

Marek Z. Wojtukiewicz, Ewa Sierko

Klinika Onkologii Akademii Medycznej w Białymstoku

Leczenie celowane u chorych na raka jelita grubego

Targeted therapy of colorectal cancer patients

Adres do korespondencji:

prof. dr hab. med. Marek Z. Wojtukiewicz
Klinika Onkologii Akademii Medycznej
Białostockie Centrum Onkologii
ul. Oгородowa 12, 15-027 Białystok
Tel./faks: 0 85 664 67 34
e-mail: m.wojtukiewicz@neostrada.pl

STRESZCZENIE

Rak jelita grubego jest jednym z najczęściej występujących nowotworów u ludzi. Wdrożenie w ostatnim czasie leków ukierunkowanych na cele molekularne przyczyniło się do poprawy wyników leczenia chorych na ten nowotwór. Dotychczas najczęściej testuje się preparaty interferujące z procesem angiogenezy i aktywnością receptora czynnika wzrostu naskórka (EGFR). W pracy omówiono podstawy biologiczne i wyniki badań klinicznych nad skutecznością przeciwciał monoklonalnych przeciwko najważniejszemu czynnikowi proangiogennemu — VEGF, jak też przeciwko EGFR. Stosuje się je w leczeniu chorych na raka jelita grubego w IV stadium choroby nowotworowej. Zwrócono również uwagę na inne możliwości hamowania angiogenezy (m.in. interferowanie z aktywnością receptora dla VEGF), jak też na zasadność i skuteczność kojarzenia różnych form leczenia celowanego (np. ukierunkowanego na VEGF i EGFR) oraz połączenia leczenia celowanego z konwencjonalną chemioterapią i radioterapią. Omówiono także aktualne kierunki badań nad zastosowaniem tego nowatorskiego sposobu postępowania u chorych na raka jelita grubego, zarówno w leczeniu neoadiuwantowym i uzupełniającym, jak też u pacjentów, u których doszło do uogólnienia procesu nowotworowego.

Słowa kluczowe: rak jelita grubego, leczenie celowane, bevacizumab, cetuksymab

ABSTRACT

Colorectal cancer is one of the most frequently diagnosed malignant neoplasms in humans. Recently, introduction of targeted therapy resulted in improved results of the treatment in the group of cancer patients. To date, agents interfering with angiogenesis and with the activity of epidermal growth factor receptor (EGFR) are the most often tested in clinical trials. In the article biological basis of such therapy and results of clinical trials on the efficacy of monoclonal antibodies (mAbs) directed to the most important proangiogenic factor — VEGF and mAbs against EGFR are summarized. As for now, the mAbs are already approved for the treatment of advanced colorectal cancer patients. Other options of new vessel formation inhibition (eg. interfering with activity of VEGF receptor), a rationale for and efficacy of various forms of targeted therapy combination (eg. inhibiting of both VEGF and EGFR activity) as well as combination of targeted treatment with cytotoxic therapy and/or radiation therapy are also discussed. Ongoing clinical trials on the novel forms of treatment of colorectal cancer patients in adjuvant and palliative settings are presented in the article.

Key words: colorectal cancer, targeted therapy, bevacizumab, cetuximab

Wstęp

W przeciągu ostatniego ćwierćwiecza osiągnięto znaczący postęp w leczeniu chorych na raka jelita grubego, jednak odsetek trwałych wyleczeń chorych na ten nowotwór jest ciągle niezadowalający. Wynosi on w Polsce około 30%, natomiast w krajach Europy Zachodniej — około 50%. Wdrożenie leczenia chemicznego, a szczególnie zastosowanie nowych cytostatyków (m.in. oksaliplatyny, irynotekanu, kapecytabiny) przyczyniło się do wydłużenia przeżycia całkowitego chorych w IV stadium zaawansowania tej choroby (ponad 3-krotne w porównaniu z najlepszym leczeniem objawowym), jednakże nadal nie przekracza ono 2 lat [1]. Duże nadzieje na poprawę wyników leczenia chorych na ten nowotwór wiąże się z wdrożeniem leczenia ukierunkowanego na cele molekularne.

Jednym z podstawowych sposobów postępowania u chorych na raka jelita grubego jest chemioterapia. Wyniki badań klinicznych jednoznacznie wskazują, iż zastosowanie programów chemioterapii opartej na 3 cytostatykach przynosi większe korzyści niż podawanie 2 chemioterapeutyków [1]. Należy pamiętać, iż wiąże się to z znaczną toksycznością leczenia, wpływającą na obniżenie jakości życia chorego.

Leczenie chemiczne wiąże się z licznymi utrudnieniami. Komórki nowotworowe charakteryzują się szybką proliferacją. Guz nowotworowy nie jest zaopatrzony w odpowiednią liczbę naczyń krwionośnych, zaś te, które znajdują się w obrębie nowotworu, są rozmieszczone nierównomiernie, a przepływ krwi przez te naczynia jest nieprawidłowy. Ponadto w guzie nowotworowym istnieje wzmożone ciśnienie śródtkankowe wynikające ze wzrostu przepuszczalności naczyń patologicznych. Powyższe wymienione warunki prowadzą do niedostatecznego odżywienia nowotworu, niedotlenienia komórek nowotworowych, a także utrudnienia przenikania cytostatyków do tkanek. Ogranicza to skuteczność chemioterapii stosowanej w leczeniu chorych na raka jelita grubego. Niedotlenienie komórek guza nowotworowego wiąże się również z mniejszą wrażliwością nowotworu na radioterapię. Ponadto wskutek stosowania chemioterapii często dochodzi do wystąpienia niekorzystnego klinicznie zjawiska wielolekowej chemiooporności komórek nowotworowych na zastosowane cytostatyki. Jest to powód poszukiwania skuteczniejszych metod leczenia chorych na raka jelita grubego. Wśród nowych koncepcji terapii chorych na ten nowotwór na szczególną uwagę zasługuje tak zwane leczenie celowane. Jest ono ukierunkowane między innymi na interferowanie z procesem powstawania nowych naczyń krwionośnych w obrębie nowotworu oraz hamowanie różnych czynników i receptorów odpowiedzialnych za pobudzenie wewnątrzkomórkowych szlaków przekazywania odpowiedzialnych za proliferację, migrację i inwazyjność komórek nowotworowych.

Angiogeneza

Wiadomo, że większość nowotworów nie może wzrosnąć powyżej 2–3 mm³ bez wytworzenia sieci nowych drobnych naczyń krwionośnych (angiogenezy) [2–4]. Nowotwory mogą wykorzystywać też część naczyń gospodarza [5] bądź stymulować wglabianie, czyli „rozdzielanie” dużych naczyń krwionośnych na mniejsze [5]. Ponadto nowopowstające naczynia wychwytyują krążące we krwi komórki śródbłonka, różnicujące się z komórek macierzystych szpiku kostnego [5]. Komórki nowotworowe mogą również tworzyć sieć struktur naczyńopodobnych, którymi krew jest dostarczana do guza nowotworowego (*vascular mimicry*) [5].

Rak jelita grubego charakteryzuje się większą gęstością naczyń krwionośnych w porównaniu z prawidłową tkanką tego narządu. U chorych na raka jelita grubego w uogólnionym stadium klinicznym choroby stwierdza się o 70% więcej naczyń krwionośnych w guzie nowotworowym niż w przypadku choroby o zaawansowaniu miejscowym [7, 8]. W początkowej fazie choroby rak jelita grubego rozwija się jako mała, nieunaczyniona zmiana, która pozostaje w tak zwanym stanie spoczynku (*dormancy*). Dopiero powstanie nowych naczyń krwionośnych umożliwia dalszy wzrost guza nowotworowego [3, 5], a także sprzyja przedostawaniu się komórek nowotworowych do krwiobiegu, a w konsekwencji — tworzeniu ognisk nowotworu w innych narządach. Nowotworowe ogniska przerzutowe raka jelita grubego mogą również pozostawać przez długi czas w stanie tak zwanego spoczynku. Nie należy jednak utożsamiać tego stanu z brakiem aktywności nowotworu. Komórki nowotworowe stale ulegają bowiem podziałom, ale ich liczba jest równoważona przez ubytek komórek w wyniku apoptozy [4, 5]. Pobudzenie angiogenezy w nowotworowych ogniskach przerzutowych jest warunkiem niezbędnym do ich wzrostu [5, 8].

Komórki śródbłonka naczyń krwionośnych, w przeciwieństwie do komórek nowotworowych, są komórkami prawidłowymi, a więc stanowią stabilną genetycznie frakcję komórek obecnych w obrębie nowotworu. Leki wpływające na funkcję komórek śródbłonka bez przeszkód docierają do nich drogą naczyń krwionośnych. Stąd też komórki śródbłonka stanowią nowy punkt uchwytu (tzw. *target*) leczenia przeciwnowotworowego. Pozbawienie komórek nowotworowych tlenu i związków odżywczych oraz upośledzenie usuwania produktów przemiany materii z rozwijającego się nowotworu może wpłynąć na zahamowanie wzrostu guza nowotworowego. Warto pamiętać, iż komórki śródbłonka nowych naczyń krwionośnych wydzielają różne cytokiny i białka apoptotyczne, co w sposób parakryny moduluje wzrost nowotworu. Dlatego też opcją postępowania terapeutycznego u chorych na raka jelita grubego jest leczenie polegające na interferowaniu z mechanizmami prowadzącymi

do powstawania nowych naczyń krwionośnych w obrębie guza nowotworowego [5, 6].

Jak wspomniano wcześniej, nowe naczynia w guzie nowotworowym, w przeciwieństwie do naczyń prawidłowych, nie są połączone ze sobą w postaci hierarchicznie zbudowanej sieci, w której z większych naczyń powstają mniejsze. Mają różną, zmieniającą się średnicę, są poskręcane. Istnieje wiele połączeń tętniczo-żylnych. Przepływ krwi w naczyniach zaopatrujących guz nowotworowy jest chaotyczny i turbulentny [5, 6]. W badaniach przedklinicznych przeprowadzonych w warunkach *in vivo* wykazano, że zastosowanie leków antyangiogenych [przeciwciał monoklonalnych przeciwko czynnikowi wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF, *vascular endothelial growth factor*)] prowadzi do zmniejszenia ciśnienia śródmiąższowego w tkankach oraz normalizacji układu sieci naczyń krwionośnych zaopatrujących guz nowotworowy z chaotycznego na hierarchiczny. W konsekwencji obserwowano lepszą penetrację irynotekanu do komórek nowotworu oraz zwiększoną perfuzję w obrębie guza [9]. Spostrzeżenia z badań eksperymentalnych potwierdzono w kilku badaniach klinicznych [10–12]. Interesujące jest, iż leczenie antyangiogenne różni się od tradycyjnej chemioterapii tym, że charakteryzuje się działaniem cytostatycznym, a nie cytotoksycznym. Zazwyczaj dochodzi do zahamowania wzrostu nowotworu, a nie do jego regresji [6].

Do powstawania nowych naczyń krwionośnych w raku jelita grubego dochodzi wskutek przesunięcia równowagi pomiędzy aktywnością czynników stymulujących a hamujących ten proces na korzyść aktywatorów tego procesu [3]. Za pobudzenie powstawania nowych naczyń krwionośnych odpowiedzialne są między innymi: aktywacja onkogenów, mutacje genów supresorowych prowadzące do zaburzenia funkcji kodowanych przez nie białek, niedotlenienie tkanek, niskie pH cytokiny i czynniki wzrostu. Czynniki pobudzającymi proces angiogenezy są między innymi: czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF, *vascular endothelial growth factor*), angiogenina, czynnik wzrostu komórek śródbłonna pochodzący z płytek (PD-EGF, *platelet-derived endothelial growth factor*), czynnik wzrostu pochodzenia płytkowego (PDGF, *platelet-derived growth factor*), czynniki wzrostu fibroblastów: kwasowy (aFGF, *acidic fibroblast growth factor*) i zasadowy (bFGF, *basal fibroblast growth factor*), czynnik martwicy nowotworów α (TNF- α , *tumor necrosis growth factor alpha*), transformujący czynnik wzrostu α (TGF- α , *transforming growth factor alpha*) oraz białka z rodziny angiopoetyn (Ang, *angiopoietin*). Do inhibitorów angiogenezy należą zaś: trombospondyny 1 i 2 (TSP-1, TSP-2), endostatyna, angiostatyna i wazostatyna [2–5].

Głównym i najlepiej jak dotąd poznanym czynnikiem proangiogenym jest czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF). Zidentyfikowano 4 izoformy tego czyn-

nika będące produktem alternatywnego *splicingu* genu kodującego syntezę VEGF. Ich cząsteczki zbudowane są z różnej liczby aminokwasów, czyli 121, 165, 189, 206 [2]. Pobudzenie syntezy i ekspresji VEGF zależy od tak zwanych czynników wewnętrznych i zewnętrznych. Do pierwszej grupy czynników należą między innymi mutacja genu p53 i aktywacja onkogenów [2, 4]. Podstawowym czynnikiem zewnętrznym, nasilającym syntezę VEGF, jest niedotlenienie [2–4]. Pierwotnie VEGF został nazwany czynnikiem przepuszczalności naczyń (VPF, *vascular permeability factor*), ponieważ zwiększa przepuszczalność naczyń krwionośnych około 50 tysięcy razy silniej niż histamina. Czynnikiem ten jest silnym mitogenem dla komórek śródbłonna naczyń krwionośnych. Umożliwia on przechodzenie białek osocza krwi do środowiska zewnątrznaczyniowego, co prowadzi do zwiększenia ciśnienia śródtkankowego w guzie nowotworowym. W badaniach przedklinicznych zaobserwowano, że VEGF zwiększa ekspresję składników układu fibrynolizy w komórkach śródbłonna, przez co wpływa na procesy proteolityczne zachodzące podczas angiogenezy (w tym proteolizę błony podstawnej naczyń i proteolizę składników macierzy zewnątrzkomórkowej) [2, 3, 5]. Indukuje on także ekspresję czynnika tkankowego (TF, *tissue factor*) w komórkach śródbłonna i monocytach, aktywując krzepnięcie krwi, co pobudza angiogenezę i wzrost nowotworu [5]. Ponadto, VEGF hamuje przekształcanie się makrofagów w komórki dendrytyczne, co prowadzi do osłabienia odpowiedzi immunologicznej na rozwijający się nowotwór. Czynnikiem wzrostu śródbłonna naczyń wywiera swoje działanie poprzez połączenie się z receptorami o aktywności kinazy tyrozynowej: VEGFR-1/Flt-1 oraz VEGFR-2/KDR/Flk-1 [2, 4, 6]. W procesie angiogenezy kluczową rolę odgrywa VEGFR-2. Jego połączenie z ligandem — VEGF zapoczątkowuje kaskadę przekazywania wewnątrzkomórkowego odpowiedzialnego za większość efektów biologicznych VEGF [2]. Receptor VEGFR-1 pełni prawdopodobnie funkcję modulującą aktywność VEGFR-2. Zidentyfikowano również koreceptor dla VEGF, czyli neuropilinę 1. Połączenie VEGF z neuropiliną 1 nasila aktywność VEGF zależną od połączenia się tego czynnika z VEGFR-2 [2].

Mając na uwadze przedstawione powyżej w wielkim uproszczeniu podstawy biologiczne angiogenezy, nie dziwi fakt, że VEGF stał się głównym celem terapii antyangiogennej. Istnieje wiele możliwości interferowania z aktywnością VEGF, a mianowicie zastosowanie: przeciwciał przeciwko VEGF (np. bewacizumab); przeciwciał skierowanych przeciwko receptorom VEGF, czyli VEGFR-2; rozpuszczalnych receptorów dla VEGF — VEGF-Trap, które na zasadzie pułapki „wyłapują” wolne cząsteczki VEGF; inhibitorów kinazy tyrozynowej VEGFR oraz rybozymów, które rozszczepiają mRNA kodujące syntezę VEGFR [7, 8, 10].

Przeciwciała przeciwko VEGF

Dotychczas najlepiej poznanym przeciwciałem skierowanym przeciwko VEGF jest bewacizumab. Jest to przeciwciało humanizowane zawierające w 93% swojej struktury fragment ludzki, zaś w 7% — mysz. Cząsteczka bewacizumabu wykazuje zdolność do inaktywacji wszystkich izoform VEGF-A. Poprzez blokowanie aktywności VEGF przeciwciało to zapobiega aktywacji przekąźnictwa wewnątrzkomórkowego zależnego od działania VEGF. W badaniach przedklinicznych prowadzonych na modelach mysich wykazano, że zastosowanie bewacizumabu obniża aktywność VEGF, hamuje wzrost guza nowotworowego i prowadzi do znacznego zmniejszenia liczby i wielkości przerzutów w wątrobie [11]. Udokumentowano również synergistyczne działanie przeciwciała przeciwko VEGF i chemioterapii [13].

W randomizowanym badaniu II fazy obejmującym grupę 209 uprzednio nieleczonych cytostatykami chorych na raka okrężnicy i odbytnicy w IV stopniu zaawansowania klinicznego choroby wykazano, że w grupie pacjentów, którzy otrzymywali bewacizumab w dawce 5 mg/kg w połączeniu ze standardowo stosowaną chemioterapią opartą na programie 5-fluorouracyl (5-Fu) i leukoworyna (LV) nastąpiła istotna poprawa odpowiedzi na leczenie w porównaniu z chorymi leczonymi wyłącznie chemioterapią (RR: 26% vs. 25,2%). Odnotowano także wydłużenie czasu do progresji choroby (79,2 vs. 6,8 miesiąca) i przeżycia całkowitego (16,1 vs. 12,9 miesiąca) [12]. Spektakularne wyniki randomizowanego badania III fazy przeprowadzonego u ponad 800 chorych na raka jelita grubego w stadium uogólnienia, u których w leczeniu I rzutu testowano skuteczność bewacizumabu (5 mg/kg co 2 tygodnie) w skojarzeniu z programem chemioterapii składającym się z irynotekanu, 5-Fu (w bolusie) i LV (FOLFIRI) w odniesieniu do samej chemioterapii FOLFIRI, po raz pierwszy w historii onkologii klinicznej udokumentowały efektywność leczenia antyangiogenego [14, 15]. Mianowicie, u chorych poddanych leczeniu bewacizumabem i chemioterapią (FOLFIRI) stwierdzono nie tylko istotną poprawę odpowiedzi na leczenie w porównaniu z wynikami uzyskanymi u pacjentów leczonych wyłącznie cytostatykami (45% vs. 35%, $p = 0,0029$), ale wykazano też istotne wydłużenie całkowitego przeżycia (o 30%, czyli 20,3 vs. 15,6 miesiąca, $p = 0,00003$) oraz przeżycia wolnego od choroby o 70%. Agencja ds. Żywności i Leków (FDA, *Federal Drug Administration*) na podstawie wyników powyższych badań zaakceptowała skojarzenie bewacizumabu i chemioterapii w leczeniu I rzutu chorych na raka jelita grubego w IV stopniu zaawansowania klinicznego choroby.

Częstym problemem w praktyce klinicznej jest niezadawalający stan ogólny chorych na raka jelita grubego (nie zawsze wynikający wyłącznie z zaawansowania choroby nowotworowej), co stanowi przeciwwskazanie do

zastosowania irynotekanu. W badaniu Hurwitza [14, 15] wykazano przewagę skojarzenia bewacizumabu z chemioterapią opartą jedynie na 5-Fu i LV (bez irynotekanu) nad efektem klinicznym samej chemioterapii Fu/LV. Również w randomizowanym badaniu II fazy przeprowadzonym wśród chorych na zaawansowanego raka jelita grubego, których nie zakwalifikowano do podania irynotekanu, wykazano, że dodanie bewacizumabu (5 mg/kg co 2 tygodnie) do chemioterapii opartej jedynie na 5-Fu/LV (5-Fu 600 mg/m²/tydzień, LV 500 mg/m²/tydzień, przez 6 tygodni, w rytmie co 8 tygodni) prowadzi do poprawy mediany przeżycia (16,6 vs. 12,9 miesiąca, $p = 0,16$) oraz istotnie wydłużonego czasu do progresji choroby (TTP, *time to progression*) (9,2 vs. 5,5 miesiąca, $p = 0,0002$) [16]. Również łączna analiza trzech badań przeprowadzona przez Kabbnavara [17] wykazała istotne wydłużenie całkowitego czasu przeżycia (17,9 vs. 14,6 miesiąca) oraz przeżycia wolnego od progresji choroby nowotworowej (8,8 vs. 5,6 miesiąca), a także zwiększenie odpowiedzi na leczenie (34,1 vs. 24,5%) na korzyść skojarzenia tego przeciwciała monoklonalnego z 5-FU/LV. Wydaje się, że połączenie bewacizumabu z chemioterapią opartą jedynie na 5-FU/LV jest suboptymalne i tego sposobu leczenia nie powinno się stosować u większości chorych [15], jednakże można go rozważyć u chorych, których nie można zakwalifikować do wielolekowej chemioterapii (tj. do FOLFOX, czy FOLFIRI).

Skuteczność bewacizumabu badano również w II rzucie leczenia (*salvage therapy*) chorych na raka jelita grubego w stadium uogólnienia procesu nowotworowego. U pacjentów, u których doszło do progresji choroby po I rzucie leczenia z zastosowaniem oksaliplatyny lub irynotekanu, zastosowanie w II rzucie leczenia chemioterapii opartej na 5-FU/LV skojarzonej z bewacizumabem nie przyniosło istotnej poprawy wyników leczenia (badanie II fazy — NCI — *Treatment Referral Center Trial* TRC-0301) [18]. Jednakże w randomizowanym wielośrodkowym badaniu III fazy — E3200 przeprowadzonym przez *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG) obejmującym 829 pacjentów wykazano, że u chorych opornych na irynotekanu (podawany w leczeniu adiuwantowym bądź w I rzucie leczenia choroby przerzutowej), u których doszło do progresji choroby w przeciągu 6 miesięcy od zakończenia leczenia, zastosowanie wysokiej dawki bewacizumabu (*high dose therapy* — 10 mg/kg co 2 tygodnie) w połączeniu z chemioterapią FOLFOX4 w porównaniu z zastosowaniem wyłącznie wymienionej chemioterapii istotnie zwiększa odsetek całkowitej odpowiedzi na zastosowane leczenie przeciwnowotworowe (22,7% vs. 8,6%, $p < 0,0001$), wydłuża przeżycie całkowite (12,9 vs. 10,8 miesiąca, $p = 0,0011$) oraz czas do progresji choroby (7,3 vs. 4,7 miesiąca, $p < 0,0001$) [19]. Wyniki powyższego badania stały się podstawą do uznania przez FDA leczenia z zastosowaniem skojarzonego be-

wacizumabu w wysokich dawkach i chemioterapii FOLFOX4 jako leczenia II rzutu w tej grupie chorych [20]. Pytaniami bez odpowiedzi wciąż pozostają: czy i ewentualnie przez jak długi okres czasu należy kontynuować podawanie bewacizumabu (np. w monoterapii) po uzyskaniu całkowitej odpowiedzi na leczenie (tzw. *maintenance therapy* — terapia podtrzymująca)? Czy leczenie także warto utrzymywać w sytuacji, gdy dochodzi do progresji choroby? Nie wiadomo również, czy bewacizumab powinno się pozostawić również w II rzucie leczenia u chorych, którzy otrzymywali ten lek w I rzucie terapii raka jelita grubego. Mając na uwadze najbardziej prawdopodobny mechanizm działania bewacizumabu stosowanego z chemioterapią, a mianowicie fakt zmniejszenia ciśnienia śródtkankowego w obrębie guza nowotworowego i ułatwienie penetracji cytostatyków do tkanek [9], można domniemywać, że do progresji choroby dochodzi wskutek wytworzenia się oporności na stosowane cytostatyki, nie zaś na bewacizumab. Kontynuując tę myśl, można przypuszczać, że bewacizumab będzie skuteczny również w połączeniu z kolejnym rzutem chemioterapii. Jednakże w trakcie leczenia antyangiogenne może także dojść do rozwoju lekooporności [6]. Komórki nowotworowe w wyniku kolejnych mutacji materiału genetycznego mogą bowiem uniezależnić się od jednego, głównego czynnika pobudzającego angiogenezę. Wyniki badań doświadczalnych wskazują, że we wczesnych etapach rozwoju nowotworu komórki nowotworowe syntetyzują jeden czynnik proangiogeny, głównie VEGF, zaś w późniejszych etapach rozwoju raka są one w stanie syntetyzować wiele innych czynników wzrostu naczyń krwionośnych, zaś rola VEGF ulega marginalizacji. Ponadto, część komórek nowotworowych może uniezależnić się od wytworzenia nowych naczyń krwionośnych, ponieważ wykorzystuje naczynia wcześniej już istniejące (wspomniane wcześniej zjawisko koopcji), czy też jest zaopatrywana przez krew dostającą się przez kanały utworzone przez komórki nowotworowe (*vascular mimicry*) [6]. Coraz częściej podkreśla się także potrzebę wielokierunkowego hamowania procesu angiogenezę w celu poprawy wyników leczenia chorych na nowotwory [6, 7]. Istnieją dane kliniczne sugerujące, że kontynuacja stosowania leczenia celowanego po zakończeniu chemioterapii wydłuża czas do progresji, a zatem może przedłużyć przeżycie całkowite [17, 21, 22]. Oczywiście jest, że bezpośredniej odpowiedzi na postawione wcześniej pytania może udzielić tylko odpowiednio skonstruowane badanie kliniczne. Ocena skuteczności terapii z zastosowaniem bewacizumabu kontynuowanej po progresji choroby jest przedmiotem badań *Intergroup Avastin Continuation Trial*. Mianowicie pacjenci, u których doszło do progresji choroby w trakcie leczenia chemioterapią według programu FOLFOX w skojarzeniu z bewacizumabem lub według schematu FOLFOX, a następnie 5-fluorouracyl/leukoworyna sko-

jarzonym z bewacizumabem, są poddawani kolejnemu rzutowi chemioterapii jednocześnie ze stosowaniem bewacizumabu lub cetuksymabu [23].

Opierając się na wynikach badań TRC-0301 i E3200, należy podkreślić brak efektywności bewacizumabu stosowanego jako *salvage therapy* w monoterapii, bowiem taki sposób postępowania skutkował jedynie znikomym odsetkiem odpowiedzi na leczenie i skróconym przeżyciem całkowitym w porównaniu ze stosowaniem tego leku antyangiogenne w połączeniu z chemioterapią [18, 19]. Warto nadmienić, że w tej sytuacji klinicznej ryzyko wystąpienia powikłań po zastosowaniu bewacizumabu (np. perforacji przewodu pokarmowego, zakrzepicy tętniczej) jest większe od spodziewanej odpowiedzi na leczenie.

Aktualnie trwają również badania nad rolą bewacizumabu w leczeniu uzupełniającym chorych na raka jelita grubego — porównuje się programy chemioterapii według schematu FOLFOX lub z użyciem kapecytabiny w skojarzeniu z bewacizumabem lub bez tego leku antyangiogenne (NSABP-C08, AVANT, UK QUASAR2, ECOG-E5202) [23, 24]. Ponadto ocenie poddaje się skuteczność 6-miesięcznego kontynuowania podawania bewacizumabu po zakończeniu leczenia uzupełniającego opartego na skojarzeniu chemioterapii FOLFOX6 z bewacizumabem (NSABP) [23]. Trwają także badania nad skutecznością skojarzenia zastosowania bewacizumabu i radioterapii przedoperacyjnej u chorych na raka odbytnicy. Wyniki badania I fazy są zachęcające w odniesieniu do tolerancji i odpowiedzi na leczenie [25]. Natomiast *National Cancer Institute* (NCI) rowadzi aktualnie badanie oceniające skuteczność podawania bewacizumabu w połączeniu z chemioterapią według programu FOLFOX w leczeniu adiuwantowym chorych na raka odbytnicy w II lub III stadium zaawansowania klinicznego, którzy uprzednio zostali poddani radiochemioterapii przedoperacyjnej (ECOG-E5204) [24].

Zastosowanie bewacizumabu w leczeniu chorych z pierwotnie nieoperacyjnymi przerzutami raka jelita grubego do wątroby może zwiększyć szanse na wykonanie resekcji chirurgicznej tych zmian. Aktualnie trwają badania nad efektywnością bewacizumabu i bezpieczeństwem jego stosowania w neoadiuwantowym i adiuwantowym leczeniu chorych poddanych zabiegowi chirurgicznemu z powodu obecności przerzutów w wątrobie [26–28].

Stosowanie bewacizumabu nie nasila zbyt toksyczności chemioterapii i jest dobrze tolerowane przez chorych. Wśród działań niepożądanych istotnie częściej niż w przypadku leczenia cytotoksycznego obserwuje się występowanie nadciśnienia tętniczego w stopniu G3, G4, białkomocz, powikłań krwotocznych, przy czym dolegliwości te można łatwo opanować w sposób farmakologiczny [14, 15, 19]. Zastosowanie bewacizumabu wiąże się z ryzykiem wystąpienia nietypowego dla chemio-

terapii powikłania, a mianowicie perforacji ściany przewodu pokarmowego [14, 15]. Na szczęście występuje ono jednak rzadko. U niektórych chorych obserwowano wydłużenie okresu gojenia ran pooperacyjnych w trakcie leczenia bewacizumabem. Należy przy tym pamiętać o podstawowych zasadach obowiązujących podczas leczenia bewacizumabem, czyli o rozpoczynaniu terapii tym przeciwciałem nie wcześniej niż 28 dni po zabiegu operacyjnym, po całkowitym zagojeniu się rany pooperacyjnej oraz o odpowiednio wczesnym odstawieniu leku przed zabiegiem chirurgicznym [28, 29]. Ma to szczególne znaczenie w odniesieniu do zastosowania tego leku antyangiogennego w okresie przedoperacyjnym (przedoperacyjna radiochemioterapia chorych na raka odbytnicy i neoadiuwantowe stosowanie bewacizumabu przed resekcją przerzutów w wątrobie). Dotychczas dostępne dane wskazują, że przy zachowaniu podstawowych środków ostrożności procedury chirurgiczne mogą być bezpiecznie wykonywane w powyższych przypadkach [25, 28]. Podczas leczenia skojarzonego bewacizumabem i cytostatykami znacznie częściej obserwuje się również występowanie powikłań zakrzepowo-zatorowych w stopniu G3 i G4 [14, 15]. Nie jest to zaskakujące, bowiem układ hemostazy pod względem umiejscowienia i działania jest ściśle powiązany z naczyniami krwionośnymi. Zaobserwowano wiele powiązań pomiędzy elementami układu hemostazy a czynnikami biorącymi udział w procesie angiogenezy [5, 30]. Pewne czynniki patologiczne prowadzą do uaktywnienia zarówno układu hemostazy, jak i mechanizmów proangiogennych, które mogą na siebie wzajemnie wpływać [5, 30].

Przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko receptorom dla VEGF (VEGFR)

Dotychczas zsyntetyzowano kilka przeciwciał, które blokują zewnątrzkomórkową domenę VEGFR, co w konsekwencji zapobiega indukcji przekazywania sygnału wewnątrzkomórkowego wywołanego przyłączeniem się VEGF do swego receptora. Jednym z tych przeciwciał jest chimerne przeciwciało monoklonalne IMC-1C11, które łączy się z VEGFR-2 [31]. Dotychczas brakuje danych na temat skuteczności tego przeciwciała w warunkach klinicznych. Pomimo że chorzy dobrze tolerują IMC-1C11, wykazano, że jego stosowanie indukuje powstanie odpowiedzi immunologicznej ze strony organizmu, czyli pojawienie się przeciwciał neutralizujących skierowanych przeciwko IMC-1C11 [31].

Inhibitory kinazy tyrozynowej VEGFR

Inhibitory kinazy tyrozynowej należą do związków drobnocząsteczkowych, wiążących się z fragmentem kinazy tyrozynowej cząsteczki VEGFR odpowiedzialnym za przyłączanie ATP. W konsekwencji prowadzi to do za-

blokowania przekazywania sygnału wewnątrzkomórkowego wywołanego aktywacją receptora VEGFR.

Inhibitory kinazy tyrozynowej I generacji — SU5416 i SU6668 — charakteryzuje niska selektywność, bowiem blokują one aktywność kinaz tyrozynowych wielu różnych receptorów. Wycofano je jednak z dalszych badań klinicznych ze względu na wykazywaną przez nie małą efektywność i/lub indukowanie działań niepożądanych, między innymi powikłań zakrzepowo-zatorowych [10, 32].

Vatalanib (PTK787/ZK) jest inhibitorem kinazy tyrozynowej receptorów VEGFR-1, -2, -3, PDGFR i c-KIT. Jest to silny lek stosowany doustnie. W badaniach eksperymentalnych wykazano, że zmniejsza on liczbę naczyń w guzie nowotworowym oraz rozszerza pozostałe naczynia. W badaniu I/II fazy przeprowadzonym u 35 chorych na raka jelita grubego w IV stopniu zaawansowania choroby poddanych leczeniu vatalanibem w połączeniu z chemioterapią FOLFOX4 uzyskano 1 odpowiedź całkowitą, 16 odpowiedzi częściowych i 14 odpowiedzi w postaci stabilizacji choroby. Obecnie trwają dwa randomizowane badania III fazy obejmujące chorych na raka jelita grubego w stadium rozsiewu ogólnoustrojowego: CONFIRM-1 i CONFIRM-2 [33, 34]. W pierwszym z nich 1168 chorych w stanie ogólnym 0–2 według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*), którzy nie otrzymali wcześniej leczenia cytostatycznego, zostało zrandomizowanych do dwóch ramion: leczenie vatalanibem w skojarzeniu z chemioterapią według programu FOLFOX4 *versus* samodzielna chemioterapia FOLFOX4. Drugie badanie obejmuje pacjentów z rozpoznaniem jak wyżej, u których doszło do progresji choroby w trakcie otrzymywania leczenia cytostatycznego według programu FOLFOX [33,34].

Przeciwciała monoklonalne: VEGF-Trap

VEGF-Trap jest rozpuszczalnym receptorem dla VEGF. Wychwytuje on krążący we krwi VEGF. VEGF-Trap jest utworzony w wyniku fuzji domen zewnątrzkomórkowych VEGFR-1 i VEGFR-2 oraz fragmentu Fc ludzkiego przeciwciała IgG1. Charakteryzuje się wysokim powinowactwem do VEGF, do którego przyłącza się i następnie go inaktywuje. Jest to lek podawany drogą podskórną. Dotychczas nie obserwowano pojawienia się przeciwciał anti-VEGF-Trap czy wystąpienia toksyczności w stopniu G3 ani G4 [7, 35].

Rybozomy

Rybozomy są syntetycznymi związkami, które rozszczepiają mRNA kodujące odpowiednie białka. W ten sposób zapobiegają powstaniu produktu białkowego kodowanego przez dany fragment mRNA. Angiozym jest rybozymem, który selektywnie rozszczepia mRNA odpowiedzialne za syntezę VEGFR-1. Jednak ze względu na

fakt, że dotychczas w pełni nie poznano roli tego receptora (prawdopodobnie funkcjonuje on jako koreceptor VEGFR-2, a jego aktywacja nie wiąże się z mitogennym ani chemotaktycznym wpływem VEGF na komórki śródbłonna naczyń krwionośnych), trudno przewidzieć wpływ preparatu Angiozyme na rozwój nowotworu. Jak dotąd badania II fazy przeprowadzone u chorych na raka jelita grubego nie wykazały wydłużenia czasu do progresji choroby w grupie pacjentów poddanych leczeniu preparatem Angiozyme w połączeniu z leczeniem cytostatycznym według programu FOLFIRI w stosunku do grupy chorych leczonych wyłącznie chemioterapią [36].

Inhibitory cyklooksygenazy 2 (COX-2)

W badaniach eksperymentalnych wykazano, że selektywne inhibitory cyklooksygenazy 2 (COX-2), wykazują, poza działaniem przeciwzapalnym i przeciwbólowym, aktywność antyangiogenną i hamują wzrost guza nowotworowego. Obecnie trwa duże randomizowane badanie III fazy oceniające skuteczność celecoxibu w połączeniu z chemioterapią I rzutu w leczeniu chorych na raka jelita grubego w IV stadium zaawansowania klinicznego choroby [37].

Talidomid

Talidomid wycofany przed wieloma latami z rynku farmaceutycznego ze względu na działanie teratogenne zyskał ponownie zainteresowanie wynikające z właściwości immunomodulacyjnych i antyangiogennych. Został on już zarejestrowany do leczenia chorych na szpiczaka mnogiego. Aktualnie trwa randomizowane badanie II fazy u chorych na raka jelita grubego, u których doszło do progresji choroby (wznowa miejscowa lub pojawienie się przerzutów odległych) po uprzednio wykonanym operacyjnym leczeniu radykalnym. Pacjenci ci poddawani są leczeniu talidomidem lub otrzymują placebo [7, 38].

Zastosowanie talidomidu w skojarzeniu z kapecytabiną doprowadziło do obniżenia u 34 chorych w uogólnionym stadium raka jelita grubego stężenia antygenu rakocembralnego (CEA, *carcinoembryonic antigen*) o ponad 50% we krwi u 17% chorych, podczas gdy u 38% chorych stwierdzono stabilizację choroby nowotworowej. U pacjentów tych średnie przeżycie bez progresji choroby wyniosło 2,6 miesiąca, zaś przeżycie całkowite — 7,1 miesiąca [38].

Receptor czynnika wzrostu naskórka (EGFR)

W komórkach nowotworowych 45–80% przypadków raka jelita grubego obserwuje się nadekspresję receptora dla czynnika wzrostu naskórka (EGFR, *endothelial growth factor receptor*), co koreluje z agresywnym przebiegiem choroby i złym rokowaniem [21]. Nadmier-

na ekspresja EGFR wiąże się bowiem w przypadku tego nowotworu z większym zaawansowaniem choroby, zajęciem węzłów chłonnych krezki oraz większą częstością występowania przerzutów w wątrobie [39, 40]. Nasilenie ekspresji EGFR jest silniejsze w komórkach nowotworowych niż w tkance prawidłowej tego narządu [41], a ponadto jest najsilniejsze w najgłębiej położonych warstwach tego nowotworu [40]. U chorych na raka jelita grubego, u których w więcej niż 50% komórek nowotworowych stwierdzono obecność EGFR, zaobserwowano krótsze przeżycie niż w przypadku mniej nasilonej ekspresji tego receptora ($p < 0,01$) [42].

Przebłonowy receptor EGFR (EGFR-1, HER) należy do rodziny receptorów naskórkowego czynnika wzrostu, w skład której wchodzi również receptory HER-2, HER-3 i HER-4 [43, 44]. Dotychczas zidentyfikowano cały szereg ligandów poszczególnych receptorów powyższej rodziny (z wyjątkiem HER-2, dla którego nie stwierdzono obecności liganda) [44]. Agonistami EGFR są między innymi: czynnik wzrostu naskórka (EGF, *endothelial growth factor*), TGF- α , amferegulina, β -celulina, epiregulina i białko związane z powierzchnią komórki (CRIPTO, *a cell surface-associated protein*) [43, 44]. Stężenia TGF- α i EGF oraz receptorów z rodziny EGFR są znacznie wyższe w obrębie raka jelita grubego niż w tkance prawidłowej [45]. Przyłączenie ligandu do zewnętrzkomórkowej domeny EGFR doprowadza do homo- (jeżeli połączeniu ulegają identyczne receptory EGFR) lub heterodimeryzacji receptorów (gdy łączą się różne typy receptorów z rodziny EGFR, np. EGFR i HER-2) [46, 47]. Dimeryzacja receptorów prowadzi do autofosforylacji domeny wewnątrzkomórkowej receptora EGFR lub fosforylacji krzyżowej (*crossphosphorylation*), czyli aktywacji domeny wewnątrzkomórkowej innego receptora o podobnym do EGFR szlaku przekazywania wewnątrzkomórkowego [43, 47, 48]. Utworzeniu ulegają miejsca wiązania substratów kinazy tyrozynowej. Następnie dochodzi do mobilizacji przekaźników sygnału wewnątrzkomórkowego i aktywatorów transkrypcji, czego konsekwencją jest stymulacja kaskady przekazywania komórkowego i ekspresja genów zależna od ligandów EGFR [44, 47, 48]. Efektem aktywacji EGFR jest z jednej strony pobudzenie proliferacji komórek i ich dojrzewanie, z drugiej zaś — zahamowanie apoptozy, co sprzyja rozwojowi nowotworu [48]. Ponadto aktywność EGFR pobudza angiogenezę poprzez zwiększenie syntezy czynników stymulujących ten proces (VEGF, bFGF, TGF- α , IL-8) [49, 50]. Sprzyja również powstawaniu przerzutów odległych nowotworu, między innymi poprzez pobudzenie migracji komórek [49, 50]. Warto podkreślić, iż EGFR może łączyć się z wieloma ligandami, zaś jeden ligand ma powinowactwo do różnych receptorów z rodziny EGFR. Wspomniana wcześniej możliwość tworzenia homo- i hete-

rodimerów prowadzi w konsekwencji do różnic w sile wzbudzonego sygnału wewnątrzkomórkowego i odmiennym czasie trwania pobudzenia wewnątrzkomórkowego [48]. W trakcie transformacji nowotworowej dochodzi do syntetyzowania przez daną komórkę ligandu dla receptora obecnego na jej powierzchni (tzw. zjawisko *autocrine-switch*) [43]. Ponadto pomiędzy receptorami z rodziny EGFR i różnych rodzin, na przykład EGFR i VEGFR, może dochodzić do wzajemnych relacji, polegających między innymi na aktywacji kinazy jednego receptora przez pobudzenie innego lub aktywacji receptora przez zaktywowaną kinazę innego receptora, bądź też do interakcji pomiędzy składowymi kilku różnych, ale podobnych szlaków przekazywania wewnątrzkomórkowego (zjawiska *cross-talk* i *cross-phosphorylation*) [43]. Powyższe mechanizmy mogą wpływać na ograniczone możliwości uzyskania efektu terapeutycznego przy zastosowaniu leków ukierunkowanych na blokowanie aktywności EGFR. Warto dodać, że w badaniach przedklinicznych wykazano, iż aktywność EGFR prowadzi do chemo- i radiooporności komórek [51, 52]. Mianowicie, napromienianie powoduje autofosforylację kinazy tyrozynowej EGFR [51], zaś zastosowanie inhibitora tej kinazy (erlotynibu) zapobiega aktywacji EGFR po napromienieniu [52]. Nadekspresja EGFR w komórkach nowotworowych wiąże się z występowaniem przyspieszonej repopulacji komórek klonogennych w trakcie frakcjonowanej radioterapii [53]. Zastosowanie leków hamujących aktywność EGFR w skojarzeniu z radioterapią hamuje proliferację komórek w warunkach *in vitro* i wzrost guza w warunkach *in vivo* (efekt synergistyczny lub addytywny) [54-56].

Istnieje wiele możliwości hamowania aktywności EGFR, takich jak: zastosowanie przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko EGFR (np. cetuksymab, panitumumab, matuzumab), zastosowanie inhibitorów kinazy tyrozynowej receptora EGFR (np. gefitynib, erlotynib), inhibitorów transferazy farnezylowej, inhibitorów RAF, mTOR (*mammalian target of rapamycin*) oraz MEK (*mitogen-activated protein kinase*) [58].

Przeciwciała przeciwko EGFR

Dotychczas w leczeniu chorych na raka jelita grubego zastosowanie znalazło głównie chimeryczne, ludzko-mysie przeciwciało monoklonalne — cetuksymab, o większym powinowactwie do EGFR niż naturalnie występujące ligandy. Przeciwciało to, łącząc się z domeną zewnątrzkomórkową tego receptora, hamuje jego dimeryzację, fosforylację kinazy tyrozynowej i przekazywanie sygnałów wewnątrzkomórkowych [59, 60]. Cetuksymab nasila apoptozę, zmniejsza syntezę i sekrecję czynników proangiogennych, blokuje w komórkach nowotworowych naprawę uszkodzeń DNA wywołanych działaniem che-

mio- i radioterapii, hamuje progresję cyklu komórkowego, a także stymuluje cytotoksyczność komórkową zależną od przeciwciała (ADCC, *antibody--dependent cell cytotoxicity*) [59]. W badaniach eksperymentalnych przeprowadzonych w warunkach *in vivo* wykazano synergizm pomiędzy przeciwnowotworowym działaniem cetuksymabu i irynotekanu [61]. Natomiast w hodowli *in vitro* komórek raka jelita grubego opornych na irynotekan zaobserwowano, że dołączenie cetuksymabu do irynotekanu prowadzi do przełamania tej oporności [62]. U chorych w IV stadium zaawansowania raka jelita grubego potwierdzono powyższą obserwację [21]. Podobnie w badaniach przedklinicznych przeprowadzonych w warunkach *in vitro* wykazano, że inhibitory EGFR zastosowane w II rzucie ekspozycji na cytostatyki, po wcześniejszym leczeniu cisplatyną, karboplatyną, oksaliplatyną, docetaksemem czy paklitakselem, wywierają działanie synergistyczne z uprzednio zastosowaną chemioterapią w odniesieniu do hamowania proliferacji komórek nowotworowych, nasilenia apoptozy i blokowania cyklu komórkowego w fazie G2/M [63]. Skuteczność cetuksymabu w leczeniu chorych na raka jelita grubego po raz pierwszy udokumentowano u pacjentów w IV stadium zaawansowania choroby, u których doszło do progresji po chemioterapii opartej na irynotekanie [21]. Badanie *Bowel Oncology with Erbitux Antibody* (BOND) obejmowało 329 chorych, spośród których 45% otrzymało uprzednio co najmniej 3 rzuty leczenia przeciwnowotworowego. U chorych zastosowano monoterapię cetuksymabem lub irynotekaniem w połączeniu z tym przeciwciałem monoklonalnym. W grupie pacjentów poddanych leczeniu skojarzonemu uzyskano istotnie większy odsetek odpowiedzi klinicznych na zastosowane leczenie niż u pacjentów leczonych wyłącznie cetuksymabem (RR: 22,9% vs. 10,8%), odnotowano także lepszą kontrolę choroby (OR: CR + PR + SD: 55,5% vs. 32,4%) oraz wydłużenie czasu do progresji choroby (TTP: 4,1 vs. 1,5 miesiąca). Nie zaobserwowano jednak wpływu zastosowania cetuksymabu skojarzonego z irynotekaniem na poprawę całkowitego przeżycia chorych w porównaniu z pacjentami poddanymi monoterapii cetuksymabem. W pewnej mierze było to spowodowane tym, że po progresji choroby w trakcie stosowania wyłącznie cetuksymabu u chorych do terapii dołączano irynotekan, co prowadziło do uzyskania odpowiedzi na zastosowane leczenie [21]. Interesujące są również wyniki badania MABEL przeprowadzonego w grupie 1147 chorych na raka jelita grubego, u których doszło do progresji choroby w trakcie chemioterapii zawierającej irynotekan (różne programy zawierające w składzie ten cytostatyki) lub po jej stosowaniu [64]. Pacjentów tych poddano chemioterapii o składzie identycznym do zastosowanej poprzednio, przy czym dołączono do tego leczenia cetuksymab. Nie zaobserwowano różnic pomiędzy różnymi grupami chorych otrzymującymi odmienne programy chemioterapii oparte na irynotekanie. Przeżycie bez progre-

sji choroby wyniosło 61% po 12 tygodniach, 34% — po 24 tygodniach, 17% — po 36 tygodniach i 6% — po 48 tygodniach od rozpoczęcia stosowania cetuksymabu. Przeżycie całkowite było porównywalne ze stwierdzonym w badaniu BOND [21, 64].

Aktualnie trwa badanie III fazy (CA225-006) nad oceną skuteczności cetuksymabu w połączeniu z irynotekaniem u chorych w IV stadium zaawansowania raka jelita grubego, których uprzednio nie leczono irynotekaniem (pacjenci otrzymywali chemioterapię zawierającą oksaliplatynę i fluorouracyl) [23]. Prowadzone jest również randomizowane badanie III fazy oceniające skuteczność dołączenia cetuksymabu do programu FOLFOX4 u chorych opornych na irynotekan oraz badanie III fazy porównujące skuteczność cetuksymabu i najlepszego leczenia objawowego (*best supportive care*) w porównaniu z wyłącznie najlepszym leczeniem objawowym u chorych, którzy nie kwalifikują się już do żadnego leczenia cytostatycznego (badanie prowadzone przez *National Cancer Institute of Canada Clinical Trial Group*) [23].

W ostatnim czasie ocenie klinicznej poddano panitumumab. Jest to całkowicie ludzkie monoklonalne przeciwciało przeciwko EGFR. W randomizowanym badaniu III fazy wykazano, że zastosowanie panitumumabu w połączeniu z najlepszym leczeniem objawowym istotnie zmniejsza (o 46%) ryzyko progresji raka jelita grubego w porównaniu z postępowaniem objawowym [65]. Dotychczas nie ma ostatecznej odpowiedzi na pytanie, czy przeciwciała monoklonalne są skuteczne w I rzucie leczenia chorych na raka jelita grubego, u których stwierdza się obecność przerzutów odległych. Wyniki badań II fazy z zastosowaniem cetuksymabu lub panitumumabu są zachęcające [23, 66, 67]. Aktualnie trwa randomizowane badanie III fazy oceniające skuteczność panitumumabu w I rzucie leczenia tej grupy chorych (*Advanced Colorectal Cancer Evaluation Study*) [67].

Nie ustalono również roli przeciwciał skierowanych przeciwko EGFR w leczeniu uzupełniającym chorych na raka jelita grubego. Obecnie ocenia się skuteczność tego sposobu leczenia u chorych w III stadium zaawansowania klinicznego [23].

W ostatnim czasie opublikowano zachęcające wyniki badania II fazy oceniającego skuteczność zastosowania cetuksymabu w połączeniu z kapecytabiną jednocześnie z radioterapią wiązkami zewnętrznymi w neoadiuwantowym leczeniu chorych na raka odbytnicy [68].

Warto nadmienić, że pomimo iż wszystkie wymienione badania dotyczyły grupy chorych, u których immunohistochemicznie stwierdzano nadekspresję EGFR w komórkach nowotworowych, to nie stwierdzono korelacji pomiędzy obecnością tego receptora w komórkach nowotworowych a wynikami leczenia [21, 69]. Co ciekawe jednak, w trakcie retrospektywnych analiz lub badań II fazy zaobserwowano, że u części chorych na

raka jelita grubego, u których w komórkach nowotworowych nie wykazano obecności EGFR, uzyskano odpowiedź kliniczną po zastosowaniu cetuksymabu [70–72]. Przyczyny takiego stanu rzeczy upatruje się między innymi w niedoskonałości i chimeryczności metodyki badań immunohistochemicznych, sposobie utrwalania i przechowywania preparatów, odstępie czasu pomiędzy utrwaleniem wycinka guza a wykonaniem badania immunohistochemicznego (im dłuższy okres, tym niższa ekspresja EGFR) [71, 73, 74]. Warto pamiętać, że istnieją różnice pomiędzy obecnością EGFR w komórkach nowotworowych pochodzących z guza pierwotnego i z ogniska odległego. Mianowicie, opublikowano doniesienia wskazujące na występowanie EGFR zarówno w ognisku pierwotnym, jak i przerzutowym raka jelita grubego [75–77]; brak EGFR w komórkach nowotworowych zlokalizowanych w zmianach przerzutowych, przy obecności tego receptora w ognisku pierwotnym [77]; oraz na obecność EGFR w komórkach nowotworowych pochodzących z narządów odległych, podczas gdy nie stwierdzono występowania tego receptora w guzie pierwotnym [73]. Miejsce pobrania wycinka nowotworu do badania immunohistochemicznego ma również istotne znaczenie, bowiem największe nasilenie ekspresji EGFR znajduje się w miejscu naciekania przez nowotwór tkanek położonych głębiej [75]. Należy również pamiętać, że EGFR występuje w postaci dwóch form, czyli o wysokim i niskim powinowactwie do liganda [78]. Aktywacja kinazy tyrozynowej tego receptora, a w konsekwencji pobudzenie szlaku przekazywania wewnątrzkomórkowego, następuje tylko w pierwszym typie receptorów, które jednakże stanowią zaledwie 5–10% całkowitej zawartości EGFR w tkance [78]. Nie można też pominąć wpływu ADCC na odpowiedź wywołaną przez cetuksymab. Leczenie cetuksymabem jest dość dobrze tolerowane przez chorych. Typowym powikłaniem jest wysypka podobna do trądziku [69]. Jednak — co jest niezwykle ważne — wystąpienie tego powikłania koreluje z dobrą odpowiedzią na leczenie cetuksymabem [21, 64, 69]. Wśród innych działań niepożądanych należy wymienić: osłabienie, bóle brzucha, biegunkę, nudności, wymioty i reakcje związane z dożylnym podaniem tego leku (m.in. reakcje uczuleniowe, zaburzenia sercowo-naczyniowe i powikłania płucne). Większości z tych ostatnich można zapobiec, stosując w premedykacji leki przeciwhistaminowe i kortykosteroidy [64].

Inhibitory kinazy tyrozynowej EGFR

Podobnie jak w przypadku interferowania z aktywnością VEGFR zsyntetyzowano inhibitory kinazy tyrozynowej EGFR, między innymi gefitynib i erlotynib. W badaniach przedklinicznych wykazano, że gefitynib uwrażliwia komórki raka jelita grubego na działanie iry-

notekanu [79]. Zaobserwowano również synergistyczny efekt pomiędzy erlotynibem a oksaliplatyną w odniesieniu do komórek raka jelita grubego wzrastających w hodowlach komórkowych [80].

Podjęto próbę zastosowania gefitynibu w połączeniu z kapecytabiną podawanych jednocześnie z radioterapią przedoperacyjną w leczeniu neoadiuwantowym chorych na raka odbytnicy [81]. Jednak z powodu nasilonych działań niepożądanych (głównie biegunki) odstąpiono od kontynuacji badań nad tym sposobem leczenia chorych.

Skojarzone leczenie celowane

W ostatnim czasie zwrócono uwagę na możliwość poprawy wyników leczenia chorych na raka jelita grubego poprzez zastosowanie kombinacji leków interferujących z różnymi mechanizmami wpływającymi na progresję tego nowotworu. Skojarzona terapia celowana może być lepiej tolerowana niż chemioterapia konwencjonalna. Ponadto biologiczna heterogenność guzów nowotworowych może wymagać złożonych strategii leczenia. Co więcej, dane z badań przedklinicznych wskazują na skuteczność terapii skojarzonej anty-VEGF i anty-EGFR [82]. W badaniu klinicznym II fazy BOND II porównywano skuteczność bewacizumabu, cetuksymabu i irynotekanu w kolejnym rzucie leczenia chorych w zaawansowanym stadium raka jelita grubego [83]. Powyższa kombinacja leków skutkowałą 37-procentowym odsetkiem odpowiedzi na leczenie, zaś podanie wyłącznie cetuksymabu w połączeniu z bewacizumabem — 20%. Aktualnie trwa badanie SWOG/CALGB *Intergroup Trial* 80405, w którym porównywana jest skuteczność bewacizumabu vs. cetuksymabu vs. terapii skojarzonej z zastosowaniem obu tych przeciwciał [23]. Z kolei toksyczność terapii opartej na połączeniu bewacizumabu, erlotynibu i programu chemioterapii FOLFOX okazała się nieakceptowalna, w związku z czym nie poleca się kontynuacji tych badań [84].

Natomiast zachęcające wyniki uzyskano w badaniach przedklinicznych z wykorzystaniem inhibitora I generacji kinaz tyrozynowych receptorów: VEGFR i EGFR (ZD6474) [85, 86]. W badaniach przedklinicznych wykazano efekt przeciwnowotworowy po skojarzeniu tego inhibitora z oksaliplatyną lub cetuksymabem [85, 86].

Podsumowanie

W ostatnich latach opublikowano spektakularne wyniki badań przedklinicznych i klinicznych, które otworzyły nowe możliwości leczenia chorych na raka jelita grubego. Zwrócono uwagę na poprawę wyników leczenia tych pacjentów przy skojarzeniu leczenia blokującego różne cele molekularne z terapią cytotoksyczną. Konieczne jest jednak przeprowadzenie jeszcze wielu badań w celu wyszczególnienia grupy chorych na nowotwory, u których leczenie celowane mogłoby przy-

nieść największą korzyść. Nie można bowiem zapominać o toksyczności stosowanej terapii. Skuteczność leczenia nie może przesłaniać dbałości lekarzy o zapewnienie komfortu życia chorym. Ponadto należy pamiętać o istotnym wzroście kosztów przy zastosowaniu tego nowatorskiego podejścia do terapii chorych na raka jelita grubego.

Piśmiennictwo

1. Goldberg R.M., Rothenberg M.L., Van Cutsem E. i wsp. The continuum of care: a paradigm for the management of metastatic colorectal cancer. *Oncologist* 2007; 12: 38–50.
2. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: molecular and biological aspects. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 1999; 237: 1–30.
3. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other diseases. *Nat. Med.* 1995; 1: 27–31.
4. Dvorak H.F. Angiogenesis: update 2005. *J. Thromb. Haemost.* 2005; 3: 1835–1842.
5. Wojtukiewicz M.Z., Sierko E., Rak J. Contribution of the hemostatic system to angiogenesis in cancer. *Semin. Thromb. Hemost.* 2004; 30: 5–20.
6. Wojtukiewicz M.Z., Sierko E., Zacharski L.R. Interfering with hemostatic system components: possible new approaches to antiangiogenic therapy. *Semin. Thromb. Hemost.* 2004; 30: 145–156.
7. Collins T.S., Hurwitz H.I. Targeting vascular endothelial growth factor and angiogenesis for the treatment of colorectal cancer. *Semin. Oncol.* 2005; 32: 61–68.
8. Garcea G., Lloyd T.D., Geschner A., Dennison A.R., Steward W.P., Berry D. Angiogenesis of gastrointestinal tumors and their metastases — a target for intervention? *Eur. J. Cancer* 2004; 40: 1302–1313.
9. Jain R.K. Normalization of tumor vasculature: an emerging view of anti-angiogenic therapy. *Science* 2005; 307: 58–62.
10. Manley P.W., Bold G., Bruggen J. i wsp. Advances in the structural biology, design and clinical development of VEGF-R kinase inhibitors for the treatment of angiogenesis. *Biochim. Biophys. Acta* 2004; 1697: 17–27.
11. Warren R.S., Yuan H., Mati M.R., Gillett N.A., Ferrara N. Regulation by vascular endothelial growth factor of human colon cancer tumorigenesis in a mouse model of experimental liver metastasis. *J. Clin. Invest.* 1995; 95: 1789–1297.
12. Kabbinnavar F.F., Hurwitz H., Fehrenbacher L. i wsp. Phase II, randomized trial comparing bevacizumab plus fluorouracil (FU)/leucovorin (LV) with FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 2003; 21: 60–65.
13. Borgstrom P., Gold D.P., Hillan K.J., Ferrara N. Importance of VEGF for breast cancer angiogenesis in vivo: implications from intravital microscopy of combination treatments with an anti-VEGF neutralizing monoclonal antibody and doxorubicin. *Anticancer Res.* 1999; 19: 4203–4214.
14. Hurwitz H.I., Fehrenbacher L., Novotny W.F. i wsp. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350: 2335–2342.
15. Hurwitz H.I., Fehrenbacher L., Hainsworth J.D. i wsp. Bevacizumab in combination with fluorouracil and leucovorin: an active regimen for first-line metastatic colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 2005; 20: 3502–3508.
16. Kabbinnavar F.F., Schultz J., McCleod M. i wsp. Addition of bevacizumab to bolus fluorouracil and leucovorin in first-line metastatic colorectal cancer: results of a randomized phase II trial. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 3697–3705.
17. Kabbinnavar F.F., Hambleton J., Mass R.D., Hurwitz H.I., Bergsland E., Sarkar S. Combined analysis of efficacy: the addition of bevacizumab to fluorouracil improves survival for patients with metastatic colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 3706–3712.
18. Chen H.X., Mooney M., Boron M. i wsp. Phase II multicenter trial of bevacizumab plus fluorouracil and leucovorin in patients with advanced refractory colorectal cancer: an NCI Treatment Referral Center Trial TRC-0301. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 3354–3360.

19. Giantonio B.J., Catalano P.J., Meropol N.J. i wsp. Bevacizumab in combination with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin (FOLFOX4) for previously treated metastatic colorectal cancer: results from the Eastern Cooperative Oncology Group Study 3200. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25: 1539–1544.
20. Cohen M.H., Goorenberg J., Keegan P., Pazdur R. FDA drug approval summary: bevacizumab plus FOLFOX4 as second-line treatment of colorectal cancer. *Oncologist* 2007; 12: 356–361.
21. Cunningham D., Humblet Y., Siena S. i wsp. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.* 2004; 351: 337–345.
22. Saltz L.B., Lenz H.J., Hochster H. i wsp. Randomized phase II trial of cetuximab/ bevacizumab/ irinotecan (CBI) versus cetuximab/bevacizumab (CB) in irinotecan-refractory colorectal cancer. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 2005; 23 (supl. 16): 248a.
23. Chung K.Y., Saltz L.B. Antibody-based therapies for colorectal cancer. *Oncologist* 2005; 10: 701–709.
24. Dostępne na: <http://www.cancer.gov/clinicaltrials/results/colorectal>.
25. Czito B.G., Bendell J.C., Willett C.G. i wsp. Bevacizumab, oxaliplatin, and capecitabine with radiation therapy in rectal cancer: phase I trial results. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2007; 68: 472–478.
26. Abdalla E.K., Eng C., Madary A., Vauthey J.N. Southwest Oncology Group 0408. Southwest Oncology Group 0408: phase II trial of neoadjuvant capecitabine/oxaliplatin/bavacizumab for resectable colorectal metastases in the liver. *Clin. Colorectal Cancer* 2006; 5: 436–439.
27. Yoo P.S., Lopez-Soler R.I., Longo W.E., Cha C.H. Liver resection for metastatic colorectal cancer in the age of neoadjuvant chemotherapy and bevacizumab. *Clin. Colorectal Cancer* 2006; 6: 202–207.
28. D'Angelica M., Kornprat P., Gonen M. i wsp. Lack of evidence for increased operative morbidity after hepatectomy with perioperative use of bevacizumab: a matched case-controlled study. *Ann. Surg. Oncol.* 2007; 14: 759–765.
29. Scappaticci F.A., Fehrenbacher L., Cartwright T. i wsp. Surgical wound healing complications in metastatic colorectal cancer patients treated with bevacizumab. *J. Surg. Oncol.* 2005; 91: 173–180.
30. Sierko E., Wojtukiewicz M.Z. Platelets and angiogenesis in malignancy. *Semin. Thromb. Hemost.* 2004; 30: 95–108.
31. Posey J.A., Ng T.C., Yang B. i wsp. A phase I study of anti-kinase insert domain-containing receptor antibody, IMC-1C11, in patients with liver metastases from colorectal carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 2003; 9: 1323–1332.
32. Eskens F.A. Angiogenesis inhibitors in clinical development, where are we now and where are we going? *Br. J. Cancer* 2004; 90: 1–7.
33. Hecht J.R., Trarbach T., Jaeger E. J. i wsp. A randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III study in patients (Pts) with metastatic adenocarcinoma of the colon or rectum receiving first-line chemotherapy with oxaliplatin/5-fluorouracil/leucovorin and PTK787/ZK 222584 or placebo (CONFIRM-1). *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: LBA3.
34. Tyagi P. Vatalanib (PTK787/ZK 222584) in combination with FOLFOX4 versus FOLFOX4 alone as first-line treatment for colorectal cancer: preliminary results from the CONFIRM-1 trial. *Clin. Colorectal Cancer* 2005; 5: 24–26.
35. Dupont J., Schwartz J., Koutcher D. i wsp. Phase I and pharmacokinetic study of VEGF Trap administered subcutaneously (sc) to patients (pts) with advanced solid malignancies. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 3009.
36. Venook A., Hurwitz H., Cunningham C. i wsp. Relationship in clinical outcome in metastatic colorectal carcinoma to levels of soluble VEGFR-1: results of Phase II trial of a ribozyme targeting the pre-mRNA of VEGFR-1 (angiozyme), in combination with chemotherapy. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 2003; 22: straszczanie 1025.
37. Haller D.G. COX-2 inhibitors in oncology. *Semin. Oncol.* 2003; 30: 2–8.
38. McCollum A.D., Wu B., Clark J., M. i wsp. Capecitabine and thalidomide in previously treated, refractory metastatic colorectal cancer. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 2004; 23: straszczanie 3657.
39. Gross M.E., Zorbas M.A., Danels Y.J. i wsp. Cellular growth response to epidermal growth factor in colon carcinoma cells with an amplified epidermal growth factor receptor derived from a familial adenomatous polyposis patient. *Cancer. Res.* 1991; 51: 1452–459.
40. Radinsky R., Risin S., Fan D. i wsp. Level and function of epidermal growth factor receptor predict the metastatic potential of human colon carcinoma cells. *Clin. Cancer Res.* 1995; 1: 19–31.
41. Messa C., Russo F., Caruso M.G., Di Leo A. EGF, TGF- α , and EGFR-R in human colorectal adenocarcinoma. *Acta Oncol.* 1998; 37: 285–289.
42. Mayer A., Takimoto M., Fritz E., Schellander G., Kofler K., Ludwig H. The prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen, epidermal growth factor receptor, and mdr gene expression in colorectal cancer. *Cancer* 1993; 71: 2454–2460.
43. 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.
44. Wells A. EGF receptor. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 1999; 31: 637–643.
45. Kluffinger A.M., Robinson B.W., Quenville N.F., Finley R.J., Davis N.L. Correlation of epidermal growth factor receptor and c-erbB2 oncogene product to known prognostic indicators of colorectal cancer. *Surg. Oncol.* 1992; 1: 97–105.
46. Lenterink A.E.G., Pinkas-Kramarski R., van de Poll M.L. i wsp. Differential endocytic routing of homo- and hetero-dimeric ErbB tyrosine kinases confers signaling superiority to receptor heterodimers. *EMBO J.* 1998; 17: 3385–3397.
47. Britten C.D. Targeting ErbB receptor signaling: a pan-ErbB approach to cancer. *Mol. Cancer. Ther.* 2004; 3: 1335–1342.
48. Citri A., Skaria K.B., Yarden Y. The deaf and the dumb: the biology of ErbB-2 and ErbB-3. *Exp. Cell Res.* 2003; 284: 54–65.
49. Yoganathan T.N., Costello P., Chen X. i wsp. Integrin-linked kinase (ILK): a "hot" therapeutic target. *Biochem. Pharmacol.* 2000; 60: 1115–1119.
50. Galetic I., Andjelkovic M., Meier R., Brodbeck D., Park J., Hemmings BA. Mechanism of protein kinase B activation by insulin/insulin-like growth factor-1 revealed by specific inhibitors of phosphoinositide 3-kinase-significance for diabetes and cancer. *Pharmacol. Ther.* 1999; 82: 409–425.
51. Schmidt-Ullrich R.K., Valerie K., Fogleman P.B., Walters J. Radiation-induced autophosphorylation of epidermal growth factor receptor in human malignant mammary and squamous epithelial cells. *Radiat. Res.* 1996; 145: 81–85.
52. Chinnaiyan P., Huang S., Vallabhaneni G. i wsp. Mechanisms of enhanced radiation response following epidermal growth factor receptor signaling inhibition by erlotinib (Tarceva). *Cancer Res.* 2005; 65: 3328–3335.
53. Petersen C., Eicheler W., Frömmel A. i wsp. Proliferation and microenvironment during fractionated irradiation of human FaDu squamous cell carcinoma in nude mice. *Int. J. Radiat. Biol.* 2003; 79: 469–477.
54. Peng D., Fan Z., Lu Y., DeBlasio T., Scher H., Mendelsohn J. Anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody 225 up-regulates p27KIP1 and induces G1 arrest in prostatic cancer cell line DU145. *Cancer Res.* 1996; 56: 3666–3669.
55. Saleh M.N., Raisch K.P., Stackhouse M.A. i wsp. Combined modality therapy of A431 human epidermoid cancer using anti-EGFR antibody C225 and radiation. *Cancer Biother. Radiopharm.* 1999; 14: 451–463.
56. Solomon B., Hagekyriakou J., Trivett M.K., Stacker A.K., McArthur G.A., Cullinane C. EGFR blockade with ZD1839 ("Iressa") potentiates the antitumor effects of single and multiple fractions of ionizing radiation in human A431 squamous cell carcinoma. *Int. J. Radiat. Biol. Phys.* 2003; 55: 713–723.
57. Huang S.M., Harari P.M. Modulation of radiation response after epidermal growth factor receptor blockade in squamous cell carcinomas: inhibition of damage repair, cell cycle kinetics, and tumor angiogenesis. *Clin. Cancer Res.* 2000; 6: 2166–2174.
58. Noonberg S.B., Benz C.C. Tyrosine kinase inhibitors targeted to the epidermal growth factor receptor subfamily: role as anticancer agents. *Drugs* 2000; 59: 753–767.
59. Prewett M., Rockwell P., Rockwell R.F. i wsp. The biologic effects of C225, a chimeric monoclonal antibody to the EGFR, on human prostate carcinoma. *J. Immunother. Emphasis Tumor Immunol.* 1996; 19: 419–427.
60. Li S., Schmitz K.R., Jeffrey P.D. i wsp. Structural basis for inhibition of the epidermal growth factor receptor by cetuximab. *Cancer Res.* 2005; 7: 301–311.
61. Kim S., Prichard C.N., Younes M.N. i wsp. Cetuximab and irinotecan interact synergistically to inhibit the growth of orthotopic anaplastic thyroid carcinoma xenografts in nude mice. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12: 600–607.
62. Prewett M.C., Hooper A.T., Bassi R., Ellis L.M., Waksal H.W.,

- Hicklin D.J. Enhanced antitumor activity of anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody IMC-C225 in combination with irinotecan (CPT-11) against human colorectal tumor xenografts. *Clin. Cancer Res.* 2002; 8: 994–1003.
63. Morelli M.P., Cascone T., Troiani T. i wsp. Sequence-dependent antiproliferative effects of cytotoxic drugs and epidermal growth factor receptor inhibitors. *Ann. Oncol.* 2005; 16 (supl. 4): iv61–iv68.
 64. Wilke H., Glynne-Jones R., Thaler J. i wsp. MABEL — a large multinational study of cetuximab plus irinotecan in metastatic colorectal cancer progressing on irinotecan. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24 (18S): streszczenie 3549.
 65. Gibson T.B., Ranganathan A., Grothey A. Randomized phase III trial results of panitumumab, a fully human anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody, in metastatic colorectal cancer. *Colorectal Cancer* 2006; 6: 29–31.
 66. Hoy S.M., Wagstaff A.J. Panitumumab: in the treatment of metastatic colorectal cancer. *Drugs* 2006; 66: 2005–2014.
 67. Cohenuram M., Saif M.W. Panitumumab the first fully human monoclonal antibody: from the bench to the clinic. *Anticancer Drugs* 2007; 18: 7–15.
 68. Machiels J-P., Sempoux C., Scalliet P. i wsp. Phase I/II study of preoperative cetuximab, capecitabine, and external beam radiotherapy in patients with rectal cancer. *Ann. Oncol.* 2007; 18: 738–744.
 69. Saltz L., Meropol N.J., Loehrer P.J. i wsp. Phase II trial of cetuximab in patients with refractory colorectal cancer that express the epidermal growth factor receptor. *J. Clin. Oncol.* 2004; 22: 1201–1208.
 70. Lenz H.J., Van Cutsem E., Khambata-Ford S. i wsp. Multicenter phase II and translational study of cetuximab in metastatic colorectal carcinoma refractory to irinotecan, oxaliplatin, and fluoropyrimidines. *J. Clin. Oncol.* 2006; 30: 4914–4921.
 71. Chung K.Y., Shia J., Kemeny N.E. i wsp. Cetuximab shows activity in colorectal cancer patients with tumors that do not express the epidermal growth factor receptor by immunostaining. *J. Clin. Oncol.* 2005; 1791–1793.
 72. Hebbar M., Wacrenier A., Desauw C. i wsp. Lack of usefulness of epidermal growth factor receptor expression determination for cetuximab therapy in patients with colorectal cancer. *Anti-Cancer Drugs* 2006. 17: 855–857.
 73. Atkins D., Rieffen K.A., Tegtmeier C.L. i wsp. Immunohistochemical detection of EGFR in paraffin-embedded tumor tissues: variation in staining intensity due to choice of fixative and storage time of tissue sections. *J. Histochem. Cytochem.* 2004; 52: 893–901.
 74. Beer M.W., Ung C., Bacus S.S. i wsp. Heterogeneity of epidermal growth factor receptor (EGFR) expression and variation in immunohistochemistry (ICH) testing may affect access to EGFR-targeted therapy in patients with advanced colorectal cancer (CRC). *J. Clin. Oncol.* 2006; 24 (18S): streszczenie 10104.
 75. Goldstein N.S., Armin M. Epidermal growth factor receptor immunohistochemical reactivity in patients with American Joint Committee on Cancer Stage IV colon adenocarcinoma: implications for a standardized scoring system. *Cancer* 2001; 92: 1331–1346.
 76. McKay J.A., Murray L.J., Curran S. i wsp. Evaluation of the epidermal growth factor receptor (EGFR) in colorectal tumours and lymph node metastases. *Eur. J. Cancer* 2002; 38: 2258–2264.
 77. Scartozzi M., Bearzi I., Berardi R. i wsp. Epidermal growth factor receptor (EGFR) status in primary colorectal tumors does not correlate with EGFR expression in related metastatic sites: implications for treatment with EGFR-targeted monoclonal antibodies. *J. Clin. Oncol.* 2004; 22: 4720–4726.
 78. Defize L.H., Boonstra J., Mesenhelder J. i wsp. Signal transduction by epidermal growth factor occurs through the subclass of high affinity receptors. *J. Cell. Biol.* 1989; 109: 2495–2507.
 79. Braun A.H., Stark K., Dirsch O., Hilger R.A., Seeber S., Vanhofer U. The epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor gefitinib sensitises colon cancer cells to irinotecan. *Anticancer Drugs* 2005; 16: 1099–1108.
 80. Voigt W., Pickan V., Pfeiffer C., Mueller T., Simon H., Arnold D. Preclinical evaluation of ZD1839 alone or in combination with oxaliplatin in a panel of human tumor cell lines — implications for clinical use. *Onkologie* 2005; 28: 482–488.
 81. Czito B.G., Willet C.G., Bendel J.C. i wsp. Increased toxicity with gefitinib, capecytidine, and radiation therapy in pancreatic and rectal cancer: phase I trial results. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 656–662.
 82. Tonra J.R., Deevi D.S., Corcoran E. i wsp. Synergistic antitumor effects of combined epidermal growth factor receptor and vascular endothelial growth factor receptor-2 targeted therapy. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12: 2197–2207.
 83. Saltz L.B., Lenz H., Hochster S. i wsp. Randomized phase II trial of cetuximab/bevacizumab/irinotecan (CBI) versus cetuximab/bevacizumab (CB) in irinotecan-refractory colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23 (1 supl.): 3508.
 84. Meyerhardt J., Stuart K., Fuchs C. i wsp. Phase II study of FOLFOX, bevacizumab and erlotinib as first-line therapy for patients with metastatic colorectal cancer. *Ann. Oncol.* 2007; 18: 1185–1189.
 85. Morelli M.P., Cascone T., Troiani T. i wsp. Anti-tumor activity of the combination of cetuximab, an anti-EGFR blocking monoclonal antibody and ZD6474, an inhibitor of VEGF and EGFR tyrosine kinase. *J. Cell. Physiol.* 2006; 208: 344–353.
 86. Troiani T., Lockerbie O., Morrow M., Ciardiello F., Eckhardt S.G. Sequence-dependent inhibition of human colon cancer cell growth and of pro-survival pathways by oxaliplatin in combination with ZD6474 (Zactima), an inhibitor of VEGFR and EGFR tyrosine kinases. *Mol. Cancer. Ther.* 2006; 5: 1883–1894.