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych przeciwko różnym domenom tego receptora przeprowadzonych w latach 90. nadmierną ekspresję receptora HER2 stwierdzano w 9–38% komórek raka żołądka [20, 42, 43]. Nadmierną ekspresję receptora HER2 w IHC w komórkach raka żołądka obserwowano w 13–23% przypadków, zaś amplifikację genu *HER2* ocenianą techniką FISH — w 27% przypadków [44–47]. Wyniki badań oceniających prognostyczną wartość ekspresji receptora HER2 w raku żołądka są kontrowersyjne. W niektórych z nich nie wykazano związku pomiędzy ekspresją HER2 i rokowaniem chorych [48, 49]. Z kolei w innych stwierdzano bezpośrednią korelację pomiędzy ekspresją receptora HER2 i skróceniem czasu przeżycia pacjentów. Nadmierna ekspresja receptora HER2 była niezależnym czynnikiem rokowniczym w grupie 260 chorych na raka żołądka, przy czym nasilenie ekspresji HER2 korelowało z wielkością guza, naciekiem surowicówki i przerzutami do węzłów chłonnych [42]. Ponadto, wiązała się ona ze zmniejszeniem odsetka 10-letnich przeżyć w badaniu

retrospektywnym ( $n = 108$ ) [50]. W jeszcze innych badaniach uznano ją za istotny czynnik prognostyczny we wczesnym raku żołądka ( $n = 226$ ) [51]. Ponadto, wykazano istotny związek pomiędzy nasileniem ekspresji receptora HER2 w IHC ze skróceniem czasu przeżycia wolnego od nawrotu choroby (DFS, *disease-free survival*) i OS. Nadmierna ekspresja receptora HER2 była niezależnym czynnikiem prognostycznym w odniesieniu do przeżycia całkowitego u chorych poddanych radykalnej resekcji chirurgicznej ( $p = 0,049$ ) [52, 53]. Obecność amplifikacji genu *HER2* wiązała się ze skróceniem czasu przeżycia chorych ( $p = 0,0089$ ). Mediana OS chorych bez amplifikacji genu *HER2* wynosiła 12,7 miesiąca, podczas gdy u chorych z amplifikacją genu *HER2* było to 6,6 miesiąca ( $p = 0,37$ ) [54]. Amplifikacja genu *HER2* wiązała się z krótszym czasem przeżycia chorych w porównaniu z czasem odnotowanym u chorych bez amplifikacji tego genu (mediana OS: 922 vs. 3243 dni, odsetek 5-letnich przeżyć: 21% vs. 63%;  $p < 0,05$ ). W analizie wieloczynnikowej wiek, TNM i amplifikacja genu *HER2* były niezależnymi czynnikami rokowniczymi w odniesieniu do całkowitego przeżycia chorych [47].

Wydaje się, iż jednym ze źródeł kontrowersji w wynikach wspomnianych badań jest specyfika ekspresji receptora HER2 w raku żołądka, która *notabene* wykazuje istotne różnice w porównaniu z rakiem piersi. W raku żołądka ekspresję receptora HER2 obserwuje się głównie w podstawno-bocznych częściach błony komórkowej komórek gruczołowych. W efekcie odczyn barwny w błonie komórkowej jest niekompletny, dodatkowo obserwuje się dość znaczną heterogenność odczynu barwnego [55]. Na podstawie oceny 178 przypadków raka żołądka zaproponowano więc specyficzny dla tego nowotworu system oceny ekspresji receptora HER2 przy zastosowaniu metody IHC (HercepTest™) i FISH [test pharmDX (Dako)] oraz modyfikację systemu oceny ekspresji receptora HER-2 w raku żołądka w IHC przy zastosowaniu testu HercepTest™ [46, 55]. Zmodyfikowany system oceny ekspresji receptora HER2 w IHC w raku żołądka zastosowano w procesie rekrutacji chorych do badania klinicznego III fazy ToGA.

Badaniom przesiewowym poddano 3801 chorych na uogólnionego raka żołądka. Obecność nadmiernej ekspresji receptora HER2 i/lub amplifikację genu *HER2* wykazano u 22,1% chorych, przy czym zgodność wyników pomiędzy IHC i FISH była bardzo wysoka (ok. 87%) [56]. Ostatecznie do randomizowanego, wieloośrodkowego, międzynarodowego badania klinicznego ToGA włączono 594 chorych na HER2-dodatniego raka połączenia przełykowo-żołądkowego i żołądka w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby. Oceny amplifikacji genu *HER2* za pomocą FISH w badaniu klinicznym ToGA dokonywano na podstawie nieco mniej ścisłych kryteriów niż na przykład kryteriów zawartych w zaleceniach *American Society of Clinical Oncology* (ASCO)

[56]. Nadmierną ekspresję receptora HER2 i/lub amplifikację genu HER2 stwierdzano częściej w rakach GEJ niż żołądka (35% vs. 20%) oraz częściej w rakach o typie jelitowym niż w typach rozlanych i mieszanych (odpowiednio 32% vs. 6% vs. 20%) [56].

W badaniu ToGA chorych z grupy kontrolnej leczono kapecytabiną w dawce 1000 mg/m<sup>2</sup> 2 × d. w dniach 1.–14. co 3 tyg. × 6 cykli lub 5-fluorouracylem w dawce 800 mg/m<sup>2</sup>/d. wlew ciągły d. 1.–5. co 3 tyg. × 6 cykli w skojarzeniu z cisplatyną w dawce 80 mg/m<sup>2</sup> co 3 tyg. × 6 cykli. Chorzy z grupy eksperymentalnej dodatkowo otrzymywali trastuzumab w dawce 8 mg/kg d. 1. i 6 mg/kg co 3 tyg., przy czym mógł on być stosowany do wystąpienia progresji choroby lub nieakceptowalnej toksyczności [56]. Pierwszorzędowym punktem końcowym był OS, drugorzędowymi punktami końcowymi były między innymi PFS, TTP, częstość odpowiedzi (ORR, *objective response rate*), odsetek korzyści klinicznych (CBR, *clinical benefits rate*), jakość życia (QoL, *quality of life*) oraz bezpieczeństwo leczenia. Drugą analizę przejściową wyników badania ToGA, przeprowadzoną po wystąpieniu 345 zdarzeń (75%), *Independent Data Monitoring Committee* (IDMC) ze względu na spełnienie wymaganych kryteriów statystycznych uznała za ostateczną [56].

Dołączenie trastuzumabu do chemioterapii PF lub XP wiązało się z istotną poprawą odsetka odpowiedzi na leczenie, w porównaniu z wyłączną chemioterapią (odsetek RR wyniósł odpowiednio 47,3% vs. 34,5%,  $p = 0,0017$ ). W analizie przeprowadzonej w grupie chorych poddanych terapii zgodnie z zaplanowanym leczeniem (ITT, *intention-to-treat analysis*) wykazano istotne wydłużenie mediany PFS (odpowiednio 6,7 vs. 5,5 miesiąca,  $p = 0,0002$ ) oraz mediany OS chorych (odpowiednio 13,8 vs. 11,1 miesiąca, HR: 0,74;  $p = 0,0046$ ) [56]. Należy przy tym podkreślić, że wyniki leczenia trastuzumabem w skojarzeniu z chemioterapią zależały od nasilenia ekspresji receptora HER2 i/lub obecności amplifikacji genu *HER2*. W grupie chorych z nadmierną ekspresją receptora HER2 („3+”) w IHC i obecną amplifikacją genu *HER2* (FISH+) dołączenie trastuzumabu do chemioterapii wiązało się z istotnym wydłużeniem mediany OS chorych w porównaniu z wyłączną chemioterapią (mediana OS wyniosła odpowiednio 17,9 vs. 12,3 miesiąca, HR: 0,58;  $P < 0,05$ ). Również w analizie przeprowadzonej po zakończeniu badania ToGA (*exploratory analysis*) w grupie chorych z nadmierną ekspresją receptora HER2 „2+” w IHC i FISH+ lub z nadmierną ekspresją receptora HER2 „3+” w IHC wykazano istotne wydłużenie mediany OS chorych związanej z dołączeniem trastuzumabu do chemioterapii w porównaniu z wyłączną chemioterapią (mediana OS wyniosła odpowiednio 16,0 vs. 11,8 miesiąca, HR: 0,65;  $p < 0,05$ ) [56].

Stosowanie trastuzumabu nie wiązało się z nasileniem hematologicznych działań niepożądanych zwią-

zanych ze stosowaniem cisplatyny w skojarzeniu z pochodnymi fluoropirymidyn. Bezobjawowe obniżenie wartości frakcji wyrzutowej lewej komory serca (LVEF, *left ventricular ejection fraction*) poniżej 50% obserwowano częściej u chorych leczonych trastuzumabem w skojarzeniu z chemioterapią niż u pacjentów, u których stosowano wyłącznie chemioterapię (odpowiednio 5,9% vs. 1,1%). Należy jednak podkreślić, iż wystąpienie zastoinowej niewydolności serca obserwowano jedynie u 1 chorego otrzymującego trastuzumab w skojarzeniu z chemioterapią i u 2 chorych leczonych cisplatyną w skojarzeniu z pochodnymi fluoropirymidyn. Ponadto, wystąpienie kardiologicznych ciężkich działań niepożądanych (zawał serca, niestabilna dławica piersiowa, niewydolność krążeniowo-oddechowa) obserwowano u 2 chorych w każdej z badanych grup [56].

Trastuzumab jest pierwszym lekiem z grupy terapii ukierunkowanych molekularnie o udokumentowanym wpływie na wydłużenie czasu przeżycia całkowitego chorych na raka żołądka w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby. Trastuzumab w skojarzeniu z cisplatyną i pochodnymi fluoropirymidyn jest nową opcją leczenia chorych na HER2-dodatniego raka połączenia przełykowo-żołądkowego i żołądka w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby. Wydaje się, iż w najbliższej przyszłości celowe będzie podjęcie badań nad stosowaniem trastuzumabu w ramach leczenia uzupełniającego, przedoperacyjnego i/lub okołoperacyjnego u chorych na HER2-dodatniego raka GEJ i żołądka, a także ocena skuteczności i bezpieczeństwa stosowania tego leku w skojarzeniu z innymi programami chemioterapii. Odrębnym problemem klinicznym stanie się postępowanie w przypadku wystąpienia progresji choroby po zakończeniu leczenia lub w trakcie terapii trastuzumabem. Rozwiązania tego i innych problemów klinicznych należy upatrywać w badaniach klinicznych nad stosowaniem innych leków celowanych, interferujących z funkcją receptorów z rodziny HER, takich jak lapatynib, neratynib, pertuzumab i innych w monoterapii lub w skojarzeniu z lekami cytotoksycznymi lub innymi terapiami celowanymi.

## Leczenie interferujące z funkcją EGFR u chorych na raka trzustki

Jones i wsp. [57] dokonali analizy genetycznej 24 przypadków raka trzustki, określając sekwencję transkryptów reprezentujących 20,661 genów kodujących białka. W badaniu tym poszukiwano homozygotycznych delecji i amplifikacji w DNA komórek raka poprzez wykorzystanie mikromacierzy zawierających sondy około 10<sup>6</sup> polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (SNPs, *single nucleotide polymorphisms*). Okazało się, iż w raku trzustki występują średnio 63 zaburzenia

genetyczne (w większości mutacje punktowe). Dotyczą one 12 szlaków przekazywania sygnałów komórkowych i procesów wewnątrzkomórkowych, przy czym są one obecne z dużą heterogennością w 67–100% guzów [57]. Zaburzenia molekularne w raku trzustki dotyczą również szlaków przekazywania sygnałów wewnątrzkomórkowych, związanych z EGFR.

Ekspresję EGFR, EGF i  $TGF\alpha$  w komórkach nowotworowych obserwowano w około 30–95% przypadków raka trzustki [58–64]. W znaczącym odsetku przypadków tego nowotworu występuje jednoczesna ekspresja EGFR i EGF lub  $TGF\alpha$  [64]. Wykazano istotną zależność współwystępowania EGFR i EGF lub  $TGF\alpha$  z wielkością guza, zaawansowaniem klinicznym choroby i czasem przeżycia chorych [65]. Do wystąpienia mutacji w genie *KRAS* dochodzi prawdopodobnie na wczesnych etapach karcynogenezy. W zaawansowanych stadiach klinicznych choroby mutacje w genie *KRAS* występują u ok. 71–94% chorych [66–69]. Co więcej, u niektórych chorych bez mutacji w genie *KRAS* (tzw. *wild-type*) stwierdzano obecność mutacji w genie *BRAF* [70, 71], jednak w innych badaniach wykazano obecność mutacji w genie *BRAF* w dwóch przypadkach raka trzustki z obecną mutacją w genie *KRAS* [68] lub nie wykazano obecności mutacji w genie *BRAF*, ani w przypadkach raka trzustki z obecną mutacją w genie *KRAS*, ani w przypadkach „*wild-type*” [72].

Aktualnie dostępne są wyniki badań klinicznych III fazy, w których poddano ocenie aktywność i bezpieczeństwo stosowania drobnocząsteczkowych inhibitorów kinazy tyrozynowej EGFR oraz przeciwciał monoklonalnych przeciwko EGFR w leczeniu chorych na raka trzustki w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby.

Aktywność erlotynibu w skojarzeniu z gemcytabiną w I linii leczenia chorych na raka trzustki w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby poddano ocenie w międzynarodowym, wieloośrodkowym, randomizowanym badaniu klinicznym III fazy przeprowadzonym przez *National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group* (NCIC CTG PA.3) [73]. Do tego badania włączono 569 chorych na raka trzustki w III i IV stadium zaawansowania klinicznego, których nie zakwalifikowano do radykalnego leczenia chirurgicznego. Chorych losowo przydzielano do dwóch grup. W grupie eksperymentalnej poddawano ich leczeniu gemcytabiną w dawce 1000 mg/m<sup>2</sup> dz. 1. co 7 dni (przez 7 tygodni + 1 tydzień przerwy) i w kolejnych cyklach przez 3 tygodnie + 1 tydzień przerwy), w skojarzeniu z erlotynibem w dawce 100 mg/d. lub 150 mg/d. (jedynie w wybranych ośrodkach kanadyjskich) [73]. W grupie kontrolnej chorzy otrzymywali wyłącznie gemcytabinę. Pierwszorzędnym punktem końcowym badania klinicznego NCIC CTG PA.3 był OS, podczas gdy drugorzędowymi punktami końcowymi były między innymi PFS, RR, bezpieczeństwo leczenia i ocena QoL [73].

Stosowanie erlotynibu w skojarzeniu z gemcytabiną wiązało się z wydłużeniem przeżycia całkowitego chorych w porównaniu z monoterapią gemcytabiną (HR: 0,82, 95% CI: 0,69–0,99; p = 0,038) [73]. Wydłużenie czasu przeżycia chorych było istotne statystycznie, jednak należy je uznać za nieznaczne w sensie klinicznym (mediana OS wyniosła odpowiednio 6,24 vs. 5,91 miesiąca). Ponadto, odsetek przeżycia 1-rocznego chorych wyniósł odpowiednio 23% vs. 17% (p = 0,023). Również stosowanie erlotynibu w skojarzeniu z gemcytabiną wiązało się z nieznacznym, lecz istotnym wydłużeniem mediany PFS w porównaniu z monoterapią gemcytabiną (odpowiednio 3,75 vs. 3,55 miesięcy, HR: 0,77; p = 0,004), lecz nie wiązało się z istotną poprawą RR (odpowiednio 8,6% vs. 8,0%; p = 0,07) [73].

Toksyczność hematologiczna była zbliżona w obu grupach chorych. Należy przy tym zauważyć, iż w badaniu klinicznym NCIC CTG PA.3 wyłącznie w grupie chorych poddawanych skojarzonemu leczeniu erlotynibem i gemcytabiną doszło do 6 zgonów, które mogły mieć związek z prowadzonym leczeniem. Bezpośrednimi przyczynami zgonów były: śródmiąższowe zapalenie płuc, posocznica i incydenty mózgowo-naczyniowe [73]. Ogólna ocena jakości życia była porównywalna w obu grupach chorych, przy czym spośród ocenianych parametrów w ocenie szczegółowej jedynie wystąpienie biegunki wpływało na pogorszenie jakości życia chorych leczonych erlotynibem z gemcytabiną w porównaniu z objawami odnotowanymi u chorych stosujących monoterapię gemcytabiną [73].

W poszukiwaniu czynników predykcyjnych terapii erlotynibem w grupie 162 chorych leczonych w ramach badania klinicznego NCIC CTG PA.3 dokonano oceny ekspresji EGFR w komórkach raka trzustki. Ekspresję EGFR wykazano u 53% chorych, jednak nie zaobserwowano jej korelacji z odpowiedzią na leczenie erlotynibem i wynikami leczenia z zastosowaniem tego leku [73]. Natomiast wystąpienie wysypki skórnej wiązało się z uzyskaniem odpowiedzi na leczenie (p = 0,05) i wydłużeniem czasu całkowitego przeżycia chorych (p = 0,037) w porównaniu z pacjentami, u których nie obserwowano toksyczności skórnej związanej z terapią anty-EGFR. Co więcej, nasilenie wysypki skórnej wykazało znamiennej korelację z czasem przeżycia chorych. Mediana całkowitego przeżycia chorych oraz odsetek 1-rocznego przeżycia u chorych, u których obserwowano wystąpienie wysypki skórnej w stopniu 0, 1 i  $\geq 2$  toksyczności według *Common Toxicity Criteria* (CTC) wynosiło odpowiednio 5,3, 5,8 i 10,5 miesięcy oraz 16%, 9% i 43% (p < 0,001) [73].

Ponadto, w badaniu klinicznym NCIC CTG PA.3 nie wykazano związku pomiędzy ekspresją EGFR (IHC) oraz liczbę kopii genu *EGFR* w badaniu FISH z wynikami terapii erlotynibem w skojarzeniu z gemcytabiną [74]. W tym samym badaniu klinicznym poddano ocenie

związek pomiędzy obecnością mutacji w genie *KRAS* i całkowitym przeżyciem chorych. Obecność mutacji w genie *KRAS* wykazano u 79% chorych. W tej grupie pacjentów nie obserwowano wydłużenia czasu całkowitego przeżycia chorych związanego z leczeniem erlotynibem w skojarzeniu z gemcytabiną w porównaniu z gemcytabiną stosowaną w monoterapii (HR: 1,07). Natomiast w grupie chorych, u których nie wykazano obecności mutacji w genie *KRAS*, obserwowano wydłużenie czasu przeżycia całkowitego związanego z dołączeniem erlotynibu do gemcytabiny (HR: 0,66). Jednak liczebność badanej grupy chorych była mała (n = 181), a obserwowane różnice w przeżyciu chorych nie były istotne statystycznie [74]. Ponieważ wpływ obecności mutacji w genie *KRAS* na wyniki leczenia z zastosowaniem leków interferujących z EGFR u chorych na raka trzustki obecnie nadal jest nieznany, powinien on zostać poddany ocenie w ramach prospektywnych badań klinicznych.

Badanie *Southwest Oncology Group-Directed Inter-group Trial S0205* (SWOG S0205) było wieloośrodkowym, randomizowanym, otwartym badaniem klinicznym III fazy, do którego włączono 743 chorych na raka trzustki w III i IV stadium zaawansowania klinicznego, których nie zakwalifikowano do radykalnego leczenia chirurgicznego [75]. Dokonano w nim oceny ekspresji EGFR w badaniu immunohistochemicznym w komórkach raka trzustki u 595 chorych włączonych do niego. Pierwszorzędowym punktem końcowym tego badania był OS, zaś drugorzędowymi punktami końcowymi były między innymi PFS, RR, bezpieczeństwo i toksyczność leczenia [75]. W grupie eksperymentalnej (n = 372) chorych leczono cetuksymabem w skojarzeniu z gemcytabiną (oba leki stosowano w standardowych dawkach), natomiast w grupie kontrolnej (n = 371) chorzy otrzymywali wyłącznie gemcytabinę w monoterapii [75].

Dołączenie cetuksymabu do gemcytabiny nie wiązało się z istotną poprawą RR (odpowiednio 12% vs. 14%; p = 0,59) oraz mediany PFS (3,4 vs. 3,0 miesiący; p = 0,18) w porównaniu z monoterapią gemcytabiną. W badaniu SWOG S0205 nie wykazano także istotnego wydłużenia OS chorych związanego z dołączeniem cetuksymabu do gemcytabiny (mediana OS wyniosła odpowiednio 6,3 vs. 5,9 miesiąca; p = 0,19) [75].

W badaniu SWOG S0205 wykazano ekspresję EGFR (IHC) w komórkach raka trzustki u 92% spośród 595 uczestniczących w nim chorych. Mediana OS chorych z wykazaną ekspresją EGFR w komórkach nowotworowych wyniosła 6 miesięcy zarówno w grupie eksperymentalnej, jak i w grupie kontrolnej (p = 0,42) [75].

W badaniu klinicznym NCIC CTG PA.3, podobnie jak w innym badaniu klinicznym III fazy AViTA, obserwowano wydłużenie całkowitego przeżycia u chorych leczonych erlotynibem, u których stwierdzono wystąpienie wysypki skórnej, w porównaniu z chorymi bez objawów toksyczności skórnej [73, 76]. W badaniu AViTA podda-

no ocenie leczenie gemcytabiną w skojarzeniu z erlotynibem i bewacyzumabem oraz terapię gemcytabiną i erlotynibem u chorych na raka trzustki w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby [76]. Dołączenie bewacyzumabu do programu leczenia gemcytabiną z erlotynibem wiązało się z istotnym wydłużeniem PFS w porównaniu z grupą chorych poddanych terapii niezawierającej bewacyzumabu, w zakresie OS odnotowano jedynie trend w kierunku wydłużenia mediany OS, a wzrost odsetka RR pozostawał na granicy istotności statystycznej [76]. Oczywiście, wystąpienia wysypki skórnej nie można uważać za *sensu stricto* czynnik predykcyjny, bowiem nie może ono zostać wykorzystane do wstępnej selekcji chorych przed rozpoczęciem leczenia. Należy podkreślić, że protokoły większości zakończonych w ostatnich latach badań klinicznych, oceniających stosowanie leczenia celowanego interferującego z EGFR u chorych na nowotwory złośliwe przewodu pokarmowego, zakładały prospektywną ocenę różnych potencjalnych czynników predykcyjnych i prognostycznych. Ostatecznych wyników wielu z tych analiz dotychczas nie przedstawiono.

## Leczenie interferujące z funkcją EGFR u chorych na raka dróg żółciowych

Raki dróg żółciowych są heterogenną grupą nowotworów złośliwych, składającą się z kilku różnych jednostek chorobowych nie tylko o odmiennej lokalizacji anatomicznej, lecz także o odmiennej biologii i odrębnych złożonych zaburzeniach molekularnych (np. rak pęcherzyka żółciowego vs. raki wewnątrz- i zewnątrzwątrobowych dróg żółciowych). Ta złożoność genetyczna może być przyczyną różnic w klinicznym przebiegu choroby, ale też, co istotne, może warunkować odpowiedź na leczenie ukierunkowane na cele molekularne w komórce nowotworowej. Interesujące jest, iż w rakach dróg żółciowych często występują molekularne zaburzenia w szlakach przewodnictwa sygnału wewnątrzkomórkowego związanych z receptorami EGFR i HER2.

Ekspresję EGFR obserwuje się w znaczącej większości przypadków raka dróg żółciowych. W badaniu Lee i wsp. [77] ekspresję tę stwierdzano we wszystkich przypadkach raka pęcherzyka żółciowego oraz w 86% przypadków raka dróg żółciowych. Należy przy tym zauważyć, iż w tych przypadkach odnotowano silną ekspresję EGFR, podczas gdy w większości przypadków dysplazji bądź przewlekłego zapalenia pęcherzyka żółciowego była ona słaba [77]. Interesujące jest, iż w ok. 13–15% przypadków raka dróg żółciowych i pęcherzyka żółciowego wykazano obecność mutacji aktywujących w genie *EGFR*, jednak częstość ich występowania może wykazywać znaczne różnice geograficzne [78, 79]. Mutacje w genie *EGFR* opisane w jednym z tych badań były



identyczne z mutacjami w domenie kinazy tyrozynowej EGFR związanymi ze zwiększoną wrażliwością na leczenie inhibitorami kinazy tyrozynowej EGFR u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca [79–81]. Natomiast w innym badaniu udokumentowano występowanie mutacji w genie *EGFR*, których wcześniej nie opisywano [78]. Amplifikację genu *EGFR* wykazano u około 6% chorych na raka dróg żółciowych [82]. Z kolei nadmierną ekspresję receptora HER2 obserwowano w 16% przypadków raka pęcherzyka żółciowego i 5% przypadków zewnątrzwątrobowego raka dróg żółciowych, przy czym w około 80% przypadków wynikała ona z amplifikacji genu *HER2* [82].

Co ciekawe, częstym zaburzeniem molekularnym w raku dróg żółciowych są mutacje w genie *KRAS*. Obserwuje się je w około 45–54% przypadków wewnątrzwątrobowego raka dróg żółciowych [83–85], 3–38% przypadków raka pęcherzyka żółciowego [86–89] oraz 10–15% przypadków zewnątrzwątrobowego raka dróg żółciowych [89, 90]. Dodatkowo, w około 33% przypadków raka pęcherzyka żółciowego [91] i 22% przypadków wewnątrzwątrobowego raka dróg żółciowych [84] wykazano obecność mutacji w genie *BRAF*, jednak w innym badaniu nie potwierdzono obecności mutacji tego genu ani w raku dróg żółciowych, ani w raku pęcherzyka żółciowego [92].

Aktualnie dostępne są jedynie wyniki badań klinicznych II fazy, w których oceniono aktywność zarówno drobnocząsteczkowych inhibitorów kinazy tyrozynowej EGFR, jak i przeciwciał monoklonalnych przeciwko EGFR u chorych na uogólnionego raka dróg żółciowych. W randomizowanym badaniu klinicznym II fazy poddano ocenie aktywność cetuksymabu w skojarzeniu z gemcytabiną i oksaliplatyną (program GEMOX) u 30 chorych na raka dróg żółciowych w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby w I linii chemioterapii paliatywnej [93]. Całkowitą remisję choroby uzyskano u 3 chorych (10%), zaś PR obserwowano u 53% chorych. Mediana PFS wyniosła 8,8 miesiąca, zaś mediana OS — 15,2 miesiąca [93]. Co istotne, po uzyskaniu znacznego zmniejszenia rozległości choroby u 9 chorych podjęto próbę radykalnej resekcji zmian nowotworowych. Wykazano istotne wydłużenie PFS u chorych poddanych resekcji chirurgicznej po wstępnej cytoredukcji z zastosowaniem cetuksymabu w skojarzeniu z programem GEMOX w porównaniu z PFS u chorych niepoddanych leczeniu operacyjnemu (mediana PFS wyniosła odpowiednio 21,2 vs. 6,8 miesiąca,  $p = 0,0001$ ) [93]. Co więcej, w badaniu tym obecność mutacji w genie *KRAS* stwierdzono jedynie u 10% badanych, przy czym u 2 z nich uzyskano PR, a u jednego chorego SD). Ponadto, nasilenie wysypki skórnej, związanej ze stosowaniem cetuksymabu, wykazywało korelację z uzyskaniem odpowiedzi na leczenie tym przeciwciałem ( $p = 0,01$ ) [93]. Należy jednak podkreślić, iż na wynikach tego badania

zaważyć mógł błąd systematyczny wynikający z selekcji i braku losowego podziału chorych do grup.

W innym, randomizowanym badaniu klinicznym II fazy poddano ocenie aktywność cetuksymabu w skojarzeniu z programem GEMOX u 101 chorych na raka dróg żółciowych w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby, którzy nie otrzymywali uprzednio chemioterapii paliatywnej [94]. Aktualnie dostępne są jedynie wyniki analizy przejściowej efektów leczenia w grupie 36 chorych, które sugerują poprawę odsetka 4-miesięcznego PFS u chorych leczonych cetuksymabem w skojarzeniu z programem GEMOX w porównaniu ze stosowaniem wyłącznie chemioterapii (odpowiednio 61% vs. 44%) [94].

Philip i wsp.[95] poddali ocenie stosowanie erlotynibu w monoterapii u chorych na raka dróg żółciowych w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby. Ponad połowę chorych włączonych do tego badania uprzednio poddano chemioterapii paliatywnej. Ekspresję EGFR (IHC) udokumentowano u 81% chorych. U 17% chorych nie stwierdzono wystąpienia progresji choroby w okresie 24 tygodni obserwacji. PR uzyskano u 3 z 40 chorych (7,5%), dodatkowo u 17 chorych obserwowano stabilizację choroby o medianie czasu trwania 4,4 miesiące. Mediana TTP wyniosła 2,6 miesiąca, zaś mediana OS — 7,5 miesiąca [95]. W badaniu tym nie dokonano oceny obecności mutacji aktywujących w genie *EGFR*, ponadto z powodu małej liczebności grupy badanej nie oceniono związku pomiędzy ekspresją EGFR i odpowiedzią na leczenie erlotynibem. Nie wykazano natomiast istotnego wpływu ekspresji EGFR na wydłużenie czasu przeżycia całkowitego chorych ( $p > 0,05$ ) [95].

W innym badaniu oceniono wyniki stosowania lapatynibu w grupie 17 chorych na raka dróg żółciowych w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby. Nie obserwowano obiektywnych odpowiedzi na leczenie, natomiast u 5 chorych stwierdzono stabilizację choroby. Mediana PFS wyniosła 1,8 miesiąca, zaś mediana OS — 5,2 miesiąca [96]. Przedstawiono także — dotychczas jedynie w postaci streszczenia — wstępne dane dotyczące aktywności AZD 6244 — inhibitora MEK 1/2 — w leczeniu chorych na uogólnionego raka dróg żółciowych, którzy mogli uprzednio otrzymywać chemioterapię paliatywną. Wyniki terapii z zastosowaniem AZD6244 w tej grupie chorych okazały się zachęcające (RR — 14%, mediana PFS — 5,4 miesiąca, mediana OS — 8,2 miesiąca) [97].

Wyniki powyższych badań sugerują, iż stosowanie inhibitorów EGFR może wiązać się z u części chorych na raka dróg żółciowych w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby z istotnymi korzyściami klinicznymi. Wpływ zarówno obecności mutacji aktywujących w genie *EGFR*, jak i mutacji w genach *KRAS* i *BRAF* na wyniki leczenia interferującego z EGFR u tych chorych pozostaje, jak dotąd, nieznany. W świetle danych na

temat roli mutacji w tych genach, uzyskanych w toku badań klinicznych u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca i raka jelita grubego leczonych między innymi erlotynibem i cetuksymabem, wydaje się, iż także w przypadku chorych na raka dróg żółciowych konieczna będzie identyfikacja grupy pacjentów, którzy mogliby odnieść największą korzyść z terapii inhibitorami EGFR. Wydaje się także, iż wyodrębnienie takiej grupy chorych na uogólnionego raka dróg żółciowych mogłoby prowadzić do poprawy wyników ich leczenia.

### Leczenie interferujące z funkcją EGFR u chorych na raka wątrobowokomórkowego

W około 90% przypadków podłożem rozwoju raka wątrobowokomórkowego (HCC, *hepatocellular carcinoma*) jest marskość wątroby wywołana przewlekłą infekcją HBV/HCV lub toksycznym uszkodzeniem wątroby (alkohol, aflatoksyny), rzadziej zaś innymi przyczynami, na przykład hemochromatozą. Procesy przebudowy marskiej wątroby i współistnienie zaburzeń w funkcjonowaniu układu immunologicznego związanych z przewlekłą infekcją wirusami zapalenia wątroby przyczyniają się do tego, że HCC jest nowotworem niezwykle złożonym na poziomie molekularnym. Wśród zaburzeń molekularnych obserwowanych w HCC należy wymienić nieprawidłowe procesy stymulacji przez czynniki wzrostu (m.in. TGF- $\beta$  i EGF), nadmierną aktywację szlaków przekąźnikowych odpowiedzialnych za procesy proliferacji (RAF/MEK/ERK, PI3K/AKT, Wnt/ $\beta$ -katenina), zaburzenia procesów apoptozy (p53, PTEN). Ponadto, w rozwoju HCC dużą rolę odgrywa proces neoangiogenezy. W efekcie HCC jest nowotworem o silnie rozwiniętej sieci patologicznych naczyń krwionośnych. Jednym ze szlaków przekąźnictwa wewnątrzkomórkowego, związanym z receptorem EGFR, odgrywającym istotną rolę w patogenezie raka wątrobowokomórkowego, jest szlak transdukcji sygnału RAF/MEK/ERK (MEK, *mitogen-activated protein extracellular kinase*; ERK, *extracellular signal-regulated kinase*), odpowiedzialny między innymi za kontrolę podziału komórkowego i proliferację [98–104]. Nadmierna ekspresja EGFR w komórkach HCC występuje często. Ponadto wykazano, iż jest ona niezależnym niekorzystnym czynnikiem prognostycznym w przebiegu HCC i wykazuje korelację z rozsiewem pozawątrobowym tej choroby [100–102].

Sorafenib jest drobnocząsteczkowym, wielokina-zowym inhibitorem o aktywności anty-angiogennej i pro-apoptotycznej. Lek ten między innymi hamuje aktywność kinazy RAF, ważnego elementu szlaku transdukcji sygnału RAF/MEK/ERK, a także blokuje transdukcję sygnału zależną od receptorów VEGFR-2 i PDGFR-beta, przez co wywiera wpływ hamujący angiogenezę

w guzie nowotworowym [105]. Aktywność sorafenibu poddano ocenie w międzynarodowym, wielośrod-kowym, randomizowanym badaniu klinicznym III fazy *Sorafenib HCC Assessment Randomized Protocol* (SHARP) [106]. Włączono do niego 602 chorych na HCC w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby, przy czym około 90% chorych pochodziło z ośrodków europejskich. Należy podkreślić, iż u 95% chorych włączonych do badania SHARP wydolność wątroby według skali Child-Pugh oceniono na A [106]. Leczenie sorafenibem rzadko wiązało się z obiektywną odpowiedzią na leczenie (odsetek PR wyniósł jedynie 2,3%), częściej obserwowano stabilizację choroby nowotworowej (u 71% chorych otrzymujących sorafenib). W porównaniu ze stosowaniem placebo terapia sorafenibem wiązała się z istotnym wydłużeniem PFS (mediana PFS wyniosła odpowiednio 5,5 vs. 2,8 miesiąca, HR: 0,58;  $p = 0,00007$ ) i istotnym wydłużeniem OS (mediana OS wyniosła odpowiednio 10,7 vs. 7,9 miesiąca, HR: 0,69;  $p = 0,00058$ ) [106].

W innym badaniu klinicznym III fazy, o konstrukcji zbliżonej do badania SHARP, dokonano oceny skuteczności stosowania sorafenibu u chorych na HCC, pochodzących z populacji azjatyckiej [107]. Wyniki tego badania były porównywalne do uzyskanych w badaniu SHARP. W badaniu azjatyckim, podobnie jak w badaniu SHARP, stosowanie sorafenibu wiązało się z istotnym zmniejszeniem ryzyka progresji choroby (o 42%) i istotną redukcją ryzyka zgonu (o 33%) [107]. Należy podkreślić różnice w sile statystycznej obu tych badań, jak również różnice w etiologii HCC (ok. 75% chorych z etiologią wirusowego zapalenia wątroby typu B w badaniu azjatyckim vs. ok. 30% chorych w badaniu europejskim). Ponadto, do badania azjatyckiego włączano chorych w gorszym stanie ogólnym i z bardziej zaawansowanym HCC niż w badaniu europejskim, stąd też rokowanie i wyniki leczenia sorafenibem u tych chorych były ogólnie gorsze w krajach azjatyckich [107].

Sorafenib jest pierwszym lekiem o udokumentowanym wpływie na wydłużenie przeżycia chorych na raka wątrobowokomórkowego w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby. Sorafenib jest lekiem dość dobrze tolerowanym przez chorych. Nieco wyższy odsetek działań niepożądanych występował w badaniu azjatyckim (m.in. występowanie zespołu ręka–stopa w stopniu 3./4. u 11% chorych) niż w badaniu europejskim, co może wynikać z odrębności w farmakokinetyce i farmakogenetyce leków obserwowanej w azjatyckiej populacji chorych w porównaniu z chorymi z Europy Zachodniej i Środkowej [106, 107]. Należy jednak zauważyć, iż stosowanie sorafenibu nie wiązało się z istotnym wydłużeniem czasu do progresji objawowej HCC [106]. Ponadto, bezpieczeństwo i wartość stosowania tego leku w grupie chorych w klasie B i C według klasyfikacji Child-Pugh dotychczas słabo udokumentowano [108].

**Tabela 1. Aktywność leków interferujących z funkcją EGFR u chorych na raka wątrobowokomórkowego w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby (wyniki wybranych badań klinicznych II lub III fazy)****Table 1. Activity of drugs interfering with EGFR function in advanced hepatocellular carcinoma patients (results of selected phase II and III clinical trials)**

Badanie kliniczne	Leki badane	Liczba chorych	RR (%)	SD (%)	mTTP <sup>a</sup> lub mPFS <sup>b</sup> , (miesiące)	mOS, (miesiące)
Abou-Alfa i wsp. [110]	Sorafenib	137	2,2	33,6	4,2 <sup>a</sup>	9,2
Llovet i wsp. [106]	Sorafenib	602	2	71	5,5 <sup>a</sup>	10,7
Cheng i wsp. [107]	Sorafenib	226	3,3	54	2,8 <sup>a</sup>	6,5
Abou-Alfa i wsp. [111]	Sorafenib + doksorubicyna	96	4	77	8,6 <sup>a</sup> /6,9 <sup>b</sup>	13,7
Thomas i wsp. [112]	Erlotinib	40	0	43	3,1 <sup>b</sup>	6,25
Philip i wsp. [113]	Erlotinib	38	9	50	3,2 <sup>b</sup>	13
Thomas i wsp. [109]	Bewacyzumab + erlotynib	40	25	42,5	9,0 <sup>b</sup>	15,6
O'Dwyer i wsp. [114]	Gefitynib	31	3	22,5	2,8 <sup>b</sup>	6,5
Ramanathan i wsp. [96]	Lapatynib	30	5	35	2,3 <sup>b</sup>	6,2
Bekaii-Saab T i wsp. [115]	Lapatynib	26	0	40	1,9 <sup>b</sup>	12,6
Zhu i wsp. [116]	Cetuksymab	30	0	17	1,4 <sup>b</sup>	9,6
Grünwald i wsp. [117]	Cetuksymab	32	0	44	1,9 <sup>a</sup>	NR
Asnacios i wsp. [118]	Cetuksymab + GEMOX	45	20	40	4,7 <sup>b</sup>	9,5
Faivre i wsp. [119]	Sunitynib	37	2,7	35	5,3 <sup>a</sup>	9,3
Zhu i wsp. [120]	Sunitynib	34	2,9	47	4,0 <sup>b</sup>	9,9

<sup>a</sup>wyniki leczenia wyrażone jako mediana czasu przeżycia do progresji choroby; <sup>b</sup>wyniki leczenia wyrażone jako mediana czasu przeżycia wolnego od progresji choroby; NR (*not reported*) — nie raportowano; RR (*response rate*) — odsetek odpowiedzi na leczenie; SD (*stable disease*) — stabilizacja choroby; mOS (*median overall survival*) — mediana czasu całkowitego przeżycia chorych; mTTP (*median time to progression*) — mediana czasu przeżycia do progresji choroby; mPFS (*median progression-free survival*) — mediana czasu przeżycia wolnego od progresji choroby

Innym inhibitorem wielokinazowym, którego aktywność poddano ocenie w kilku badaniach klinicznych II fazy u chorych na HCC w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby, jest sunitynib. Wstępne wyniki tych badań sugerują (tab. 1), iż lek ten charakteryzuje się zbliżoną aktywnością do sorafenibu w terapii tych chorych. W innych badaniach poddano ocenie skuteczność stosowania erlotynibu i gefitynibu, drobnocząsteczkowych inhibitorów EGFR, a także lapatynibu, który jest drobnocząsteczkowym inhibitorem receptorów EGFR i HER2. Zasadniczo leki te charakteryzują się bardzo słabą lub umiarkowaną aktywnością w terapii chorych na HCC w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby (tab. 1). Wyższą aktywność obserwowano przy zastosowaniu erlotynibu w skojarzeniu z bewacyzumabem (przeciwciałem przeciwko VEGF o działaniu antyangiogennym). W badaniu Thomasa i wsp. [109] oceniono stosowanie tych dwóch leków w skojarzeniu w terapii 40 chorych na HCC w stadium uogólnienia choroby. Częściową regresję stwierdzono u 25% chorych, mediana PFS wyniosła 9 miesięcy, zaś mediana OS — 15,6 miesiąca [109]. Jednak toksyczność leczenia skojarzonego była dość znacząca, bowiem osłabienie w stopniu 3./4. obserwowano u 20% chorych, nadciśnienie

nie tętniczne w stopniu 3./4. u 15% chorych, krwawienie z przewodu pokarmowego — u 12,5% chorych, biegunkę — u 10% i podwyższenie aktywności transaminaz — u 10% chorych [109]. Problemem wymagającym oceny jest bezpieczeństwo stosowania bewacyzumabu u chorych z nadciśnieniem wrotnym. Innym lekiem, którego aktywność poddano ocenie w badaniach klinicznych II fazy u chorych na HCC w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby jest cetuksymab, chimeryczne przeciwciało monoklonalne przeciwko EGFR (tab. 1). Jednak aktywność tego leku w monoterapii wydaje się być bardzo mała lub jedynie umiarkowana w skojarzeniu z gemcytabiną i oksaliplatyną (program GEMOX).

## Podsumowanie

Poprawa wyników leczenia chorych na uogólnione nowotwory złośliwe górnego odcinka przewodu pokarmowego upatrywana jest w ostatnich latach w identyfikacji specyficznych zaburzeń molekularnych w komórkach nowotworowych. Trwają intensywne poszukiwania terapii ukierunkowanych na cele molekularne w komórce nowotworowej. Jednym z nich

może być receptor EGFR, tym bardziej że zaburzenia stwierdzone w szlakach przekaźnictwa sygnałów wewnątrzkomórkowych związanych z tymi receptorami są istotnymi niekorzystnymi czynnikami prognostycznymi w tej grupie chorych. Receptor EGFR może być celem terapii wykorzystujących drobnocząsteczkowe inhibitory kinaz tyrozynowych EGFR lub przeciwciał monoklonalnych przeciwko temu receptorowi. Dotychczas na podstawie pozytywnych wyników badań klinicznych III fazy do codziennej praktyki klinicznej wprowadzono trastuzumab w leczeniu chorych na HER2-dodatniego uogólnionego raka żołądka oraz erlotynib w leczeniu chorych na raka trzustki w zaawansowanych stadiach klinicznych choroby. Wyniki badań klinicznych wstępnych faz stworzyły podstawy naukowe do prowadzonych obecnie licznych badań III fazy oceniających skuteczność stosowania leków interferujących z EGFR u chorych na inne nowotwory złośliwe górnego odcinka przewodu pokarmowego, w skojarzeniu z klasycznymi lekami cytotoksycznymi i/lub radioterapią.

## Piśmiennictwo

1. Wang K.L., Wu T.T., Choi I.S. i wsp. Expression of epidermal growth factor receptor in esophageal and esophagogastric junction adenocarcinomas: association with poor outcome. *Cancer* 2007; 109: 658–667.
2. Hanawa M., Suzuki S., Dobashi Y. i wsp. EGFR protein overexpression and gene amplification in squamous cell carcinomas of the esophagus. *Int. J. Cancer* 2006; 118: 1173–1180.
3. Gibault L., Metges J.P., Conan-Charlet V. i wsp. Diffuse EGFR staining is associated with reduced overall survival in locally advanced oesophageal squamous cell cancer. *Br. J. Cancer* 2005; 93: 107–115.
4. Itakura Y., Sasano H., Shiga C. i wsp. Epidermal growth factor receptor overexpression in esophageal carcinoma. An immunohistochemical study correlated with clinicopathologic findings and DNA amplification. *Cancer* 1994; 74: 795–804.
5. Shimada Y., Imamura M., Watanabe G. i wsp. Prognostic factors of oesophageal squamous cell carcinoma from the perspective of molecular biology. *Br. J. Cancer* 1999; 80: 1281–1288.
6. Yano H., Shiozaki H., Kobayashi K. i wsp. Immunohistologic detection of the epidermal growth factor receptor in human esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer* 1991; 67: 91–98.
7. Ozawa S., Ueda M., Ando N. i wsp. Prognostic significance of epidermal growth factor receptor in esophageal squamous cell carcinomas. *Cancer* 1989; 63: 2169–2173.
8. Kitagawa Y., Ueda M., Ando N. i wsp. Further evidence for prognostic significance of epidermal growth factor receptor gene amplification in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 1996; 2: 909–914.
9. Puhlinger-Oppermann F.A., Stein H.J., Sarbia M. Lack of EGFR gene mutations in exons 19 and 21 in esophageal (Barrett's) adenocarcinomas. *Dis. Esophagus* 2007; 20: 9–11.
10. Sudo T., Mimori K., Nagahara H. i wsp. Identification of EGFR mutations in esophageal cancer. *Eur. J. Surg. Oncol.* 2007; 33: 44–48.
11. Guo M., Liu S., Lu F. Gefitinib-sensitizing mutations in esophageal carcinoma. *N. Engl. J. Med.* 2006; 354: 2193–2194.
12. Kwak E.L., Jankowski J., Thayer S.P. i wsp. Epidermal growth factor receptor kinase domain mutations in esophageal and pancreatic adenocarcinomas. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12: 4283–4287.
13. Janmaat M.L., Gallegos-Ruiz M.I., Rodriguez J.A. i wsp. Predictive factors for outcome in a phase II study of gefitinib in second-line treatment of advanced esophageal cancer patients. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 1612–1619.
14. Ferry D.R., Anderson M., Beddard K. i wsp. A phase II study of gefitinib monotherapy in advanced esophageal adenocarcinoma: evidence of gene expression, cellular, and clinical response. *Clin. Cancer Res.* 2007; 13: 5869–5875.
15. Ilson D.H., Kelsen D., Shah M. i wsp. A phase 2 trial of erlotinib in patients with previously treated squamous cell and adenocarcinoma of the esophagus. *Cancer* 2011; 117: 1409–1014.
16. Lorenzen S., Schuster T., Porschen R. i wsp. Cetuximab plus cisplatin-5-fluorouracil versus cisplatin-5-fluorouracil alone in first-line metastatic squamous cell carcinoma of the esophagus: a randomized phase II study of the Arbeitsgemeinschaft Internistische Onkologie. *Ann. Oncol.* 2009; 20: 1667–1673.
17. Gold P.J., Goldman B., Iqbal S. i wsp. Cetuximab as second-line therapy in patients with metastatic esophageal adenocarcinoma: a phase II Southwest Oncology Group Study (S0415). *J. Thorac. Oncol.* 5: 1472–1476.
18. Yasui W., Hata J., Yokozaki H. i wsp. Interaction between epidermal growth factor and its receptor in progression of human gastric carcinoma. *Int. J. Cancer* 1988; 41: 211–217.
19. Yasui W., Sumiyoshi H., Hata J. i wsp. Expression of epidermal growth factor receptor in human gastric and colonic carcinomas. *Cancer Res.* 1988; 48: 137–141.
20. Tokunaga A., Onda M., Okuda T. i wsp. Clinical significance of epidermal growth factor (EGF), EGF receptor, and c-erbB-2 in human gastric cancer. *Cancer* 1995; 75: 1418–1425.
21. Takehana T., Kunitomo K., Suzuki S. i wsp. Expression of epidermal growth factor receptor in gastric carcinomas. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2003; 1: 438–445.
22. Gamboa-Dominguez A., Dominguez-Fonseca C., Quintanilla-Martinez L. i wsp. Epidermal growth factor receptor expression correlates with poor survival in gastric adenocarcinoma from Mexican patients: a multivariate analysis using a standardized immunohistochemical detection system. *Mod. Pathol.* 2004; 17: 579–587.
23. Dragovich T., McCoy S., Fenoglio-Preiser C.M. i wsp. Phase II trial of erlotinib in gastroesophageal junction and gastric adenocarcinomas: SWOG 0127. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 4922–4927.
24. Pinto C., Di Fabio F., Siena S. i wsp. Phase II study of cetuximab in combination with FOLFIRI in patients with untreated advanced gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma (FOL-CETUX study). *Ann. Oncol.* 2007; 18: 510–517.
25. Yoshida K., Tsuda T., Matsumura T. i wsp. Amplification of epidermal growth factor receptor (EGFR) gene and oncogenes in human gastric carcinomas. *Virchows Arch. B. Cell. Pathol. Incl. Mol. Pathol.* 1989; 57: 285–290.
26. Lemoine N.R., Jain S., Silvestre F. i wsp. Amplification and overexpression of the EGF receptor and c-erbB-2 proto-oncogenes in human stomach cancer. *Br. J. Cancer* 1991; 64: 79–83.
27. Hirono Y., Tsugawa K., Fushida S. i wsp. Amplification of epidermal growth factor receptor gene and its relationship to survival in human gastric cancer. *Oncology* 1995; 52: 182–188.
28. Tsugawa K., Yonemura Y., Hirono Y. i wsp. Amplification of the c-met, c-erbB-2 and epidermal growth factor receptor gene in human gastric cancers: correlation to clinical features. *Oncology* 1998; 55: 475–481.
29. Jiang W., Kahn S.M., Guillem J.G. i wsp. Rapid detection of ras oncogenes in human tumors: applications to colon, esophageal, and gastric cancer. *Oncogene* 1989; 4: 923–928.
30. Lee K.H., Lee J.S., Suh C. i wsp. Clinicopathologic significance of the K-ras gene codon 12 point mutation in stomach cancer. An analysis of 140 cases. *Cancer* 1995; 75: 2794–2801.
31. Arber N., Shapira I., Ratan J. i wsp. Activation of c-K-ras mutations in human gastrointestinal tumors. *Gastroenterology* 2000; 118: 1045–1050.
32. Nanus D.M., Kelsen D.P., Mentle I.R. i wsp. Infrequent point mutations of ras oncogenes in gastric cancers. *Gastroenterology* 1990; 98: 955–960.
33. Hongyo T., Buzard G.S., Palli D. i wsp. Mutations of the K-ras and p53 genes in gastric adenocarcinomas from a high-incidence region around Florence, Italy. *Cancer Res.* 1995; 55: 2665–2672.
34. Zhao W., Chan T.L., Chu K.M. i wsp. Mutations of BRAF and KRAS in gastric cancer and their association with microsatellite instability. *Int. J. Cancer* 2004; 108: 167–169.
35. Lee S.H., Lee J.W., Soung Y.H. i wsp. BRAF and KRAS mutations in stomach cancer. *Oncogene* 2003; 22: 6942–6945.
36. Pinto C., Di Fabio F., Barone C. i wsp. Phase II study of cetuximab in combination with cisplatin and docetaxel in patients with untreated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (DOCETUX study). *Br. J. Cancer* 2009; 101: 1261–1268.

37. Kim C., Lee J.L., Ryu M.H. i wsp. A prospective phase II study of cetuximab in combination with XELOX (capecitabine and oxaliplatin) in patients with metastatic and/or recurrent advanced gastric cancer. *Invest. New Drugs* 29: 366–373.
38. Han S.W., Oh D.Y., Im S.A. i wsp. Phase II study and biomarker analysis of cetuximab combined with modified FOLFOX6 in advanced gastric cancer. *Br. J. Cancer* 2009; 100: 298–304.
39. Lordick F., Luber B., Lorenzen S. i wsp. Cetuximab plus oxaliplatin/leucovorin/5-fluorouracil in first-line metastatic gastric cancer: a phase II study of the Arbeitsgemeinschaft Internistische Onkologie (AIO). *Br. J. Cancer* 102: 500–505.
40. Moehler M., Mueller A., Trarbach T. i wsp. Cetuximab with irinotecan, folinic acid and 5-fluorouracil as first-line treatment in advanced gastroesophageal cancer: a prospective multi-center biomarker-oriented phase II study. *Ann. Oncol.* 2011; 22: 1358–1366.
41. Sakai K., Mori S., Kawamoto T. i wsp. Expression of epidermal growth factor receptors on normal human gastric epithelia and gastric carcinomas. *J. Natl. Cancer Inst.* 1986; 77: 1047–1052.
42. Yonemura Y., Ninomiya I., Yamaguchi A. i wsp. Evaluation of immunoreactivity for erbB-2 protein as a marker of poor short term prognosis in gastric cancer. *Cancer Res.* 1991; 51: 1034–1038.
43. Ishida T., Tsujisaki M., Hanzawa Y. i wsp. Significance of erbB-2 gene product as a target molecule for cancer therapy. *Scand. J. Immunol.* 1994; 39: 459–466.
44. Yano T. Expression of HER2 in gastric cancer: Comparison between protein expression and gene amplification using a new commercial kit. *J. Clin. Oncol. Suppl. (ASCO Annual Meeting Proceedings)* 2004; 22: 15S, abstr. 4053.
45. Gravalos C. Correlation between Her2/neu overexpression/amplification and clinicopathological parameters in advanced gastric cancer patients: A prospective study. *GI. Cancer Symposium* 2007; 130: abstr. 89.
46. Lordick F. Her2 status of advanced gastric cancer is similar in Europe and Asia. *Ann. Oncol.* 2007; 18 (supl. 7): vii95, abstr. P-0253.
47. Park D.I., Yun J.W., Park J.H. i wsp. HER-2/neu amplification is an independent prognostic factor in gastric cancer. *Dig. Dis. Sci.* 2006; 51: 1371–1379.
48. Tateishi M., Toda T., Minamisono Y., Nagasaki S. Clinicopathological significance of c-erbB-2 protein expression in human gastric carcinoma. *J. Surg. Oncol.* 1992; 49: 209–212.
49. Sasano H., Date F., Imatani A. i wsp. Double immunostaining for c-erbB-2 and p53 in human stomach cancer cells. *Hum. Pathol.* 1993; 24: 584–589.
50. Uchino S., Tsuda H., Maruyama K. i wsp. Overexpression of c-erbB-2 protein in gastric cancer. Its correlation with long-term survival of patients. *Cancer* 1993; 72: 3179–3184.
51. Mizutani T., Onda M., Tokunaga A. i wsp. Relationship of C-erbB-2 protein expression and gene amplification to invasion and metastasis in human gastric cancer. *Cancer* 1993; 72: 2083–2088.
52. Allgayer H., Babic R., Gruetzner K.U. i wsp. c-erbB-2 is of independent prognostic relevance in gastric cancer and is associated with the expression of tumor-associated protease systems. *J. Clin. Oncol.* 2000; 18: 2201–2209.
53. Garcia I., Vizoso F., Martin A. i wsp. Clinical significance of the epidermal growth factor receptor and HER2 receptor in resectable gastric cancer. *Ann. Surg. Oncol.* 2003; 10: 234–241.
54. Tanner M., Hollmen M., Junttila T.T. i wsp. Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with Topoisomerase IIalpha gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab. *Ann. Oncol.* 2005; 16: 273–278.
55. Hofmann M., Stoss O., Shi D. i wsp. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopathology* 2008; 52: 797–805.
56. Bang Y.J., Van Cutsem E., Feyereislova A. i wsp. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 376: 687–697.
57. Jones S., Zhang X., Parsons D.W. i wsp. Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses. *Science* 2008; 321: 1801–1806.
58. Smith J.J., Derynck R., Korc M. Production of transforming growth factor alpha in human pancreatic cancer cells: evidence for a superagonist autocrine cycle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1987; 84: 7567–7570.
59. Chen Y.F., Pan G.Z., Hou X. i wsp. Epidermal growth factor and its receptors in human pancreatic carcinoma. *Pancreas* 1990; 5: 278–283.
60. Barton C.M., Hall P.A., Hughes C.M. i wsp. Transforming growth factor alpha and epidermal growth factor in human pancreatic cancer. *J. Pathol.* 1991; 163: 111–116.
61. Korc M., Chandrasekar B., Yamanaka Y. i wsp. Overexpression of the epidermal growth factor receptor in human pancreatic cancer is associated with concomitant increases in the levels of epidermal growth factor and transforming growth factor alpha. *J. Clin. Invest.* 1992; 90: 1352–1360.
62. Nicholson R.I., Gee J.M.W., Harper M.E. EGFR and cancer prognosis. *Eur. J. Cancer* 2001; 37: 9–15.
63. Xiong H.Q., Rosenberg A., LoBuglio A. i wsp. Cetuximab, a Monoclonal Antibody Targeting the Epidermal Growth Factor Receptor, in Combination With Gemcitabine for Advanced Pancreatic Cancer: A Multicenter Phase II Trial. *J. Clin. Oncol.* 2004; 22: 2610–2616.
64. Salomon D.S., Brandt R., Ciardiello F., Normanno N. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 1995; 19: 183–232.
65. Yamanaka Y., Friess H., Kobrin M.S. i wsp. Coexpression of epidermal growth factor receptor and ligands in human pancreatic cancer is associated with enhanced tumor aggressiveness. *Anticancer Res.* 1993; 13: 565–569.
66. Almoguera C., Shibata D., Forrester K. i wsp. Most human carcinomas of the exocrine pancreas contain mutant c-K-ras genes. *Cell* 1988; 53: 549–554.
67. Song M.M., Nio Y., Dong M. i wsp. Comparison of K-ras point mutations at codon 12 and p21 expression in pancreatic cancer between Japanese and Chinese patients. *J. Surg. Oncol.* 2000; 75: 176–185.
68. Ishimura N., Yamasawa K., Karim Rumi M.A. i wsp. BRAF and K-ras gene mutations in human pancreatic cancers. *Cancer Lett.* 2003; 199: 169–173.
69. Hruban R.H., van Mansfeld A.D., Offerhaus G.J. i wsp. K-ras oncogene activation in adenocarcinoma of the human pancreas. A study of 82 carcinomas using a combination of mutant-enriched polymerase chain reaction analysis and allele-specific oligonucleotide hybridization. *Am. J. Pathol.* 1993; 143: 545–554.
70. Kubo T., Kuroda Y., Kokubu A. i wsp. Resequencing analysis of the human tyrosine kinase gene family in pancreatic cancer. *Pancreas* 2009; 38: 200–206.
71. Calhoun E.S., Jones J.B., Ashfaq R. i wsp. BRAF and FBXW7 (CDC4, FBW7, AGO, SEL10) mutations in distinct subsets of pancreatic cancer: potential therapeutic targets. *Am. J. Pathol.* 2003; 163: 1255–1260.
72. Immervoll H., Hoem D., Kugarajh K. i wsp. Molecular analysis of the EGFR-RAS-RAF pathway in pancreatic ductal adenocarcinomas: lack of mutations in the BRAF and EGFR genes. *Virchows Arch.* 2006; 448: 788–796.
73. Moore M.J., Goldstein D., Hamm J. i wsp. Erlotinib plus gemcitabine compared with gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic cancer: a phase III trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25: 1960–1966.
74. Stathis A., Moore M.J. Advanced pancreatic carcinoma: current treatment and future challenges. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 7: 163–172.
75. Philip P.A., Benedetti J., Corless C.L. i wsp. Phase III study comparing gemcitabine plus cetuximab versus gemcitabine in patients with advanced pancreatic adenocarcinoma: Southwest Oncology Group-directed intergroup trial S0205. *J. Clin. Oncol.* 28: 3605–3610.
76. Van Cutsem E., Vervenne W.L., Bannouna J. i wsp. Phase III trial of bevacizumab in combination with gemcitabine and erlotinib in patients with metastatic pancreatic cancer. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27: 2231–2237.
77. Lee C.S., Pirdas A. Epidermal growth factor receptor immunoreactivity in gallbladder and extrahepatic biliary tract tumours. *Pathol. Res. Pract.* 1995; 191: 1087–1091.
78. Leone F., Cavalloni G., Pignochino Y. i wsp. Somatic mutations of epidermal growth factor receptor in bile duct and gallbladder carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12: 1680–1685.
79. Gwak G.Y., Yoon J.H., Shin C.M. i wsp. Detection of response-predicting mutations in the kinase domain of the epidermal growth factor receptor gene in cholangiocarcinomas. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2005; 131: 649–652.

80. Paez J.G., Janne P.A., Lee J.C. i wsp. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004; 304: 1497–1500.
81. Lynch T.J., Bell D.W., Sordella R. i wsp. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350: 2129–2139.
82. Nakazawa K., Dobashi Y., Suzuki S. i wsp. Amplification and overexpression of c-erbB-2, epidermal growth factor receptor, and c-met in biliary tract cancers. *J. Pathol.* 2005; 206: 356–365.
83. Tannapfel A., Benicke M., Katalinic A. i wsp. Frequency of p16(INK4A) alterations and K-ras mutations in intrahepatic cholangiocarcinoma of the liver. *Gut* 2000; 47: 721–727.
84. Tannapfel A., Sommerer F., Benicke M. i wsp. Mutations of the BRAF gene in cholangiocarcinoma but not in hepatocellular carcinoma. *Gut* 2003; 52: 706–712.
85. Ohashi K., Nakajima Y., Kanehiro H. i wsp. Ki-ras mutations and p53 protein expressions in intrahepatic cholangiocarcinomas: relation to gross tumor morphology. *Gastroenterology* 1995; 109: 1612–1617.
86. Hanada K., Tsuchida A., Iwao T. i wsp. Gene mutations of K-ras in gallbladder mucosae and gallbladder carcinoma with an anomalous junction of the pancreaticobiliary duct. *Am. J. Gastroenterol.* 1999; 94: 1638–1642.
87. Kim Y.T., Kim J., Jang Y.H. i wsp. Genetic alterations in gallbladder adenoma, dysplasia and carcinoma. *Cancer Lett.* 2001; 169: 59–68.
88. Watanabe H., Date K., Itoi T. i wsp. Histological and genetic changes in malignant transformation of gallbladder adenoma. *Ann. Oncol.* 1999; 10 (supl. 4): 136–139.
89. Rashid A., Gao Y.T., Bhakta S. i wsp. Beta-catenin mutations in biliary tract cancers: a population-based study in China. *Cancer Res.* 2001; 61: 3406–3409.
90. Suto T., Habano W., Sugai T. i wsp. Aberrations of the K-ras, p53, and APC genes in extrahepatic bile duct cancer. *J. Surg. Oncol.* 2000; 73: 158–163.
91. Saetta A.A., Papanastasiou P., Michalopoulos N.V. i wsp. Mutational analysis of BRAF in gallbladder carcinomas in association with K-ras and p53 mutations and microsatellite instability. *Virchows Arch.* 2004; 445: 179–182.
92. Goldenberg D., Rosenbaum E., Argani P. i wsp. The V599E BRAF mutation is uncommon in biliary tract cancers. *Mod. Pathol.* 2004; 17: 1386–1391.
93. Gruenberger B., Schueller J., Heubrandtner U. i wsp. Cetuximab, gemcitabine, and oxaliplatin in patients with unresectable advanced or metastatic biliary tract cancer: a phase 2 study. *Lancet Oncol.* 11: 1142–1148.
94. Malka D., Trarbach T., Fartoux L. i wsp. A multicenter, randomized phase II trial of gemcitabine and oxaliplatin (GEMOX) alone or in combination with biweekly cetuximab in the first-line treatment of advanced biliary cancer: Interim analysis of the BINGO trial. *J. Clin. Oncol. (ASCO Annual Meeting Proceedings)* 2009; 27: abstr. 4520.
95. Philip P.A., Mahoney M.R., Allmer C. i wsp. Phase II study of erlotinib in patients with advanced biliary cancer. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 3069–3074.
96. Ramanathan R.K., Belani C.P., Singh D.A. i wsp. A phase II study of lapatinib in patients with advanced biliary tree and hepatocellular cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2009; 64: 777–783.
97. Bekaii-Saab T., Phelps M., Li X. i wsp. A Multi-institutional Study of AZD6244 (ARRY-142886) in Patients with Advanced Biliary Cancers. *AACR Meeting Abstracts* 2009; abstr. LB129.
98. Harada K., Shiota G., Kawasaki H. Transforming growth factor- $\alpha$  and epidermal growth factor receptor in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *Liver* 1999; 19: 318–325.
99. Ito Y., Takeda T., Sakon M. i wsp. Expression and clinical significance of erb-B receptor family in hepatocellular carcinoma. *Br. J. Cancer* 2001; 84: 1377–1383.
100. Hisaka T., Yano H., Haramaki M. i wsp. Expressions of epidermal growth factor family and its receptor in hepatocellular carcinoma cell lines: relationship to cell proliferation. *Int. J. Oncol.* 1999; 14: 453–460.
101. Fausto N. Growth factors in liver development, regeneration and carcinogenesis. *Prog. Growth Factor Res.* 1991; 3: 219–234.
102. Yeh Y.C., Tsai J.F., Chuang L.Y. i wsp. Elevation of transforming growth factor  $\alpha$  and its relationship to the epidermal growth factor and  $\alpha$ -fetoprotein levels in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer Res.* 1987; 47: 896–901.
103. Ito Y., Sasaki Y., Horimoto M. i wsp. Activation of mitogen-activated protein kinases/extracellular signal-regulated kinases in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1998; 27: 951–958.
104. Huynh H., Nguyen T.T., Chow K.H. i wsp. Over-expression of the mitogen-activated protein kinase (MAPK) kinase (MEK)-MAPK in hepatocellular carcinoma: its role in tumor progression and apoptosis. *BMC Gastroenterol.* 2003; 3: 19.
105. Wilhelm S.M., Carter C., Tang L. i wsp. BAY 43-9006 exhibits broad spectrum oral antitumor activity and targets the RAF/MEK/ERK pathway and receptor tyrosine kinases involved in tumor progression and angiogenesis. *Cancer Res.* 2004; 64: 7099–7109.
106. Llovet J.M., Ricci S., Mazzaferro V. i wsp. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N. Engl. J. Med.* 2008; 359: 378–390.
107. Cheng A.L., Kang Y.K., Chen Z. i wsp. Efficacy and safety of sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: a phase III randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Oncol.* 2009; 10: 25–34.
108. Abou-Alfa G.K., Amadori D., Santoro A. i wsp. Safety and efficacy of sorafenib in patients with hepatocellular carcinoma (HCC) and Child-Pugh A versus B cirrhosis. *Gastrointest. Cancer Res.* 4: 40–44.
109. Thomas M.B., Morris J.S., Chadha R. i wsp. Phase II trial of the combination of bevacizumab and erlotinib in patients who have advanced hepatocellular carcinoma. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27: 843–850.
110. Abou-Alfa G.K., Schwartz L., Ricci S. i wsp. Phase II study of sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 4293–4300.
111. Abou-Alfa G.K., Johnson P., Knox J.J. i wsp. Doxorubicin plus sorafenib vs. doxorubicin alone in patients with advanced hepatocellular carcinoma: a randomized trial. *JAMA* 304: 2154–2160.
112. Thomas M.B., Chadha R., Glover K. i wsp. Phase 2 study of erlotinib in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2007; 110: 1059–1067.
113. Philip P.A., Mahoney M.R., Allmer C. i wsp. Phase II study of Erlotinib (OSI-774) in patients with advanced hepatocellular cancer. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 6657–6663.
114. O'Dwyer P.J., Giantonio B.J., Levy D.E., Kauh J.S., Fitzgerald D.B., Benson A.B. Gefitinib in advanced unresectable hepatocellular carcinoma: results from the Eastern Cooperative Oncology Group's Study E1203. *J. Clin. Oncol. Suppl. (ASCO Annual Meeting Proceedings)* 2006; 24: abstr. 4143.
115. Bekaii-Saab T., Markowitz J., Prescott N. i wsp. A multi-institutional phase II study of the efficacy and tolerability of lapatinib in patients with advanced hepatocellular carcinomas. *Clin. Cancer Res.* 2009; 15: 5895–5901.
116. Zhu A.X., Stuart K., Blaszkowsky L.S. i wsp. Phase 2 study of cetuximab in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2007; 110: 581–589.
117. Grünwald V., Wilkens L., Gebel M. i wsp. A phase II open-label study of cetuximab in unresectable hepatocellular carcinoma: final results. *J. Clin. Oncol. Suppl. (ASCO Annual Meeting Proceedings)* 2007; 25: abstr. 4598.
118. Asnacios A., Fartoux L., Romano O. i wsp. Gemcitabine plus oxaliplatin (GEMOX) combined with cetuximab in patients with progressive advanced stage hepatocellular carcinoma: results of a multicenter phase 2 study. *Cancer* 2008; 112: 2733–2739.
119. Faivre S., Raymond E., Boucher E. i wsp. Safety and efficacy of sunitinib in patients with advanced hepatocellular carcinoma: an open-label, multicentre, phase II study. *Lancet Oncol.* 2009; 10: 794–800.
120. Zhu A.X., Sahani D.V., Duda D.G. i wsp. Efficacy, safety, and potential biomarkers of sunitinib monotherapy in advanced hepatocellular carcinoma: a phase II study. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27: 3027–3035.