

Κεφάλαιο 59

Ο ρόλος των μονοκλωνικών αντισωμάτων στην αντιμετώπιση συμπαγών όγκων

Χ. Π. Καλόφωνος

Π. Δ. Γρίβας

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που διέπουν την πορεία της κακοήθους εξαλλαγής ενός κυττάρου έχει οδηγήσει στην ανάδειξη μορίων με κομβικό ρόλο στην πολυσταδιακή διαδικασία της καρκινογένεσης, όπως είναι τα ογκοεμβρυικά και όγκο-ειδικά αντιγόνα (oncofetal antigens, tumor – specific antigens). Αυτά τα αντιγόνα εκφράζονται κυρίως σε καρκινικά κύτταρα και χαρακτηρίζουν τον κακοήθη φαινότυπο αποτελώντας αξιόλογους στόχους επιλεκτικής παρέμβασης. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν ποικίλα πρωτεϊνικά μακρομόρια-ογκογονίδια, όπως αυξητικοί παράγοντες, υποδοχείς αυξητικών παραγόντων, κινάσες μεταγωγικών μονοπατιών, ειδικοί μεταγραφικοί παράγοντες, κ.α.

Μια υποκατηγορία τέτοιων μακρομορίων είναι συγκεκριμένα μεμβρανικά αντιγόνα που εκφράζονται με σχετική εκλεκτικότητα σε κακοήθη κύτταρα και έχουν μεγάλη σημασία για την ανάπτυξη κακοήθων νεοπλασιών. Πρόκειται για υποδοχείς αυξητικών παραγόντων, υπερλειτουργία των οποίων ενέχεται στην υπέρμετρη μετάδοση μηνυμάτων που οδηγούν το κύτταρο σε μη ελεγχόμενη κυτταρική διαίρεση. Οι ραγδαίες εξελίξεις στο χώρο της βιοτεχνολογίας έχουν συντελέσει στην απομόνωση, ταυτοποίηση και μέτρηση τέτοιων μοριακών

στόχων οδηγώντας στην ανάπτυξη μονοκλωνικών αντισωμάτων που αντιδρούν ανοσολογικά με τα συγκεκριμένα μεμβρανικά αντιγόνα-υποδοχείς. Το πρώτο μονοκλωνικό αντίσωμα που χρησιμοποιήθηκε στην κλινική πράξη ήταν το rituximab, το οποίο χορηγείται σε ασθενείς με λεμφώματα και στοχεύει στο αντιγόνο CD20 των λεμφοκυττάρων. Στη συνέχεια ακολούθησαν κλινικές μελέτες που διερεύνησαν μεγάλο αριθμό μονοκλωνικών αντισωμάτων, ελάχιστα όμως από αυτά εγκρίθηκαν για τη συστηματική θεραπεία συμπαγών όγκων.

Έχουν περάσει 25 έτη από την ανάπτυξη της υβριδωματικής τεχνολογίας και την περιγραφή των τεχνικών παραγωγής των μονοκλωνικών αντισωμάτων (MAb) από τους Kohler and Milstein¹. Οι πρώτες κλινικές δοκιμές με MAb δημοσιεύτηκαν τη δεκαετία του '80²⁻⁴ και έδειξαν μικρό αριθμό κλινικών ανταποκρίσεων ενθαρρύνοντας τη διεξαγωγή περαιτέρω *in vitro* και *in vivo* μελετών. Όμως, τα μονοκλωνικά αντισώματα αποδείχθηκαν πολύπλοκα και σύνθετα μόρια σε ό,τι αφορά τις βιολογικές τους ιδιότητες και τη χρήση στη σύγχρονη θεραπευτική, αποτυγχάνοντας να φέρουν άμεσα την προσδοκώμενη επανάσταση στη θεραπεία των κακοήθων νεοπλασιών.

Η μειωμένη αποτελεσματικότητα συ-

νοδεύτηκε από την παρουσία ποικίλων ανεπιθύμητων ενεργειών. Η διερεύνηση των μηχανισμών δράσης, οι παραλλαγές στη δομή τους, η αποτελεσματικότητά, η επιλεκτικότητα σε κλινικές μελέτες καθώς και οι προοπτικές χρησιμοποίησης στο μέλλον αποτελούν αντικείμενο της σύγχρονης διεθνούς βιβλιογραφίας.

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ

Υπάρχουν αρκετοί μηχανισμοί μέσω των οποίων δρουν τα μονοκλωνικά αντισώματα. Αδρά μπορούν να ταξινομηθούν σε δυο κύριες κατηγορίες, στους άμεσους και έμμεσους τρόπους δράσης^{5,6}. Η διαντίδραση μεταξύ αντισώματος και αντιγόνου-στόχου δύναται να ενεργοποιήσει τους μηχανισμούς απόπτωσης του κακόηθους κυττάρου, ενώ η παρεμπόδιση σύνδεσης του υποδοχέα-στόχου με τον αντίστοιχο αυξητικό παράγοντα-προσδέτη αποστερεί από το κύτταρο ογκογόνα ερεθίσματα. Ανταγωνιστικά αντισώματα μπορούν να οδηγήσουν σε μείωση των επιπέδων του υποδοχέα ή και αναστολή ετεροδιμερισμού του με συγγενικούς υποδοχείς. Η ανασταλτική δράση επιβραδύνει την ενεργοποίηση ενδοκυττάρων σηματοδοτικών μονοπατιών υπεύθυνων για τον εκσεσημασμένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τη σύνθεση πρωτεϊνών αναγκαίων για την ανάπτυξη του όγκου⁷.

Η αποτελεσματικότητα ενός μονοκλωνικού αντισώματος εξαρτάται από τις ιδιότητες του αντιγόνου στόχου, το ρόλο του στην κυτταρική αποδιαφοροποίηση, την απουσία μεταλλάξεων που το καθιστούν ανθεκτικό στη δράση του αντισώματος και τη διατήρηση της δράσης του μετά τη σύνδεση με το αντίσωμα. Επιπλέον, δεν θα πρέπει να εκκρίνεται στη συστηματική κυκλοφορία, διότι

κάτι τέτοιο θα μείωνε τη διαθεσιμότητα του αντισώματος στην περιοχή του όγκου.

ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ-ΡΑΔΙΟ-ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΙΑ-ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΤΟΞΙΝΗΣ

Τα μονοκλωνικά αντισώματα μπορούν να συνδεθούν με τοξίνες (φυτικές ή βακτηριακές) ή με ραδιοϊσότοπα στα πλαίσια της ραδιοανοσοθεραπείας. Στην πρώτη περίπτωση, η τοξίνη (π.χ. φυτική ρικίνη ή ψευδομοναδική τοξίνη Α) μεταφέρεται με τα αντισώματα στα κύτταρα του όγκου, ενδοκυττώνεται και επιδρά κυτταροτοξικά⁸. Στη δεύτερη περίπτωση, η εκπεμπόμενη ακτινοβολία δρα επιλεκτικά σε καρκινικούς ιστούς με μειωμένη συστηματική έκθεση του οργανισμού. Η επιτυχία της συγκεκριμένης προσέγγισης εξαρτάται από τις φαρμακοκινητικές ιδιότητες του συμπλόκου αντισώματος-ισοτόπου (χρόνος ημίσειας ζωής, βιοκατανομή, αγγειακή κατανομή κ.α.).

Η συμβατότητα του ραδιοεπισημασμένου αντισώματος ελέγχεται με ειδικές φόρμουλες-αλγόριθμους⁹ που συγκρίνουν φαρμακοκινητικές παραμέτρους του αντισώματος και του ισοτόπου, όπως το ρυθμό κάθαρσης και το χρόνο ημιζωής. Κριτήρια για την επιλογή του ισοτόπου αποτελούν το πρότυπο και η κατανομή της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας. Η επίδραση των ραδιοϊσοτόπων δεν περιορίζεται αποκλειστικά σε κύτταρα που εκφράζουν το συγκεκριμένο αντιγόνο-στόχο, αλλά συχνά αφορά και παρακείμενα κύτταρα (bystander effect).

Προς το παρόν, τα αποτελέσματα της ραδιοανοσοθεραπείας σε συμπαγείς όγκους δεν είναι ιδιαίτερα ικανοποιητικά, όμως η παρουσία νέων δομών με επιπρόσθετες βιολογικές ιδιότητες θέτει τις

βάσεις για καλύτερα αποτελέσματα στο μέλλον.

Επίσης, τα MAb δύνανται να συνδεθούν με χημειοθεραπευτικά μόρια¹⁰ καθώς και με ένζυμα που είναι υπεύθυνα για τη μετατροπή ενός προφαρμάκου σε ενεργό φάρμακο¹¹. Η μεταφορά τέτοιων παραγόντων στα κύτταρα του όγκου στοχεύει στην αύξηση της θεραπευτικής εκλεκτικότητας όμως η πρόσδεση νέων αντιγονικά διαφορετικών μορίων αναμένεται να αυξήσει την πιθανότητα αντιδράσεων υπερευαισθησίας.

ΔΙΚΤΥΟ ΑΝΤΙΔΙΟΤΥΠΙΚΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

Η αναγνώριση της αντιγονοδεσμευτικής περιοχής του μονοκλωνικού αντισώματος (Ab1) από το ανθρώπινο ανοσοποιητικό σύστημα προκαλεί την ανάπτυξη αντι-ιδιοτυπικού αντισώματος (Ab2) εναντίον της περιοχής. Το παραγόμενο αντι-ιδιοτυπικό αντίσωμα (Ab2) αντικατοπτρίζει την τρισδιάστατη δομή του καρκινικού αντιγόνου. Η περαιτέρω αναγνώριση αυτής της αντιγονικής περιοχής στο αντι-ιδιοτυπικό αντίσωμα (Ab2) επιτρέπει την ανοσολογική απόκριση και την παραγωγή του αντι-αντιδιοτυπικού αντισώματος (Ab3) που αντιδρά με το καρκινικό αντιγόνο-στόχο, διαιωνίζοντας την επαναλαμβανόμενη ανοσοαντίδραση εναντίον των νεοπλασματικών κυττάρων.

ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΔΙΑΜΕΣΟΛΑΒΟΥΜΕΝΗ ΑΠΟ ΤΟ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Η κυτταρο-διαμεσολαβούμενη κυτταροτοξικότητα που εξαρτάται από αντίσωμα (antibody-dependent-cell mediated-cytotoxicity, ADCC) συνιστά σημαντικό μηχανισμό δράσης των μονοκλωνικών αντισωμάτων. Μετά τη σύνδεση

του αντισώματος με το κύτταρο-στόχο μέσω του Fab τμήματος, το αντίσωμα συνδέεται με φαγοκύτταρα όπως ουδετερόφιλα, μακροφάγα, NK κύτταρα αλλά και λεμφοκύτταρα μέσω του Fc τμήματος φέροντας σε επαφή τα καρκινικά με τα ανοσολογικά κύτταρα. Το φαινόμενο μπορεί να ενισχυθεί με τη χρήση «αμφιδεικών» (bispesific) αντισωμάτων που περιέχουν δύο δεσμευτικές περιοχές, μια που στοχεύει σε αντιγόνο στα καρκινικά κύτταρα και μια που συνδέεται με τον υποδοχέα του Fc σε κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος¹².

Οι υποδοχείς του Fc αποτελούν το σύνδεσμο μεταξύ κυτταρικής και χυμικής ανοσίας και έχουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του μηχανισμού ADCC. Το μονοκλωνικό αντίσωμα trastuzumab φαίνεται ότι δρα και με αυτόν το μηχανισμό διότι περιέχει ένα ανθρώπινο Fc $\gamma 1$ τμήμα μέσω του οποίου συνδέεται με τον Fc RIII υποδοχέα στα μονοκύτταρα και στα NK κύτταρα, διαμεσολαβώντας αποτελεσματικό μηχανισμό ADCC *in vitro*⁷. Επιπλέον, η υποτάξη της ανοσοσφαιρίνης επηρεάζει το βαθμό ενεργοποίησης του μηχανισμού, π.χ. η IgG3 εμπλέκεται στο φαινόμενο ADCC περισσότερο από τις IgG1 και IgG2¹³. Επομένως, η αποτελεσματικότητα της θεραπείας θα μπορούσε να αυξηθεί με την επιλογή της κατάλληλης ανοσοσφαιρίνης.

Η διαντίδραση αντιγόνου-αντισώματος μπορεί επίσης να ενεργοποιήσει κυτταροτοξικότητα διαμεσολαβούμενη από συμπλήρωμα (complement-mediated-cytotoxicity, CMC). Μετά τη σύνδεση του αντισώματος με το κύτταρο-στόχο, το C1 συστατικό του συμπληρώματος συνδέεται στο Fc τμήμα αυτού και προκαλεί την κλασική οδό ενεργοποίησης

του συμπληρώματος¹⁴. Ο συγκεκριμένος μηχανισμός είναι ιδιαίτερα σημαντικός διότι συχνά τα καρκινικά αντιγόνα δεν παρουσιάζονται στα ανοσολογικά κύτταρα και διαφεύγουν τους μηχανισμούς ανοσοεπιτήρησης.

Στο μέλλον, η σωστότερη επιλογή εκείνων των ασθενών που έχουν αυξημένη πιθανότητα να αναπτύξουν ανοσολογική απόκριση εναντίον του όγκου μετά τη χορήγηση μονοκλωνικού αντισώματος θα βελτιώσει πιθανότατα τα αποτελέσματα της ανοσοθεραπείας. Η επιλογή θα στηρίζεται σε ανοσολογικούς δείκτες (π.χ. επίπεδα κυτταροκινών, NK κυττάρων), οι οποίοι αντιπροσωπεύουν το ανοσολογικό προφίλ και την ανοσολογική λειτουργία του οργανισμού του ασθενούς καθώς και ανοσολογικές αποκρίσεις πριν και μετά τη θεραπεία¹⁵.

ΔΥΣΚΟΛΙΕΣ ΣΤΗ ΧΡΗΣΗ ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

Αρχικά, τα MAbs που χρησιμοποιήθηκαν στις πρώτες κλινικές μελέτες προέρχονταν από πειραματόζωα (επίμυες), προκαλώντας την ανοσολογική αντίδραση του ανθρώπινου οργανισμού και την παραγωγή ανθρώπινων αντισωμάτων εναντίον τους (human antimouse antibodies, HAMA). Οι τεχνικές της μοντέρνας βιοτεχνολογίας συνετέλεσαν στην παραγωγή χιμαιρικών και εξανθρωποποιημένων αντισωμάτων τα οποία έχουν μειωμένη ανοσογονικότητα και κατ'έπекταση αυξημένο χρόνο ημίσειας ζωής και μειωμένο ρυθμό κάθαρσης από τον οργανισμό. Η χρήση εξανθρωποποιημένων αντισωμάτων έχει συμβάλει στη βελτίωση των κλινικών αποτελεσμάτων.

Καρκινικά αντιγόνα που εκκρίνονται στην κυκλοφορία δεσμεύουν το χορη-

γούμενο αντίσωμα στον ενδαγγειακό χώρο και μειώνουν το ποσοστό του διαθέσιμου αντισώματος που αντιδρά ανοσολογικά με τα αντίστοιχα αντιγόνα στα κύτταρα του όγκου¹⁶.

Η βιοκατανομή των αντισωμάτων στον όγκο εμποδίζεται από ορισμένους φραγμούς, όπως διαταραχή και περιορισμένη ανάπτυξη του αγγειακού δικτύου, ετερογένεια αιματικής ροής, υψηλή μεσοκυττάρια υδροστατική πίεση λόγω έλλειψης λεμφαγγείων στο διάμεσο ιστό των όγκων, ετερογένεια στην κατανομή του αντιγόνου-στόχου σε διάφορες περιοχές του όγκου κ.α. Η σύνδεση των αντισωμάτων με αντιγόνα στα νεοπλασματικά κύτταρα του όγκου επηρεάζεται επίσης και από τη βιοδιαθεσιμότητά τους στο εξωαγγειακό διαμέρισμα του όγκου. Ο ρόλος της αυξημένης αγγειακής διαπερατότητας στην εναπόθεση του αντισώματος στον όγκο φαίνεται σημαντικός χωρίς όμως να έχει επαρκώς διευκρινισθεί ο βαθμός συμμετοχής της¹⁷.

Η διασταυρούμενη αντίδραση του χορηγούμενου αντισώματος με αντιγόνα φυσιολογικών ιστών αποτελεί ανεπιθύμητο ενδεχόμενο, η αποφυγή του οποίου επιδιώκεται με την ταυτοποίηση όσο το δυνατόν ειδικότερων αντιγονικών στόχων, όπως ογκοεμβρυϊκών και ογκοειδικών αντιγόνων. Επιπρόσθετα, η ανοσοκαταστολή στο μικροπεριβάλλον του όγκου λόγω έκκρισης τοπικά παραγόμενων κυτταροκινών¹⁸ και η μειωμένη διήθηση με κύτταρα της φλεγμονής λόγω υποξίας του όγκου¹⁹ εμποδίζουν την ανάπτυξη ανοσολογικών μηχανισμών εναντίον των κακοήθων κυττάρων.

Παρά την παρουσία αυτών των εμποδίων νέα ανοσομόρια καθώς και νέες εξειδικευμένες μέθοδοι στόχευσης συνε-

χίζουν να δοκιμάζονται και αναμένονται να αποδώσουν καλύτερα αποτελέσματα στο μέλλον²⁰.

Οι δυσκολίες στην παραγωγή αντισωμάτων που συνδυάζουν αυξημένη αποτελεσματικότητα και επιλεκτικότητα είναι σημαντικές. Οι επιθυμητές φαρμακοδυναμικές ιδιότητες (σύνδεση και επίδραση στο στόχο, αλληλεπίδραση με ανοσολογικά κύτταρα), η κατάλληλη φαρμακοκινητική, η δυνατότητα μαζικής παραγωγής και χημικής τροποποίησης με το χαμηλότερο δυνατό κόστος αποτελούν συνήθεις αιτίες προβληματισμού που θα βελτιώσουν μελλοντικά τη χρήση των αντισωμάτων για θεραπευτικούς σκοπούς.

ΝΕΑ ΑΝΟΣΟΜΟΡΙΑ - ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΒΙΟ-ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

Οι περιορισμοί στη χρήση των αντισωμάτων που προέρχονται από επίμυες (murine) κατέστησε επιτακτική την ανάγκη κατασκευής μορίων με μικρότερη ανοσογονικότητα. Υπάρχουν δυο κατηγορίες τέτοιων μορίων, τα χιμαιρικά (chimeric) και τα εξανθρωποποιημένα (humanized) αντισώματα. Η πρώτη ομάδα περιλαμβάνει δομές που σχηματίζονται από σύντηξη DNA που συνδυάζει τη μεταβλητή (variable) περιοχή αναγνώρισης αντιγόνου η οποία προέρχεται από επίμυες και τη σταθερή (constant) περιοχή ανθρώπινης ανοσοσφαιρίνης²¹.

Κάποιες μελέτες έδειξαν ότι μία ή επαναλαμβανόμενες δόσεις τέτοιων αντισωμάτων δεν προκάλεσαν έντονη παραγωγή HAMA²², ενώ σε άλλες δεν επιβεβαιώθηκε το ίδιο αποτέλεσμα²³. Τα ανθρωποποιημένα αντισώματα αποτελούνται από αλληλουχίες που προέρχονται από επίμυες και κωδικοποιούν τις τρεις συμπληρωματικές περιοχές (complementarity-determining-regions, CDR)

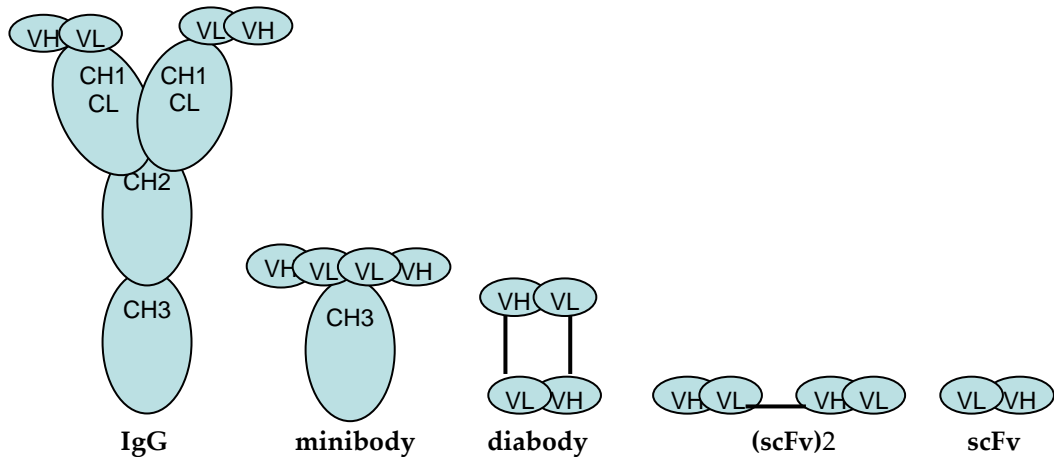
του μορίου που είναι υπεύθυνες για τη δέσμευση του αντιγόνου, ενσωματωμένες σε ένα σκελετό ανθρώπινης ανοσοσφαιρίνης²⁴. Αυτή η δομή θεωρείται σαφώς λιγότερο ανοσογόνος, αλλά επαρκώς ειδική.

Η διείσδυση σε περιοχές του όγκου μπορεί να αυξηθεί αν μειωθεί το μέγεθος του αντισώματος. Συγκεκριμένα ανοσομόρια όπως τα $F(ab')_2$ ανοσοσμήματα ή τα μονομερή Fab δεν περιέχουν όλο το σταθερό (constant) τμήμα της ανοσοσφαιρίνης διατηρώντας την ικανότητά τους για ανοσοαντίδραση μετά τη σύζευξή τους με τοξίνες και ραδιοϊσότοπα με αντιγόνα στα κύτταρα του όγκου²¹. Οι δομές ενός ολόκληρου μορίου ανοσοσφαιρίνης και ανοσοσμημάτων ποικίλου μεγέθους που κατασκευάζονται με ειδικές τεχνικές μοριακής μηχανικής παρουσιάζονται στην εικόνα 1. Υπάρχουν ανοσομόρια που αποτελούνται από την περιοχή CDR²⁵ και πολύπλοκα πεπτίδια με πολυάριθμες δεσμευτικές περιοχές²⁶.

Ανοσομόρια μικρού μεγέθους που περιέχουν μια απλή αλυσίδα μεταβλητής περιοχής single chain Fv (scFv) μπορεί να επισημανθούν με ραδιοϊσότοπα και να χρησιμοποιηθούν για την ανίχνευση των όγκων με τη μέθοδο της ραδιοανοσοσπινθηρογράφισης (radioimmuno-scintigraphy)²⁷. Τέτοια ανοσομόρια μπορούν να διμεριστούν για να παραχθούν μεγαλύτερες δομές με βραδύτερο ρυθμό κάθαρσης και βελτιωμένη δυνατότητα σύνδεσης με κύτταρα που υπερεκφράζουν το αντιγόνο-στόχο. Η σύνδεση δύο scFv μορίων με μη ομοιοπολικούς δεσμούς οδηγεί στην κατασκευή (scFv)₂ μορίων που ονομάζονται διασώματα (diabodies)²⁸. Η σύνδεση δύο τέτοιων μορίων μέσω πεπτιδίου (peptide spacer) ο-

δηγεί στην παραγωγή ανοσομορίων με 4 αντιγονο-δεσμευτικές θέσεις (tandem diabodies). Η σύζευξη ενός γονιδίου που κωδικοποιεί μεταβλητή αλυσίδα (scFv) με ένα άλλο που κωδικοποιεί ένα τμήμα σταθερής περιοχής ανοσοσφαιρίνης (CH3 domain) οδηγεί στο σχηματισμό

μεγαλύτερων και σταθερότερων ανοσομορίων (minibodies)²⁹. Οι ιδιότητες του κάθε μορίου μπορούν να αξιολογηθούν και στη συνέχεια να αξιοποιηθούν μέσα από συγκεκριμένες προκλινικές και κλινικές εφαρμογές.



Εικόνα 1: Δομές ακέραιας ανοσοσφαιρίνης και άλλων ανοσομορίων. CH-constant region of heavy chain: σταθερή περιοχή βαριάς αλυσίδας, VH-variable region of heavy chain: μεταβλητή περιοχή βαριάς αλυσίδας, CL-constant region of light chain: σταθερή περιοχή ελαφριάς αλυσίδας, VL-variable region of light chain: μεταβλητή περιοχή ελαφριάς αλυσίδας.

EGFR: ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ

Η περιγραφή και ανάλυση του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (epidermal growth factor, EGF) και του αντίστοιχου υποδοχέα EGFR έχει συντελέσει στην κατανόηση μηχανισμών βιολογικής συμπεριφοράς, ανάπτυξης και εξέλιξης ενός όγκου. Πρόκειται για μία μεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη που αποτελείται από εξωκυττάρια και διαμεμβρανική περιοχή καθώς και ένα ενδοκυττάριο τμήμα με δραστηριότητα τυροσινικής κινάσης.

Ο EGFR ανήκει στην οικογένεια των ανθρώπινων επιδερμικών υποδοχέων - human epidermal receptor (HER) και εμπλέκεται σε διαδικασίες κυτταρικού πολλαπλασιασμού, αύξησης και επιβίωσης. Η πρόσδεση κάποιου προσδέτη

στον EGFR επάγει τη δημιουργία ομοδιμερών και ετεροδιμερών με άλλα μέλη της οικογένειας και ενεργοποιεί το ενδοκυττάριο τμήμα τυροσινικής κινάσης. Με αυτόν τον τρόπο δημιουργείται ένας καταρράκτης φωσφορυλιώσεων που μεταγγούν το μήνυμα στον πυρήνα του κυττάρου ρυθμίζοντας τη διαδικασία μεταγραφής ορισμένων γονιδίων. Τα γονίδια αυτά σχετίζονται με τον κυτταρικό κύκλο, την κυτταρική διαφοροποίηση, απόπτωση, διήθηση, μετάσταση, αγγειογένεση καθορίζοντας το δυναμικό της κακοήθους διεργασίας.

Το σύμπλεγμα υποδοχέα-προσδέτη ενδοκυττάρωνεται για να τερματιστεί η μετάδοση του μηνύματος και ο υποδοχέας είτε ανακυκλώνεται είτε αποδομείται ανάλογα με τις επικρατούσες συν-

θήκες στο μικροπεριβάλλον του. Παρέμβαση στο τελευταίο στάδιο τροποποιεί τα επίπεδα του υποδοχέα επηρεάζοντας τη δραστική του συγκέντρωση στη μεμβράνη.

Ο EGFR διεγείρεται από αυξητικούς παράγοντες όπως ο EGF και ο TGF-α (πίνακας 1). Οι αγωνιστές αυτοί προάγουν την ανάπτυξη του όγκου *in vitro*³⁰ και παράγονται από όγκους που εκφράζουν τον EGFR, υποδηλώνοντας ότι αυτοκρινικοί διεγερτικοί μηχανισμοί ενδεχομένως συμμετέχουν στην EGFR-εξαρτώμενη ανάπτυξη του όγκου³⁰.

Πίνακας 1: Ενδογενείς προσδέτες του EGFR.

EGF
TGF-α
Amphiregulin
Heparin – binding EGF
Epiregulin
Betacellulin

Ο EGFR υπερέκφράζεται σε αριθμό συμπαγών όγκων όπως καρκινώματα του παχέος εντέρου, πνευμόνων, κεφαλής και τραχήλου, μαστού, παγκρέατος, γλοιώματα κ.α. Μεταλλάξεις του υποδοχέα έχουν ανευρεθεί σε διάφορους όγκους³¹. Το αλληλόμορφο EGFRvIII περιέχει μια συνεχώς ενεργοποιημένη περιοχή τυροσινικής κινάσης η οποία στέλνει εκσεσημασμένα σήματα για κυτταρική διαίρεση. Προκλινικά δεδομένα έχουν συσχετίσει την υπερέκφραση του EGFR με αυξημένη διηθητική συμπεριφορά του όγκου³², αγγειογένεση³³ και μετάσταση³⁴. Η συσχέτιση επιβίωσης και υπερέκφρασης του EGFR διερευνήθηκε σε μετα-ανάλυση δεδομένων με περισσότερους από 20.000 ασθενείς³⁵, (πίνακας 2).

Η στόχευση αυτού του κομβικού υποδοχέα επιχειρήθηκε από ετών με μονοκλωνικά αντισώματα που προσδένονται

στο εξωκυττάριο τμήμα του. Σε μια από τις αρχικές κλινικές μελέτες ανοσοθεραπείας που πραγματοποιήθηκε από την ερευνητική μας ομάδα³⁶ χορηγήθηκε ραδιοεπισημασμένο με ¹³¹I αντι-EGFR μονοκλωνικό αντίσωμα σε ασθενείς με υψηλής κακοήθειας γλοιώματα εγκεφάλου.

Πίνακας 2: Συσχέτιση μεταξύ υπερέκφρασης EGFR και επιβίωσης σε ασθενείς με συμπαγείς όγκους

Προγνωστική σημασία	Υψηλή	Μέτρια	Χαμηλή
Όγκοι	κεφαλής-τραχήλου ωοθήκης	στομάχου μαστού	ΜΜΚΠ*
	τραχήλου μήτρας	ενδομητρίου	
	ουροδόχου κύστεως	παχέος εντέρου	
	οισοφάγου		

*ΜΜΚΠ: μη μικροκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα

Η δόση της ακτινοθεραπείας στον όγκο ήταν ιδιαίτερα περιορισμένη και δεν αναμενόταν αξιολογικό θεραπευτικό αποτέλεσμα. Ωστόσο, σε ορισμένους ασθενείς καταγράφηκαν ανταποκρίσεις της νόσου και βελτίωση των κλινικών ευρημάτων σε μεγάλο ποσοστό των ασθενών που προφανώς οφείλονταν στην αντινεοπλασματική δράση του αντι-EGFR μονοκλωνικού αντισώματος στον αντίστοιχο υποδοχέα ή σε ενεργοποίηση άλλων μηχανισμών³⁶. Μέχρι σήμερα έχουν αναπτυχθεί 5 αντι-EGFR μονοκλωνικά αντισώματα η δράση των οποίων διερευνάται σε κλινικές μελέτες (πίνακας 3) και ορισμένα από αυτά χρησιμοποιούνται με επιτυχία στη σύγχρονη θεραπευτική των συμπαγών όγκων όπως τα καρκινώματα παχέος εντέρου και κεφαλής-τραχήλου.

Πίνακας 3. Αντι- EGFR μονοκλωνικά αντισώματα σε κλινικές μελέτες.

C225	[140]	Φάση II, III	Κεφαλή -τραχήλος, παχύ έντερο, ΜΜΚΠ*, πάγκρεας
ABX-EGF	[140]	Φάση II, III	Παχύ έντερο, νεφροί, ΜΜΚΠ*, προστάτης
ICR-62	[140]	Φάση I, II	Κεφαλή -τραχήλος
h-R3	[140]	Φάση II	Κεφαλή -τραχήλος
EMD 72000	[140]	Φάση I	Ποικίλοι όγκοι

*ΜΜΚΠ: μη μικροκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα

CETUXIMAB (C225)

Το αντίσωμα C225 είναι ένα χημειοθεραπευτικό μόριο 154 Kd, το οποίο έχει μεγαλύτερη συγγένεια με τον υποδοχέα από τους ενδογενείς προσδέτες. Η σύνδεση του στον υποδοχέα αναστέλλει τον κυτταρικό κύκλο μέσω του p27kip1, ενός αναστολέα κυκλινοεξααρτώμενης κινάσης. Το C225 αναστέλλει επίσης την αγγειογένεση, τη διήθηση, τη μετάσταση, την επιδιόρθωση του DNA και επάγει την απόπτωση^{37,38}. Τροποποίηση των επιπέδων του υποδοχέα και μηχανισμός ADCC επίσης αναφέρονται ως πιθανοί μηχανισμοί δράσης του αντισώματος^{39,40}.

Προκλινικά δεδομένα

Το cetuximab εμφάνισε ανασταλτική δράση σε ποικίλες καρκινικές κυτταρικές σειρές όπως παχέος εντέρου, κεφαλής και τραχήλου, μαστού, νεφρού και ουροδόχου κύστεως. Το αντίσωμα συνδυάστηκε με διάφορα χημειοθεραπευτικά σχήματα^{41,42}, με ακτινοθεραπεία^{43,44} καθώς και με antisense ολιγονουκλεοτίδια⁴⁵. Ο συνδυασμός του αντισώματος με 5-φθοροισουρακίνη, λευκοβορίνη και ιρινοτεκάνη σε προκλινικά μοντέλα με ξενομοσχέματα καρκίνου παχέος εντέρου σε επίμυες με επίκτητη ανοσοκαταστολή (nude mice) ανέδειξε συνεργική αναστολή της ανάπτυξης του όγκου⁴⁶.

Επιπλέον, το cetuximab προκάλεσε αναστολή του κυτταρικού κύκλου και μείωσε τον πολλαπλασιασμό σε κυτταρική καλλιέργεια με καρκινικά κύτταρα προστατικού αδένου⁴⁷.

Κλινικά δεδομένα – Μελέτες φάσης I

Η χορήγηση σε ογκολογικούς ασθενείς του cetuximab σε δόση εφόδου 400mg/m² ακολουθούμενη από δόση 250mg/m² επιλέχθηκε από μελέτες φάσης I για περαιτέρω μελέτες φάσης II και III. Σε μελέτες φάσης I, στις οποίες το cetuximab χορηγήθηκε μόνο του καθώς επίσης και σε συνδυασμό με cisplatin⁴⁸, διαπιστώθηκε καλή ανοχή και αποδεκτή τοξικότητα. Οι συχνότερες ανεπιθύμητες ενέργειες που καταγράφηκαν ήταν δερματικό εξάνθημα, κακουχία, ναυτία, αντιδράσεις έγχυσης και αύξηση των ηπατικών ενζύμων. Σε άλλη μελέτη φάσης I διερευνήθηκε ο συνδυασμός του μονοκλωνικού αντισώματος, χορηγούμενο σε εβδομαδιαία βάση για επτά εβδομάδες με ακτινοθεραπεία σε ασθενείς με προχωρημένο επιδερμοειδές καρκίνωμα κεφαλής-τραχήλου και διαπιστώθηκε ποσοστό ανταπόκρισης της νόσου 93% (14 στους 15 ασθενείς)⁴⁹.

Μελέτες φάσης II

Ο συνδυασμός του cetuximab με πλατίνη και καρβοπλατίνη διερευνήθηκε σε ασθενείς με μεταστατικό επιδερμοειδές καρκίνωμα κεφαλής-τραχήλου ανθεκτικό στην πλατίνη όπου διαπιστώθηκε ανταπόκριση της νόσου σε ποσοστό 14.6% και στασιμότητα της νόσου ή μικρού βαθμού ανταπόκριση σε ποσοστό 40% με ικανοποιητική ανοχή⁵⁰. Σε άλλη πολυκεντρική μελέτη φάσης II διερευνήθηκε η χρήση του αντισώματος ως μονοθεραπεία σε 57 ασθενείς με καρκί-

νο παχέος εντέρου ανθεκτικό στο συνδυασμό ιρινοτεκάνης και 5-φθοριουρακίλης⁵¹. Έξι ασθενείς (10,5%) παρουσίασαν μερική ανταπόκριση της νόσου και 13 (36,8%) μικρό βαθμό ανταπόκρισης ή στασιμότητα της νόσου. Οι συχνότερες ανεπιθύμητες ενέργειες ήταν δερματικό εξάνθημα (86%) και κακουχία (53%).

Σε κλινική μελέτη φάσης II σε 138 ασθενείς με ανθεκτικό στην ιρινοτεκάνη και EGFR θετικό μεταστατικό καρκίνωμα παχέος εντέρου διερευνήθηκε η σημασία της προσθήκης του cetuximab στη χημειοθεραπεία με ιρινοτεκάνη. Το ποσοστό ανταπόκρισης και το ποσοστό σταθερότητας της νόσου ήταν 15% και 61% αντίστοιχα, ενώ η εμφάνιση του δερματικού εξανθήματος συσχετίστηκε με βελτιωμένη ανταπόκριση στη θεραπευτική αγωγή⁵². Σε δύο ακόμα μελέτες φάσης II, οι οποίες διερεύνησαν το συνδυασμό του cetuximab με ιρινοτεκάνη, 5-φθοριουρακίλη και λευκοβορίνη διαπιστώθηκε ιδιαίτερα αυξημένο ποσοστό μερικής ανταπόκρισης της νόσου (44%)^{53,54}.

Μελέτη BOND

Η κλινική μελέτη BOND είναι τυχαioποιημένη μελέτη φάσης II⁵⁵ που πραγματοποιήθηκε για να επιβεβαιώσει τις μη-τυχαioποιημένες μελέτες και ειδικότερα την αποτελεσματικότητα του cetuximab σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνωμα παχέος εντέρου ανθεκτικό στη χημειοθεραπεία που περιλαμβάνει την ιρινοτεκάνη και υπερέκφραση του EGFR. Ο σκοπός της μελέτης ήταν να διερευνήσει εάν η προσθήκη του αντισώματος στη συγκεκριμένη χημειοθεραπεία μπορούσε να αντιστρέψει την ανθεκτικότητα της νόσου στο συγκεκριμένο παράγοντα και να συγκρίνει το συνδυασμό με

τη χορήγηση του αντισώματος ως μονοθεραπεία. Στη μελέτη τυχαioποιήθηκαν 329 ασθενείς να λάβουν το συνδυασμό ή μόνο το αντίσωμα σε αναλογία 2 προς 1 (218 έναντι 111 ασθενείς, αντίστοιχα).

Τα ποσοστά ανταπόκρισης της νόσου ήταν 17,9% με το συνδυασμό και 9,9% με τη μονοθεραπεία με το αντίσωμα ($p=0,0074$) και τα ποσοστά στασιμότητας της νόσου ήταν 56% και 32% αντίστοιχα ($p=0,001$). Ο χρόνος ως την εμφάνιση προόδου της νόσου ήταν 4,1 μήνες έναντι 1,5 μήνες και η μέση επιβίωση 8,6 μήνες έναντι 6,9 μήνες, αποτελέσματα που ευνοούν σημαντικά τη θεραπευτική αντιμετώπιση των ασθενών με το συνδυασμό.

Ο συγκεκριμένος συνδυασμός εμφάνισε αποδεκτή και αναστρέψιμη τοξικότητα. Το δερματικό εξάνθημα θεωρήθηκε ευνοϊκός προβλεπτικός παράγοντας για την εμφάνιση ανταπόκρισης της νόσου στη θεραπεία. Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης ενισχύουν την περαιτέρω διερεύνηση συνδυασμών του μονοκλωνικού αντισώματος και με άλλα χημειοθεραπευτικά φάρμακα.

HER-2 (NEU, C-erbB2, EGFR2)

Ο υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα-2 (HER-2) υπερεκφράζεται στο 25-30% των καρκινωμάτων του μαστού, αλλά και σε αδενοκαρκινώματα ωθήκης, πνεύμονα, προστάτη και γαστροεντερικού συστήματος. Παρόλο που δεν έχουν ανευρεθεί ενδογενείς προσδέτες του, ο υποδοχέας φαίνεται ότι συμμετέχει σε σχηματισμό ομο/ετεροδιμερών στη μεμβράνη των καρκινικών κυττάρων τα οποία σηματοδοτούν ακατάπαυστη κυτταρική διαίρεση και αναστολή της απόπτωσης διαμέσου ρύθμισης μεταγωγικών μονοπατιών (MAPK και IP3/Akt). Η υπερέκφραση του HER-2 θε-

ωρείται ότι συμβαίνει στα αρχικά στάδια της καρκινογένεσης προάγοντας την αύξηση και την επιθετική συμπεριφορά του όγκου⁵⁶, αποτελεί αρνητικό προογνωστικό παράγοντα για τον καρκίνο του μαστού και συσχετίζεται με μειωμένη επιβίωση των ασθενών⁵⁷. Επίσης, χρησιμοποιείται ως προβλεπτικός παράγοντας για πιθανή εμφάνιση ανταπόκρισης της νόσου στη θεραπεία με το μονοκλωνικό αντίσωμα trastuzumab σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία⁵⁸, ενώ αποτελεί στόχο ανοσοβιολογικής θεραπείας εξαιτίας της υπερέκφρασης του στα καρκινικά κύτταρα.

TRASTUZUMAB

Το Trastuzumab είναι ένα ανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα που αντιδρά ανοσολογικά με το εξωκυττάριο τμήμα του HER-2, το οποίο εγκρίθηκε από το FDA και τον EMEA το 1998 για τη θεραπεία ασθενών με μεταστατικό καρκίνωμα του μαστού (ΜΚΜ) και υπερέκφραση του HER-2. Η υπερέκφραση της πρωτεΐνης HER-2 (3+) αξιολογείται με ανοσοϊστοχημεία, ενώ η ενίσχυση του γονιδίου ελέγχεται με τεχνικές υβριδισμού (fluorescent in situ hybridization, FISH). Στον πίνακα 4 παρατίθενται οι μηχανισμοί δράσης αυτού του μονοκλωνικού αντισώματος.

Πίνακας 4: Μηχανισμοί δράσης του Trastuzumab.

Αναστολή κυτταρικού πολλαπλασιασμού
Επαγωγή απόπτωσης
Αναστολή επιδιόρθωσης βλαβών του DNA
Διαμεσολάβηση βλάβης στο DNA
Αντι-αγγειογενετικές ιδιότητες
Ανοσολογική ρύθμιση (ADCC, αύξηση δραστηριότητας Τ λεφοκυττάρων (CTL) in vitro και in vivo)

Μελέτες φάσης I

Κλινικές δοκιμές με το trastuzumab

άρχισαν το 1992 με τρεις μελέτες φάσης I στις οποίες διερευνήθηκε εκτός από τη δοσολογία, η ασφάλεια και οι φαρμακοκινητικές του ιδιότητες. Το αντίσωμα χρησιμοποιήθηκε μόνο ή σε συνδυασμό με πλατίνη σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο του μαστού⁵⁹. Το δοσολογικό σχήμα καθορίστηκε σε εβδομαδιαία βάση χωρίς δοσοπεριοριστικές ανεπιθύμητες ενέργειες σε δόσεις μεταξύ 10 mg και 500 mg.

Μελέτες φάσης II (πίνακας 5)

Σε μια αρχική μελέτη φάσης II, 46 ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα του μαστού έλαβαν 250 mg trastuzumab ως δόση εφόδου ανά εβδομάδα ακολουθούμενη από 100 mg για δόση συντήρησης ανά εβδομάδα μέχρι η νόσος να εμφανίσει περαιτέρω επιδείνωση και το ποσοστό ανταπόκρισης της νόσου ήταν 11,6%⁶⁰.

Σε άλλη πολυκεντρική μελέτη σε ασθενείς με ανθεκτικό στη χημειοθεραπεία ΜΚΜ⁶¹, το trastuzumab χορηγήθηκε με το ίδιο δοσολογικό σχήμα σε συνδυασμό με πλατίνη. Η μέση επιβίωση ήταν 5,3 μήνες και το ποσοστό ανταπόκρισης της νόσου 24%, ενώ δεν παρατηρήθηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες εκτός από αυτές της πλατίνης. Σε αυτές τις μελέτες καθορίστηκε η δόση εφόδου στα 4mg/kg ακολουθούμενη από δόση συντήρησης 2mg/kg που θεωρείται επαρκής για τη διατήρηση συγκέντρωσης 10-20 µg/ml του φαρμάκου στον ορό, η οποία είχε χαρακτηριστεί ως αποτελεσματική στις προκλινικές μελέτες.

Το trastuzumab χορηγήθηκε επίσης ως μονοθεραπεία σε 222 ασθενείς με HER-2 θετικό ΜΚΜ στα πλαίσια άλλης φάσης II μελέτης⁶². Με μέσο διάστημα παρακολούθησης 12,8 μηνών το ποσοστό ανταπόκρισης της νόσου ήταν 15%, ενώ συνολικά η μέση διάρκεια ανταπόκρισης

ήταν 9,1 μήνες, η μέση επιβίωση 13 μήνες και το διάστημα για επιδείνωση της νόσου 3,1 μήνες. Σε μετα-ανάλυση διαπιστώθηκε ότι οι ασθενείς με ανοσοϊστοχημική υπερέκφραση του HER-2 (3+)

επωφελήθηκαν από το μονοκλωνικό αντίσωμα περισσότερο από τους ασθενείς με έκφραση του HER-2 (2+). Το φάρμακο είχε ένα σχετικά ήπιο προφίλ τοξικότητας.

Πίνακας 5: Κλινικές μελέτες με το Trastuzumab σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνωμα του μαστού.

Φάση	Ασθενείς	Σχήμα-Θεραπεία	Ποσοστό ανταπόκρισης	Πηγή
II	46	μονοθεραπεία 2 ^η – 3 ^η γραμμής	11,6%	59
II	37	T+cisplatin 2 ^η – 3 ^η γραμμής	24%	60
II	222	μονοθεραπεία 2 ^η – 3 ^η γραμμής	15%	61
II	114	μονοθεραπεία 1 ^η γραμμής	26%	62
III	469	T+C vs C μόνον 1 ^η γραμμής	50% vs 32%	63
II	186	T+D vs D μόνον 1 ^η γραμμής	61% vs 34%	64
II	40	T+V 1 ^η γραμμής	84%	65
II	40	T+V 2 ^η - 3 ^η γραμμής	64-71%	65
II	37	T+V 1 ^η γραμμής	78%	66
II	30	T+D	63%	67
II	25	T+E+CY	71%	68
II	64	T+G	37%	69
II	27	T+G+P	44%	70
II	13	T+Cap 2 ^η γραμμής	47%	71
II	62	T+D+cisplatin	79%	72
III	191	T+P	36%	73
II	38	T+D+Carbo 1 ^η γραμμής	82%	74
II	36	T+P+Carbo	50-78%	75
II	40	T+P+G 1 ^η γραμμής	52,5%	141

T: trastuzumab, C: χημειοθεραπεία, CY: κυκλοφωσφαμίδη, D: δοσεταξέλη, V: βινορελμπίνη
P: πακλιταξέλη, Carbo: καρβοπλατίνη, G: τζεμισιταμπίνη, Cap: καπεσιταμπίνη

Η αντίδραση κατά την έγχυση (πυρετός, ρίγος) αποτέλεσε την πλέον συχνή ανεπιθύμητη ενέργεια, ενώ μόνο 9 ασθενείς παρουσίασαν μείωση >10% του κλάσματος εξώθησης της αριστερής κοιλίας.

Σε άλλη πολυκεντρική μελέτη φάσης II, 114 ασθενείς με MKM τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν trastuzumab είτε σε δόση εφόδου 4mg/kg ακολουθούμενη από δόση 2mg/kg εβδομαδιαίως είτε σε δόση

εφόδου 8mg/kg ακολουθούμενη από δόση 4mg/kg εβδομαδιαίως⁶³. Το ποσοστό ανταπόκρισης ήταν 26%, ενώ αν συμπεριληφθούν και οι ασθενείς που παρουσίασαν στασιμότητα νόσου το ποσοστό φτάνει στο 38%. Η αυξημένη δόση δεν παρουσίασε διαφορά στην ανταπόκριση, επιβίωση και στις ανεπιθύμητες ενέργειες και γενικά η αύξηση της δόσης του trastuzumab δεν προσέφερε θεραπευτικό πλεονέκτημα. Οι ασθενείς με ανοσοϊ-

στοχημική υπερέκφραση HER-2 (3+) είχαν μεγαλύτερο όφελος από τους ασθενείς με έκφραση του HER-2 (2+).

Μελέτες φάσης III

Μια πολυεθνική προοπτική τυχαιοποιημένη μελέτη φάσης III διερεύνησε το συνδυασμό του trastuzumab με χημειοθεραπεία έναντι μόνο χημειοθεραπείας σε 469 μη προθεραπευμένους ασθενείς με HER-2 θετικό MKM⁶⁴. Ασθενείς που δεν είχαν υποβληθεί σε προηγούμενη συμπληρωματική θεραπεία με ανθρακυκλίνες έλαβαν δοξορουβικίνη 60mg/m² (ή επιρουμπικίνη 75mg/m²) μαζί με κυκλοφωσφαμίδη 600mg/m² κάθε τρεις εβδομάδες με ή χωρίς την προσθήκη του trastuzumab.

Ασθενείς που είχαν υποβληθεί σε συμπληρωματική θεραπεία με ανθρακυκλίνη έλαβαν πακλιταξέλη 175mg/m² κάθε τρεις εβδομάδες με ή χωρίς trastuzumab. Η χημειοθεραπεία χορηγήτο σε έξι κύκλους, το trastuzumab χορηγήθηκε σε δόση εφόδου 4mg/kg ακολουθούμενη από δόση 2mg/kg εβδομαδιαίως και η μέση διάρκεια παρακολούθησης ήταν 30 μήνες.

Η προσθήκη του αντισώματος στη θεραπευτική αγωγή με πακλιταξέλη αύξησε το ποσοστό ανταπόκρισης της νόσου από 17% σε 41% (p<0,001) και τη διάρκεια ανταπόκρισης από 4,5 σε 10,5 μήνες (p<0,01). Η προσθήκη του MAb στο σχήμα με ανθρακυκλίνη αύξησε επίσης τις αντίστοιχες παραμέτρους από 42% σε 56% (p=0,02) και από 6.7 σε 9.1 μήνες (p=0,005). Στατιστικά σημαντική υπέρ του συνδυασμού ήταν και η διαφορά στην ποιότητα ζωής των ασθενών. Η προσθήκη trastuzumab στη χημειοθεραπεία με αδριαμυκίνη και κυκλοφωσφαμίδη εμφάνισε όμως συχνότερα καρδιοτοξικότητα (27% έναντι 8%), ενώ αντί-

στοιχο αποτέλεσμα διαπιστώθηκε και στη θεραπεία με την πακλιταξέλη (13% έναντι 1%).

Αυτά τα κλινικά δεδομένα οδήγησαν στην έγκριση του trastuzumab από το FDA σε συνδυασμό με πακλιταξέλη για τη θεραπεία πρώτης γραμμής ασθενών με HER-2 θετικό (3+) MKM. Επίσης, το μονοκλωνικό αυτό αντίσωμα εγκρίθηκε για θεραπεία 2^{ης} και 3^{ης} γραμμής σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία σε ασθενείς με MKM. Η χορήγηση του trastuzumab σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία ταυτόχρονα ή διαδοχικά φαίνεται ότι πλεονεκτεί σε σχέση με τη χορήγησή του αργότερα κατά την πορεία της νόσου.

Πρόσφατη μελέτη συνέκρινε το συνδυασμό δοσεταξέλης και trastuzumab σε σχέση με μονοθεραπεία με δοσεταξέλη σε ασθενείς με HER-2 θετικό MKM⁶⁵. Το ποσοστό ανταπόκρισης της νόσου (61% έναντι 34%, p=0,0002), η συνολική μέση επιβίωση (31,2 έναντι 22,7 μήνες, p=0,0325) και η διάρκεια της ανταπόκρισης (11,7 έναντι 5,7 μήνες, p=0,009) εννόησαν τη θεραπευτική αγωγή με το συνδυασμό. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες δε διέφεραν στις δύο ομάδες με εξαίρεση τη σοβαρή εμπύρετη ουδετεροπενία που ήταν συχνότερη στην ομάδα των ασθενών που έλαβαν το συνδυασμό.

Συνδυασμός του trastuzumab με χημειοθεραπεία (πίνακας 5)

Οι πιο συχνοί συνδυασμοί στη κλινική πράξη⁶⁶⁻⁷⁶ περιλαμβάνουν το trastuzumab μαζί με βινορελμπίνη (ποσοστό ανταπόκρισης της νόσου (ΠΑΝ): 75-78%), με ταξόλη σε ποικίλα δοσολογικά σχήματα (ΠΑΝ: 36-63%), με πλατίνη και ταξόλη (ΠΑΝ: 50-82%). Οι συνδυασμοί αυτοί στηρίζονται στην ιδιότητα του trastuzumab να μειώνει την ικανότητα επιδιόρθωσης του DNA και να αυξάνει

την ευαισθησία των καρκινικών κυττάρων στην απόπτωση. Άλλοι συνδυασμοί αφορούν το trastuzumab με ανθρακυκλίνες (PIAN: 71%), καπεσιταμπίνη (PIAN: 47%), τζεμισιταμπίνη (PIAN: 37%), τζεμισιταμπίνη και πακλιταξέλη (PIAN: 44%). Επίσης, το trastuzumab βελτιώνει τα θεραπευτικά αποτελέσματα της ακτινοθεραπείας⁷⁷ και ο συνδυασμός αυτών των θεραπευτικών προσεγγίσεων αναμένεται να χρησιμοποιηθεί στο μέλλον σε ασθενείς με MKM.

Ο ρόλος του HER-2 στην ορμονική θεραπεία

Ασθενείς με όγκους που υπερεκφράζουν το HER-2 εμφανίζουν χαμηλότερα ποσοστά ανταπόκρισης της νόσου στην ορμονική θεραπεία και αυτό έχει συσχετισθεί με μειωμένα επίπεδα ορμονικών υποδοχέων σε κύτταρα που υπερεκφράζουν το HER-2⁷⁸. Η μεταφορά του γονιδίου HER-2 σε καρκινικές κυτταρικές σειρές οδήγησε σε μείωση της έκφρασης των ορμονικών υποδοχέων⁷⁸. Κλινικές μελέτες σε ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα μαστού και θετικούς ορμονικούς υποδοχείς που υποβλήθηκαν σε ορμονική θεραπεία, έδειξαν αντιφατικά αποτελέσματα μεταξύ ανταπόκρισης στη θεραπεία και υπερέκφρασης του HER-2^{79,80}. Μια αναδρομική μελέτη σε ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα μαστού χωρίς διηθημένους από τη νόσο λεμφαδένες, οι οποίοι έλαβαν ταμοξιφαίνη έδειξε μειωμένη ανταπόκριση σε όγκους με υπερέκφραση του HER-2⁸¹.

Σε άλλη αναδρομική μελέτη 241 ασθενών με MKM, η υπερέκφραση του HER-2 χαρακτηρίστηκε ως ανεξάρτητος δείκτης αντίστασης σε ορμονικούς χειρισμούς⁸². Δύο άλλες μελέτες συσχέτισαν τα αυξημένα επίπεδα HER-2 (>15 ng/ml) στον ορό αίματος με χαμηλή ανταπό-

κριση στην ορμονική θεραπεία^{83,84}. Σε κλινική μελέτη πραγματοποιήθηκε σύγκριση της ταμοξιφαίνης με τη λετροζόλη ως πρώτης γραμμής θεραπεία σε MKM και συσχετίστηκαν τα αυξημένα επίπεδα του HER-2 με μειωμένη ανταπόκριση της νόσου στις ορμονοθεραπείες⁸⁴. Η λετροζόλη παρουσίασε καλύτερα αποτελέσματα από την ταμοξιφαίνη, ευρήματα που συνηγορούν ότι οι αναστολείς αρωματάσης είναι η ορμονοθεραπεία εκλογής σε MKM με υπερέκφραση HER-2.

Συνδυασμοί με νέα βιολογικά φάρμακα

Διπλή ταυτόχρονη στόχευση του HER-2 υποστηρίζεται από το συνεργικό αποτέλεσμα που εμφανίζει ο συνδυασμός trastuzumab και gefitinib, ενός αναστολέα της τυροσινικής κινάσης του EGFR⁸⁵, καθώς και εκείνος του trastuzumab με το pertuzumab, ένα άλλο αντίσωμα έναντι του HER-2⁸⁶. Νέες στρατηγικές περιλαμβάνουν συνδυασμούς του trastuzumab με το lapatinib (GW572016), ενός μικτού αναστολέα EGFR/HER-2, με κυτοκίνες (IL-2, IL-12) και με τον αναστολέα VEGF bevacizumab.

In vivo προκλινικά δεδομένα έδειξαν ότι η ιντερλευκίνη-12 έχει αξιόλογη αντικαρκινική δράση⁸⁷, και σε μελέτη φάσης I δε διαπιστώθηκε σημαντική τοξικότητα πλην αναστρέψιμης λεμφοπενίας⁸⁸. Σε άλλη μελέτη φάσης I, η οποία διερεύνησε την ενδοφλέβια χορήγηση ιντερλευκίνης-12 σε συνδυασμό με trastuzumab σε επτά ασθενείς με HER-2(+) όγκους, μια γυναίκα με MKM εμφάνισε πλήρη ανταπόκριση της νόσου (89). Σε μελέτη φάσης I σε ασθενείς με MKM, όπου χορηγήθηκε αυτή τη φορά ιντερλευκίνη-2 υποδόρια με trastuzumab, ένας ασθενής παρουσίασε μερική ανταπόκριση και πέντε ασθενείς εμφάνισαν

στασιμότητα της νόσου⁹⁰. Επιπλέον, σε μελέτη φάσης I που διερεύνησε το συνδυασμό lapatinib και trastuzumab σε ασθενείς με MKM έξι από τους 26 ασθενείς παρουσίασαν μερική ανταπόκριση της νόσου (91). Τέλος, ο συνδυασμός bevacizumab και trastuzumab αποτελεί θεραπευτική πρόκληση και διερευνάται σε κλινικές μελέτες φάσης I/II⁹².

Ο ρόλος του Trastuzumab στη συμπληρωματική θεραπεία του καρκίνου του μαστού

Πέντε μεγάλες κλινικές μελέτες σε περισσότερους από 12.000 ασθενείς έχουν πραγματοποιηθεί για να διερευνηθούν το ρόλο του trastuzumab στη συμπληρωματική θεραπεία ασθενών με καρκίνο του μαστού⁹³. Το Φεβρουάριο του 2004 η πρώτη από αυτές (BCIRG006) ολοκλήρωσε την ένταξη ασθενών.

Στη μελέτη αυτή 3.150 ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν σε ομάδα ελέγχου (4 κύκλοι αδριαμυκίνης-κυκλοφωσφαμίδης ακολουθούμενοι από 4 κύκλους δοσεταξέλης) και σε δύο πειραματικές ομάδες. Οι ασθενείς της πρώτης πειραματικής ομάδας έλαβαν 4 κύκλους αδριαμυκίνης-κυκλοφωσφαμίδης ακολουθούμενους από 4 κύκλους δοσεταξέλης σε συνδυασμό με trastuzumab εβδομαδιαίως και στη συνέχεια μόνο trastuzumab για 40 επιπλέον εβδομάδες. Οι ασθενείς της δεύτερης πειραματικής ομάδας έλαβαν έξι κύκλους δοσεταξέλης και πλατίνης σε συνδυασμό με trastuzumab και στη συνέχεια trastuzumab κάθε τρεις εβδομάδες (συνολικά 52 εβδομάδες θεραπείας με το αντίσωμα).

Στη μελέτη της NSABP B-31 οι ασθενείς έλαβαν 4 κύκλους αδριαμυκίνης-κυκλοφωσφαμίδης ακολουθούμενους από 4 κύκλους μόνο δοσεταξέλης ή σε συνδυασμό με trastuzumab με συνολικό

διάστημα θεραπείας με το αντίσωμα 52 εβδομάδων. Η μελέτη NCCTG N9831 τυχαιοποίησε τους ασθενείς μετά τη συμπλήρωση 4 κύκλων αδριαμυκίνης-κυκλοφωσφαμίδης. Η ομάδα ελέγχου έλαβε πακλιταξέλη για 12 εβδομάδες, ενώ οι πειραματικές ομάδες έλαβαν εβδομαδιαίως trastuzumab για ένα χρόνο μαζί με πακλιταξέλη ξεκινώντας είτε ταυτόχρονα είτε μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας με πακλιταξέλη.

Η μελέτη PACS 004 πραγματοποιήθηκε σε ασθενείς με διηθημένους λεμφαδένες οι οποίοι έλαβαν έξι κύκλους του σχήματος FEC100 είτε του συνδυασμού επιρουμπικίνης και πακλιταξέλης. Μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν είτε να λάβουν trastuzumab κάθε τρεις εβδομάδες είτε να τεθούν υπό παρακολούθηση. Τέλος, η μελέτη HERA τυχαιοποίησε γυναίκες σε απλή παρακολούθηση ή σε θεραπεία με trastuzumab κάθε τρεις εβδομάδες για ένα ή δύο έτη μετά το τέλος της ενδεδειγμένης κατά την κρίση των θεραπόντων ιατρών συμπληρωματικής χημειοθεραπείας.

Κλινικά δεδομένα και πρώιμα αποτελέσματα από αυτές τις μελέτες παρουσιάστηκαν στο ASCO 2005⁹⁴ και δείχνουν ότι το trastuzumab πράγματι αυξάνει το ελεύθερο νόσου διάστημα σε ασθενείς με τοπικά προχωρημένη νόσο. Έτσι το φάρμακο πήρε έγκριση από το FDA και τον EMEA, για συμπληρωματική θεραπεία ασθενών με πρώιμο καρκίνο μαστού και υπερέκφραση HER-2. Ωστόσο, τα δεδομένα είναι ανεπαρκή για τον καθορισμό της βέλτιστης διάρκειας της θεραπείας. Μια σημαντική ανεπιθύμητη ενέργεια σε αυτές τις μελέτες ήταν η καρδιοτοξικότητα από το μονοκλωνικό αντίσωμα, η οποία ήταν σχετικά συχνή

κατά τη διάρκεια της θεραπείας.

Ενδεικτικά, στη μελέτη B-31 το ποσοστό συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας ήταν 4% στην ομάδα που ελάμβανε trastuzumab έναντι 0,6% στην ομάδα ελέγχου. Μακροπρόθεσμη παρακολούθηση των ασθενών που εμφάνισαν καρδιοτοξικές επιπλοκές κατά τη θεραπεία με το trastuzumab θα διευκρινίσει εάν αυτές οι επιδράσεις είναι αναστρέψιμες μετά τη διακοπή της χορήγησης του φαρμάκου.

Γενικά, οι συχνότερες ανεπιθύμητες ενέργειες του συγκεκριμένου μονοκλωνικού αντισώματος αφορούν πυρετό, ρίγος, ναυτία, εμετό, κεφαλαλγία και κόπωση, αντιδράσεις που παρουσιάζονται στο 35-40% των ασθενών κατά την αρχική έκθεση στο φάρμακο⁹⁵. Η επιβράδυνση ή η διακοπή της έγχυσης και η χορήγηση συμπτωματικής αγωγής οδηγεί σε ύφεση αυτών των εκδηλώσεων. Έλεγχος της καρδιακής λειτουργίας ενδείκνυται σε όλους τους υπό αγωγή ασθενείς και διακοπή της θεραπείας με το trastuzumab ενδείκνυται απόλυτα όταν το κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας μειωθεί κατά 30% σε συμπτωματικούς ασθενείς⁹⁶.

Ο ρόλος του Trastuzumab στην προεγχειρητική θεραπεία του καρκίνου του μαστού

Μια πιλοτική μελέτη σε 40 γυναίκες με σταδίου II and III HER-2 θετικό αδενοκαρκίνωμα του μαστού διερεύνησε το συνδυασμό του trastuzumab σε εβδομαδιαία βάση με πακλιταξέλη 175 mg/m² κάθε τρεις εβδομάδες για 12 εβδομάδες συνολικά, ακολουθούμενο από χειρουργική αντιμετώπιση και συμπληρωματική θεραπεία⁹⁷. Κλινική ανταπόκριση της νόσου διαπιστώθηκε στο 75% και παθολογοανατομική ανταπόκριση στο 18%,

ενώ όλες οι ανταποκρίσεις αφορούσαν γυναίκες με ανοσοϊστοχημική χρώση HER-2 (3+). Η καρδιοτοξικότητα δεν ήταν συχνή. Ο συνδυασμός trastuzumab με δοσεταξέλη και πλατίνη διερευνήθηκε σε 16 γυναίκες με τοπικά προχωρημένο ή φλεγμονώδη καρκίνο του μαστού όπου διαπιστώθηκε κλινική ανταπόκριση της νόσου σε ποσοστό 100% και παθολογοανατομική 25%⁹⁸.

Ο συνδυασμός trastuzumab με βινορελβίνη χορηγήθηκε επίσης προεγχειρητικά σε γυναίκες με καρκίνο μαστού σταδίου II, III και ακολούθησε μετά την εγχείριση χημειοθεραπεία⁹⁹. Συγκεκριμένα, οι ασθενείς υψηλού κινδύνου έλαβαν στη συνέχεια trastuzumab με πακλιταξέλη. Τα ποσοστά κλινικής και παθολογοανατομικής ανταπόκρισης της νόσου ήταν 93% και 29% αντίστοιχα.

Τέλος, ο συνδυασμός ταυτόχρονης χορήγησης trastuzumab με χημειοθεραπεία σε 42 ασθενείς με πρώιμο καρκίνο μαστού αύξησε το ποσοστό παθολογοανατομικής ανταπόκρισης της νόσου από 25% σε 67% ($p=0,02$)¹⁰⁰.

Κλινικές μελέτες με το trastuzumab έχουν πραγματοποιηθεί και σε ασθενείς με καρκίνο ωθηκών και πρωτοπαθές περιτοναϊκό καρκίνωμα¹⁰¹. Μετά από χορήγηση οκτώ εβδομάδων θεραπείας το ποσοστό ανταπόκρισης της νόσου ήταν 7,3% και το μέσο διάστημα χωρίς επιδείνωση της νόσου δύο μήνες.

Κλινικές μελέτες φάσης II έχουν πραγματοποιηθεί και σε ασθενείς με μη μικροκυτταρικό καρκίνωμα των πνευμόνων διερευνώντας το συνδυασμό του μονοκλωνικού αντισώματος με χημειοθεραπευτικά σχήματα βασισμένα στην πλατίνη¹⁰² αλλά τα μέχρι τώρα αποτελέσματα δεν είναι ικανοποιητικά.

BEVACIZUMAB

Πρόκειται για εξανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα που αναστέλλει τις βιολογικές ιδιότητες του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (vascular endothelial growth factor, VEGF) και αναστέλλει τη σύνδεση με τον υποδοχέα του στο ενδοθήλιο των αγγείων¹⁰³. Ο παράγοντας αυτός έχει βασικό ρόλο στην νεοαγγειογένεση του όγκου, επάγοντας τη δημιουργία νεόπλαστων αγγείων και αυξάνοντας *in vivo* την αγγειακή διαπερατότητα¹⁰⁴.

Η διαδικασία της νεοαγγειογένεσης και ο βαθμός ανάπτυξης αγγειακού δικτύου στον όγκο σχετίζεται με κακή πρόγνωση της νόσου κι έχει διαπιστωθεί σε πολλά είδη κακόηθων όγκων¹⁰⁵. Η χορήγηση του bevacizumab οδήγησε σε σταθεροποίηση ή καταστολή ανάπτυξης όγκων σε πειραματόζωα. Σε επίμυες με ανθρώπινα ξενομοσχεύματα καρκίνου του μαστού το bevacizumab έδειξε συνεργική δράση με τη δοξορουβικίνη¹⁰⁶. Σε μελέτη φάσης I διερευνήθηκε η χορήγηση δόσεων από 0,1 ως 10 mg/kg χορηγούμενων τις ημέρες 1, 28, 35, 42 χωρίς να αναφερθούν μείζονες ανεπιθύμητες ενέργειες¹⁰⁷. Αύξηση της αρτηριακής πίεσης πάνω από 10 mm Hg παρατηρήθηκε σε δόσεις του αντισώματος από 3 ως 10 mg/kg, ενώ δύο ασθενείς ανέπτυξαν αιμορραγία στον όγκο σε δόση 3 mg/kg. Ωστόσο, δε διαπιστώθηκε αντικειμενική ανταπόκριση της νόσου.

Ο ρόλος του Bevacizumab στον καρκίνο του παχέος εντέρου

Σε μεγάλη πολυκεντρική διπλή-τυφλή μελέτη φάσης III¹⁰⁸ 925 ασθενείς χωρίς προηγούμενη θεραπεία τυχαιοποιήθηκαν σε τρεις ομάδες. Η πρώτη έλαβε ιρινοτεκάνη, 5-φθοριουρακίλη και λευκοβορίνη (σχήμα Saltz), η δεύτερη έλαβε το

σχήμα Saltz μαζί με bevacizumab και η τρίτη έλαβε 5-φθοριουρακίλη και λευκοβορίνη μαζί με bevacizumab. Η τρίτη ομάδα διεκόπη πρόωρα λόγω της υπερχείας του σχήματος Saltz σε σχέση με το συνδυασμό 5-φθοριουρακίλης και λευκοβορίνης ως προς την επιβίωση. Τελικά, ο συνδυασμός του σχήματος Saltz με bevacizumab διαπιστώθηκε ότι υπερέχει έναντι του σχήματος Saltz, με διάστημα συνολικής επιβίωσης 20,3 μήνες έναντι 15,6 μήνες ($p=0,00003$) και ποσοστό ανταπόκρισης της νόσου 45% έναντι 35% ($p=0,0029$) αντίστοιχα. Γενικά, οι μείζονες ανεπιθύμητες ενέργειες δε διέφεραν στις δύο ομάδες με εξαίρεση την υπέρταση βαθμού 3 που ήταν συχνότερη στην ομάδα που έλαβε το συνδυασμό (10,9% έναντι 2,3%).

Σε άλλη μελέτη φάσης III σε 757 ασθενείς με ΜΚΠΕ που είχαν υποβληθεί σε θεραπεία έγινε σύγκριση του συνδυασμού οξαλιπλατίνης με 5-φθοριουρακίλη και λευκοβορίνη μόνο ή μαζί με bevacizumab έναντι μονοθεραπείας με bevacizumab¹⁰⁹. Στη μελέτη αυτή πέντε θάνατοι ασθενών στη δεύτερη ομάδα και ένας θάνατος στην τρίτη ομάδα ενδεχομένως σχετίζονται με το μονοκλωνικό αντίσωμα. Υπήρξε επίσης συσχέτιση μεταξύ του bevacizumab και ανεπιθύμητων ενεργειών όπως υπέρταση, αιμορραγία και ουδετεροπενία, όμως η στατιστική ανάλυση δεν ανέδειξε σημαντικές διαφορές στην τοξικότητα μεταξύ των ομάδων. Τα κλινικά δεδομένα από τις δύο μελέτες οδήγησαν στην έγκριση του bevacizumab ως πρώτης γραμμής θεραπεία ασθενών με ΜΚΠΕ.

Ο ρόλος του Bevacizumab σε άλλες κακοήθειες νόσους

Η νεοαγγειογένεση θεωρείται βασικός παράμετρος στην εξέλιξη του καρκίνου

μαστού¹¹⁰ και αρκετές κλινικές μελέτες έχουν διερευνήσει τη δράση του bevacizumab στη συγκεκριμένη νόσο¹¹¹⁻¹¹⁵. Σε μεγάλη μελέτη φάσης III^{111,112} τυχαιοποιήθηκαν 462 προθεραπευμένες με χημειοθεραπεία ασθενείς με καρκίνωμα του μαστού για να υποβληθούν σε καπεσιταμπίνη ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό καπεσιταμπίνης με bevacizumab. Το ποσοστό συνολικής ανταπόκρισης ενόησε το συνδυασμό (19,8% έναντι 9,1%, $p=0,001$). Υπέρταση, πρωτεϊνουρία και ήπια αιμορραγία από βλεννογόνους συσχετίστηκαν με τη θεραπεία που περιλάμβανε το μονοκλωνικό αντίσωμα.

Σε μελέτη φάσης II διερευνήθηκε ο συνδυασμός του bevacizumab με πακλιταξέλη και καρβοπλατίνη σε ασθενείς με μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα. Έξι από τους 66 ασθενείς παρουσίασαν πνευμονική αιμορραγία ενώ 4 από αυτούς κατέληξαν¹¹⁶. Σε άλλη μελέτη φάσης I/II σε 23 ασθενείς με προχωρημένο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα όπου διερευνήθηκαν διάφοροι συνδυασμοί του bevacizumab και του erlotinib διαπιστώθηκε μερική ανταπόκριση και στασιμότητα της νόσου σε ποσοστό 20% και 65% αντίστοιχα, με μέση επιβίωση 12,6 μήνες¹¹⁷.

Μια πρόσφατη μελέτη φάσης III (E4599) συνέκρινε το συνδυασμό καρβοπλατίνης και πακλιταξέλης έναντι του ίδιου συνδυασμού με προσθήκη του bevacizumab. Τα αποτελέσματα της μελέτης ήταν εντυπωσιακά δίνοντας μείωση 38% στον κίνδυνο υποτροπής και 23% στον κίνδυνο θανάτου από τη νόσο με την προσθήκη του bevacizumab.

Αριθμός κλινικών μελετών διερευνούν τη δράση του bevacizumab στον καρκίνο του νεφρού¹¹⁸⁻¹²¹, ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με ανοσοθεραπεία (ιντερφε-

ρόνη α ή ιντερλευκίνη 2) ή με άλλα βιολογικά φάρμακα όπως αναστολείς κινασών (erlotinib, imatinib). Μελέτη σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνωμα νεφρού διερεύνησε το συνδυασμό του bevacizumab, 10 mg/kg ενδοφλέβιας χορήγησης καθημερινά για δύο εβδομάδες με erlotinib, 150 mg καθημερινά και ανέδειξε ποσοστό κλινικής ανταπόκρισης της νόσου στο 25% των ασθενών¹²⁰.

Ερευνητικά πρωτόκολλα διερευνούν το συνδυασμό του bevacizumab με τζεμισιταμπίνη^{122,123} ή με καπεσιταμπίνη και ακτινοθεραπεία¹²⁴ σε ασθενείς με καρκίνο παγκρέατος. Τέλος, αυτό το μονοκλωνικό αντίσωμα διερευνάται σε ασθενείς με καρκίνο προστάτη^{125,126}, ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα¹²⁷ και κακόηθες μελάνωμα¹²⁸.

ABX-EGF

Πρόκειται για ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα τάξης IgG2 που συνδέεται με τον EGFR, δρώντας ανταγωνιστικά στους ενδογενείς προσδέτες του (TGF-α και EGF)¹²⁹. Το ABX-EGF έδειξε αντινεοπλασματική δράση ως μονοθεραπεία σε πληθώρα ανθρώπινων καρκινικών ξενομοσχευμάτων (νεφρού, προστάτη, μαστού, παγκρέατος) που υπερεκφράζουν τον EGFR¹²⁹.

Σε μελέτη φάσης I σε 43 ασθενείς με όγκους που εκφράζουν τον EGFR χορηγήθηκαν δόσεις από 0,01 ως 2,5 mg/kg του ABX σε εβδομαδιαία βάση^{130,131}. Η ανοσογονικότητα του αντισώματος δεν αποτέλεσε πρόβλημα, ενώ ο ρυθμός κάθαρσης και η εμφάνιση δερματικού εξανθήματος ήταν ανάλογα της δόσης φτάνοντας σε μια μέγιστη τιμή στη δόση των 2,5 mg/Kg. Στασιμότητα της νόσου αναφέρθηκε σε δύο ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου και οισοφάγου αντίστοιχα. Μελέτη φάσης II σε 23 ασθενείς

με ΜΚΠΕ με υπερέκφραση EGFR έδειξε μερική ανταπόκριση και στασιμότητα της νόσου με εβδομαδιαία χορήγηση δόσης 2,5 mg/Kg σε ποσοστό 13% και 39% αντίστοιχα¹³². Τέλος, σε άλλη κλινική μελέτη σε ασθενείς με καρκίνο νεφρού¹³³ διαπιστώθηκε ότι το δερματικό εξάνθημα ήταν η συχνότερη ανεπιθύμητη ενέργεια συνοδευόμενη από μέτριας βαρύτητας επιπεφυκίτιδα, στοματίτιδα, ανορεξία, κακουχία και κοιλιακά άλγη.

EMD 72000

Πρόκειται για εξανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα τάξης IgG1 με μεγάλη συγγένεια και ειδικότητα με τον EGFR. Το EMD 72000 έδειξε ανασταλτική δράση στο σύνολο ανθρώπινων καρκινικών ξενομοσχευμάτων όπως πνεύμονα, στομάχου, παγκρέατος, κ.α. με υπερέκφραση του EGFR¹³⁴⁻¹³⁶. Πιθανώς δρα μέσω αναστολής του σηματοδοτικού μονοπατιού που ενεργοποιείται από τον EGFR¹³⁴, ενώ φαίνεται να επάγει και ανοσολογικούς μηχανισμούς (ADCC)¹³⁷. Σε μελέτη φάσης I σε 24 ασθενείς με όγκους που εκφράζουν EGFR χορηγήθηκε το αντίσωμα σε δόσεις από 100 ως 800 mg εβδομαδιαίως για 4 εβδομάδες¹³⁴. Εννιά ασθενείς (38%) παρουσίασαν στασιμότητα της νόσου και ένας ασθενής (4%) εμφάνισε πλήρη ανταπόκριση. Δερματικό εξάνθημα, πυρετός, κεφαλαλγία και επιπεφυκίτιδα είναι οι συχνότερες ανεπιθύμητες ενέργειες του EMD 72000.

ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΜΕ ΡΑΔΙΟΕΠΙΣΗΜΑΣΜΕΝΑ ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

Ένας μεγάλος αριθμός ραδιοεπισημασμένων μονοκλωνικών αντισωμάτων έχει αποτελέσει αντικείμενο κλινικής διερεύνησης για τη θεραπεία συμπαγών όγκων όπως του εγκεφάλου, ωθηκών

φάλου, ωθηκών και παχέος εντέρου³⁶. Μελέτες φάσης I και II έχουν σχεδιαστεί για τη διερεύνηση της δράσης μονοκλωνικών αντισωμάτων επισημασμένων με τα ραδιοϊσότοπα ¹³¹I, ⁹⁰Y, ²¹¹At σε ασθενείς με νεοδιαγνωσμένους, αλλά και υποτροπιάζοντες όγκους εγκεφάλου¹³⁸. Μελέτες σε ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου¹³⁹ έχουν δείξει ότι η πρόσληψη ραδιοεπισημασμένων μονοκλωνικών αντισωμάτων από τους όγκους είναι αντιστρόφως ανάλογη με το μέγεθος του όγκου, υποδεικνύοντας ότι η χρήση τέτοιων ανοσομορίων θα έχει πιθανώς καλύτερη ένδειξη σε ασθενείς με μικρή υπολειματική νόσο.

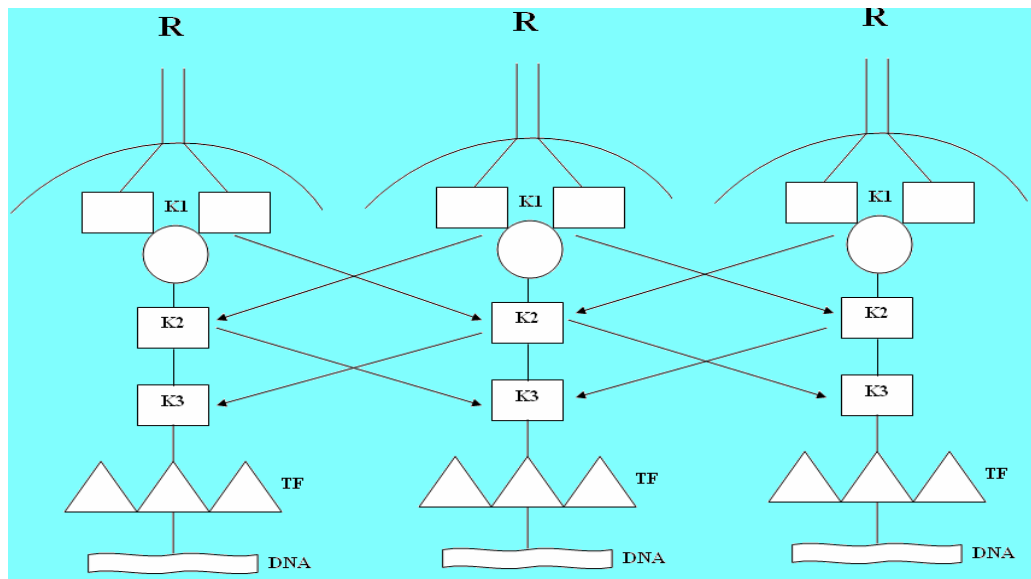
Έχουν σχεδιαστεί και πραγματοποιηθεί 23 μελέτες φάσης I/II και έχουν χρησιμοποιηθεί 15 μονοκλωνικά αντισώματα και 5 ραδιοϊσότοπα έναντι ειδικών καρκινικών αντιγόνων για την αξιολόγηση του ρόλου της ραδιοανοσοθεραπείας, κυρίως σε ασθενείς με προχωρημένο καρκίνο παχέος εντέρου. Στις κλινικές μελέτες έχουν καταγραφεί ανταποκρίσεις της νόσου χωρίς όμως κάποιο αντίσωμα να έχει δείξει ιδιαίτερη αποτελεσματικότητα. Τέλος, η τοξικότητα της μεθόδου είναι αποδεκτή και αναστρέψιμη, αφορά δε κυρίως στο μυελό των οστών.

ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Η στόχευση υποδοχέων αυξητικών παραγόντων φαίνεται να αποτελεί ορθολογική προσέγγιση που έχει σκοπό την αναστολή ενδοκυττάρων μεταγωγικών μονοπατιών τα οποία επάγουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Όμως, σε ένα κυτταρικό μικροπεριβάλλον υπάρχει μεγάλος αριθμός αντίστοιχων μονοπατιών, τα οποία ρυθμίζουν την έκφραση γονιδίων που ενέχονται στον κυτταρικό κύκλο καθώς και σε άλλες

κυτταρικές λειτουργίες. Διαντιδράσεις και «ενδοεπικοινωνία» ανάμεσα στα μονοπάτια (cross-talks) συμβαίνουν σε πολλαπλά επίπεδα από τη μεμβράνη ως

τον πυρήνα, δημιουργώντας πολύπλοκο δίκτυο σηματοδοτικών μακρομορίων (εικόνα 2).



Εικόνα 2: Διαντιδράσεις και ενδοεπικοινωνία «Cross – talking» ανάμεσα στα σηματοδοτικά μονοπάτια. R: υποδοχέας, K1: κινάση1, K2: κινάση2, K3: κινάση3, TF: μεταγραφικός παράγοντας.

Αυτό το δυναμικό μοντέλο μειώνει την ειδικότητα ενός αντισώματος, γιατί η παρέμβαση σε έναν υποδοχέα μπορεί να επηρεάσει το ρυθμό μεταγραφής ποικίλων γονιδίων μέσω ενεργοποίησης ή καταστολής γειτονικών μονοπατιών. Επιλεκτική στόχευση συγκεκριμένων σηματοδοτικών μορίων καθώς και ειδικών μεταγραφικών παραγόντων προσφέρει τη δυνατότητα αύξησης της ειδικότητας των διαφόρων βιολογικών θεραπευτικών προσεγγίσεων. Μια τέτοια παρέμβαση μπορεί να συνδυαστεί στο μέλλον με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων, εμπλουτίζοντας το οπλοστάσιο της σύγχρονης ογκολογίας.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Παρά το γεγονός ότι η χρήση των μονοκλωνικών αντισωμάτων σε αιματολογικές κακοήθειες νόσους ήταν επιτυχής, η

θεραπεία των συμπαγών όγκων έχει συναντήσει αρκετά εμπόδια. Κάποια μονοκλωνικά αντισώματα έχουν βελτιώσει την αποτελεσματικότητα της θεραπευτικής αντιμετώπισης συγκεκριμένων όγκων με αποδεκτή τοξικότητα. Το trastuzumab, το cetuximab και το bevacizumab έχουν ήδη λάβει έγκριση για τη θεραπεία του καρκίνου του μαστού και του παχέος εντέρου. Η δοσολογία, η διάρκεια και το σχήμα της θεραπείας δεν έχουν ακόμη εντελώς καθορισθεί. Σύγχρονη χορήγηση των μονοκλωνικών αντισωμάτων με άλλα βιολογικά φάρμακα, χημειοθεραπεία και ακτινοθεραπεία βασίζεται στη συνεργική δράση των συνδυασμών. Ανοσολογικοί μηχανισμοί μπορούν να αξιοποιηθούν με τη χρήση αμφιειδικών αντισωμάτων, ενώ η εφαρμογή τεχνικών ραδιοανοσοθεραπείας έχει σαφές περιθώριο βελτίωσης. Συζευγ-

μένα αντισώματα έχουν τη δυνατότητα να μεταφέρουν κυτταροτοξίνες καθώς και ένζυμα τα οποία μετατρέπουν το αδρανές προφάρμακο σε ενεργή μορφή εκλεκτικά στα κύτταρα του όγκου. Στο μέλλον, η ορθότερη επιλογή ομάδων ασθενών με υπερέκφραση χαρακτηριστικών ογκοειδικών βιοδεικτών μπορεί να οδηγήσει στην βελτίωση της αποτελεσματικότητας της ανοσοθεραπείας και στην εξατομίκευση της θεραπευτικής αντιμετώπισης των ασθενών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975;256:495-7.
- Nadler LM, Stashenco P, Hardy R, Schlossman SF. A monoclonal antibody defining a lymphoma-associated antigen in man. *J Immunol* 1980 Aug;125(2):570-7.
- Miller RA, Maloney DG, McKillop J, Levy R. In vivo effects of murine hybridoma monoclonal antibody in a patient with T-cell leukemia. *Blood* 1981;58:78-86.
- Sears HF, Atkinson B, Mattis J, Ernst C, Herlyn D, Steplewski Z, et al. Phase I clinical trial of monoclonal antibody in treatment of gastrointestinal tumors. *Lancet* 1982;1(8275):762-5.
- Abou- Jawed R, Choueiri T, Alemani C, Mekheil T. An overview of targeted treatments in cancer. *Clinical Therapeutics* 2003; 25(8):2121-37.
- Green MC, Murray JL and Hortobagyi GN. Monoclonal antibody therapy for solid tumors. *Cancer Treatment Reviews* 2000; 26:269-86
- Sliwkoski MX, Lofgren JA, Lewis GD, Hotaling TE, Fendly BM, Fox JA. Non clinical studies addressing the mechanism of action of Trastuzumab (Herceptin). *Semin Oncol* 1999;26(suppl 12):60-70
- Kreitman RJ. Immunotoxins in cancer therapy. *Current Op Immunol* 1999;11:570-8.
- Williams LE, Liu A, Wu AM, Odom-Maryon T, Chai A, Raubitschek AA, Wong JY. Figures of merit (FOMs) for imaging and therapy using monoclonal antibodies. *Med Phys* 1995;22: 2025-7.
- Garnett MC, Embleton MJ, Jacobs E, Baldwin RW. Studies in the mechanism of action of an antibody-targeted drug-carrier conjugate. *Anticancer Drug Des* 1985;1:3-12.
- Bagshawe KD, Sharma SK, Burke PJ, Melton RG, Knox RJ. Developments with targeted enzymes in cancer therapy. *Current Op Immunol* 1999;11:579-83.
- Zeidler R, Reisbach G, Wollenberg B, Lang S, Chaubal S, Schmitt B, Lindhofer H. Simultaneous activation of T cells and accessory cells by a new class of intact bispecific antibody results in efficient tumor cell killing. *J Immunol* 1999;163:1246-52.
- Anasetti C, Martin P, Morishita Y, Badger CC, Bernstein ID, Hansen JA. Human large granular lymphocytes express high affinity receptors for murine monoclonal antibodies of the IgG3 subclass. *J Immunol* 1987; 138:2979-81.
- Ortaldo JR, Woodhouse C, Morgan AC, Herberman RB, Cheresch DA, Reisfeld R. Analysis of effector cells in human antibody dependent cellular cytotoxicity with murine monoclonal antibodies. *J Immunol* 1987;138(10):3566-72.
- Eccles SA. Monoclonal antibodies targeting cancer: 'magic bullets' or just the trigger? *Breast Cancer Res* 2001;3:86-90
- Peterson J, Couto J, Taylor M, Ceriani R. Selection of tumor - specific epitopes on target antigens for radioimmunotherapy of breast cancer. *Cancer Res* 1995;55:5847-51s.
- Kalofonos H, Rowlinson G and Epenetos AA. Enhancement of monoclonal antibody uptake in human colon tumor xenografts following irradiation. *Cancer Res* 1990; 50:159-63.
- Holland G, Zlotnik A. Interleukin-10 and cancer. *Cancer Invest* 1993;11:751-8.
- Lee J, Fenton BM, Koch CJ, Frelinger JG, Lord EM. Interleukin 2 expression by tumor cells alters both the immune response

- and the tumor microenvironment. *Cancer Res* 1998;58(7): 1478-85.
20. Kalofonos H, Rusckowski M, Siebecker DA, Sivolapenko GB, Snook D, Lavender JP, et al. Imaging of tumor in patients with indium-111-labeled biotin and streptavidin conjugated antibodies. *J Nucl Med* 1990; 31:1791-6.
 21. Rodwell JD. Engineering monoclonal antibodies. *Nature* 1989;342:99-100
 22. Buist MR, Kenemans P, van Kamp G, Haisma H. Minor human antibody response to a mouse and chimeric monoclonal antibody after a single IV infusion in ovarian carcinoma patients: a comparison of five assays. *Cancer Immunol Immunother* 1995;40:24-30
 23. Goodman G, Hellstrom I, Yelton DE, Murray JL, O'Hara S, Meaker E, et al. Phase I trial of chimeric (human – mouse) monoclonal antibody L6 in patients with non – small cell lung, colon and breast cancer. *Cancer Immunol Immunother* 1993;36:267-73.
 24. Riechmann L, Clark M, Waldmann H, Winter G. Reshaping human antibodies for therapy. *Nature* 1988;332:323-7.
 25. Sivolapenko GB, Douli V, Pectasides D, Skarlos D, Sirmalis G, Hussain R, et al. Breast cancer imaging with radiolabelled peptide from complementarity-determining region of antitumor antibody. *Lancet* 1995;346:1662-6.
 26. Le Gall F, Kipriyanof SM, Moldenhauer G, Little M. Di-, tri- and tetrameric single chain Fv antibody fragments against human CD19: effects of valency on cell binding. *FEBS Lett* 1999;453:164-8.
 27. Begent RH, Verhaar MJ, Chester KA, Casey JL, Green AJ, Napier MP, et al. Clinical evidence of efficient tumor targeting based on single-chain Fv antibody selected from a combinatorial library. *Nat Med* 1996; 2:979-84.
 28. Holliger P, Prospero T, Winter G. 'Diabodies': small bivalent and bispecific antibody fragments. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:6444-8.
 29. Hu S, Shively L, Raubitschek A, Sherman M, Williams LE, Wong JY, et al. Minibody: a novel engineered anti-carcinoembryonic antigen antibody fragment (single-chain Fv-CH3) which exhibits rapid, high-level targeting of xenografts. *Cancer Res* 1996; 56:3055-61.
 30. Di Marco E, Pierce JH, Fleming TP, Kraus MH, Molloy CJ, Aaronson SA, et al. Autocrine interaction between TGF- α and the EGF – receptor: quantitative requirements for induction of the malignant phenotype. *Oncogene* 1989;4:831-8.
 31. Voldborg BR, Damstrup L, Spang-Thomsen M, Poulsen HS. Epidermal growth factor receptor (EGFR) and EGFR mutations, function and possible role in clinical trials. *Ann Oncol* 1997;8: 1197-206.
 32. Wells A. Tumor invasion: role of growth factor – induced cell motility. *Adv Cancer Res* 2000; 78:31-101.
 33. Riedel F, Gotte K, Li M, Hormann K, Grandis JR. EGFR antisense treatment of human HNSCC cell lines down – regulates VEGF expression and endothelial cell migration. *Int J Oncol* 2002;21:11-16.
 34. Eccles SA. Cell biology of lymphatics metastasis. The potential role of c-erbB oncogene signaling. *Recent Results. Cancer Res* 2000;157:41-54.
 35. Nicholson RI, Gee JMW, Harper ME. EGFR and cancer prognosis. *Eur J Cancer* 2001;37:S9-S15.
 36. Kalofonos H, Pawlikowska TR, Hemingway A, Courtenay –Luck N, Dhokia B, Snook D, et al. Antibody guided diagnosis and therapy of brain gliomas using radiolabeled monoclonal antibodies against epidermal growth factor receptor and placental alkaline phosphatase. *J Nucl Med* 1989;30(10):1636-45.
 37. Mendelsohn J. The epidermal growth factor receptor as a target for cancer therapy. *Endocr Relat Cancer* 2001;8:3-9.
 38. Bandyopadhyay D, Mandal M, Adam L, Mendelsohn J, Kumar R. Physical interaction between epidermal growth factor receptor and DNA-dependent protein kinase

- in mammalian cells. *J Biol Chem* 1998; 273:1568-73.
39. Huang SM, Harari PM. Epidermal growth factor receptor inhibition in cancer therapy: biology, rationale and preliminary clinical results. *Invest New Drugs* 1999; 17:259-69.
 40. Naramura M, Gillies SD, Mendelsohn J, Reisfeld RA, Mueller BM. Therapeutic potential of chimeric and murine anti-epidermal growth factor receptor antibodies in a metastasis model for human melanoma. *Cancer Immunol Immunother* 1993; 37:343-9.
 41. Ciardiello F, Bianco R, Damiano V, De Lorenzo S, Pepe S, De Placido S, et al. Antitumor activity of sequential treatment with topotecan and anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody C225. *Clin Cancer Res* 1999;5:909-16.
 42. Inoue K, Slaton JW, Perrotte P, Davis DW, Bruns CJ, Hicklin DJ, et al. Paclitaxel enhances the effects of the anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody ImClone C225 in mice with metastatic human bladder transitional cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2000;6: 4874-84.
 43. Saleh MN, Raisch KP, Stackhouse MA, Grizzle WE, Bonner JA, Mayo MS, et al. Combined modality therapy of A431 human epidermoid cancer using anti-EGFr antibody C225 and radiation. *Cancer Biother Radiopharm* 1999;14:451-63.
 44. Bonner JA, Raisch KP, Trummell HQ, Robert F, Meredith RF, Spencer SA, et al. Enhanced apoptosis with combination C225/radiation treatment serves as the impetus for clinical investigation in head and neck cancers. *J Clin Oncol* 2000;18:475-535.
 45. Bianco C, Bianco R, Tortora G, Damiano V, Guerrieri P, Montemaggi P, et al. Antitumor activity of combined treatment of human cancer cells with ionizing radiation and anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody C225 plus type I protein kinase A antisense oligonucleotide. *Clin Cancer Res* 2000;6:4343-50
 46. Prewett MC, Hooper AT, Bassi R, Ellis LM, Waksal HW, Hicklin DJ. 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 May;8(5):994-1003.
 47. Wu X, Rubin M, Fan Z, DeBlasio T, Soos T, Koff A, et al. Involvement of p27KIP1 in G1 arrest mediated by an anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody. *Oncogene* 1996;12:1397-403.
 48. Baselga J, Pfister D, Cooper MR, Cohen R, Burtness B, Bos M, et al. Phase I studies of anti-epidermal growth factor receptor chimeric antibody C225 alone and in combination with cisplatin. *J Clin Oncol* 2000; 18:904-14.
 49. Robert F, Ezekiel MP, Spencer SA, Meredith RF, Bonner JA, Khazaeli MB, et al. Phase I study of anti-epidermal growth factor receptor antibody cetuximab in combination with radiation therapy in patients with advanced head and neck cancer. *J Clin Oncol* 2001 1;19(13):3234-43.
 50. Baselga J, Trigo JM, Bourhis J, Tortochaux J, Cortes-Funes H, Hitt R, et al. Phase II multicenter study of the anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody cetuximab in combination with platinum-based chemotherapy in patients with platinum-refractory metastatic and/or recurrent squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol* 2005 Aug 20;23(24):5440-2.
 51. Saltz L, Meropol NJ, Loehrer PJ, Waksal H, Needle MN, Mayer RJ. Single agent IMC-C225 (Erbix) has activity in CPT-11 refractory colorectal cancer (CRC) that expresses the epidermal growth factor receptor (EGFR) (abstract 504). *Proceedings ASCO*; 2002;21:127a.
 52. Saltz L, Rubin M, Hochster H, et al. Acne-like rash predicts response in patients treated with cetuximab (IMC-C225) plus irinotecan (CPT-11) in CPT-11 refractory colorectal cancer (CRC) that expresses epidermal growth factor receptor (EGFR) (ab-

- stract 559). AACR-NCI-EORTC International Conference; 2001.
53. Rosenberg AH, Loehler PJ, Needle MN, et al. Erbitux (IMC-C225) plus weekly irinotecan (CPT-11), fluorouracil (5FU) ad leucovorin (LV) in colorectal cancer (CRC) that expresses epidermal growth factor receptor (EGFr). Proceedings ASCO; 2002;21: A536.
 54. Van Laethem JL, Raoul JL, Mitry E, et al. Cetuximab (C225) in combination with bi-weekly irinotecan (CPT-11), infusional 5-fluorouracil (5FU) and folinic acid (FA) in patients with metastatic colorectal cancer (CRC) expressing the epidermal growth factor receptor (EGFR). Preliminary safety and efficacy results. Proceedings ASCO; 2003;22(A1058).
 55. Cunningham D, Humblet Y, Siena S, Khayat D, Bleiberg H, Santoro A, et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004;351(4):337-45.
 56. Karamouzis MV, Likaki-Karatza E, Ravazolou P, Badra FA, Koukouras D, Tzorakoleftherakis E, et al. Non-palpable breast carcinomas: correlation of mammographically detected malignant-appearing microcalcifications and molecular prognostic factors. *Int J Cancer* 2002; 102(1):86-90
 57. Tsutsui S, Ohno S, Murakami S, Hachitanda Y, Oda S. Prognostic value of c-erbB2 expression in breast cancer. *J Surg Oncol* 2002 Apr;79(4):216-23.
 58. Piccart MJ, Di Leo A, Hamilton A. Her2: a predictive factor ready to use in the daily management of breast cancer patient? *Eur J Cancer* 2002;36:1755-61.
 59. Harries M, Smith I. The development and clinical use of trastuzumab (Herceptin). *Endocr Relat Cancer* 2002;9:75-85.
 60. Baselga J, Tripathy D, Mendelsohn J, Baughman S, Benz CC, Dantis L, et al. Phase II study of weekly intravenous recombinant humanized anti-p185 (HER-2) monoclonal antibody in patients with HER-2-neu overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 1996;14:737-44.
 61. Pegram MD, Lipton A, Hayes DF, Weber BL, Baselga JM, Tripathy D, et al. Phase II study of receptor-enhanced chemosensitivity using recombinant humanized anti-p185 (HER-2) monoclonal antibody plus cisplatin in patients with HER2/neu-overexpressing metastatic breast cancer refractory to chemotherapy treatment. *J Clin Oncol* 1998;16:2659-71.
 62. Cobleigh MA, Vogel CL, Tripathy D, Robert NJ, Scholl S, Fehrenbacher L, et al. Multinational study of the efficacy and safety of humanized anti-HER2 monoclonal antibody in women who have HER2 overexpressing metastatic breast cancer that has progressed after chemotherapy for metastatic disease. *J Clin Oncol* 1999;17: 2639-48.
 63. Vogel CL, Cobleigh MA, Tripathy D, Gutheil JC, Harris LN, Fehrenbacher L, et al. Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER-2 overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2002;20:719-26.
 64. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 2001;344:783-92.
 65. Marty M, Cognetti F, Maraninchi D, Snyder R, Mauriac L, Tubiana-Hulin M, et al. Randomized phase II trial of the efficacy and safety of Trastuzumab combined with Docetaxel in patients with human epidermal growth factor receptor 2 – positive metastatic breast cancer administered as first-line treatment: results of a randomized phase II trial by the M77001 Study Group. *J Clin Oncol* 2005;23(19):4265-74.
 66. Burstein HJ, Kuter I, Campos SM, Gelman RS, Tribou L, Parker LM, et al. Clinical activity of trastuzumab and vinorelbine in women with HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2001;19: 2722-30
 67. Jahanzeb M, Mortimer JE, Yunus F, Irwin

- DH, Speyer J, Koletsky AJ, Klein P, Sabir T, Kronish L. Phase II trial of weekly vinorelbine and trastuzumab as first-line therapy in patients with HER2+ metastatic breast cancer. *The Oncologist* 2002;7:410-7.
68. Esteva FJ, Valero V, Booser D, Guerra LT, Murray JL, Puzstai L, et al. Phase trial of weekly docetaxel and trastuzumab for patients with HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2002; 20(7):1800-8.
 69. Untch M, Eidtmann H, du Bois A, Meerpohl HG, Thomssen Ch, Ebert A, et al. Cardiac safety of Herceptin in combination with epirubicin and cyclophosphamide in women with metastatic breast cancer: results of a phase I trial. *Eur J Cancer* 2004;40:988-97.
 70. O'Shaughnessy JA, Vukelja S, Marsland T, Kimmel G, Ratnam S, Pippin JE. Phase II study of trastuzumab plus gemcitabine in chemotherapy-pretreated patients with metastatic breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2004;5(2):142-7.
 71. Miller KD, Sisk J, Ansari R, Gize G, Nattam S, Pennington K, et al. Gemcitabine, paclitaxel and trastuzumab in metastatic breast cancer. *Oncology* 2001;15(2 suppl 3):38-40
 72. Bangemann N, Kuhle A, Ebert A, Buhler H, Schaller G. Capecitabine combined with trastuzumab in the therapy of intensively pretreated HER2 overexpressing metastatic breast cancer (MBC). *Ann Oncol* 2000;11(suppl 4):143(abstract 653).
 73. Pegram MD, Pienkowski T, Northfelt DW, Eiermann W, Patel R, Fumoleau P, et al. Results of two open-label, multicenter phase I studies of docetaxel, platinum salts and trastuzumab in HER2-positive advanced breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 2004, 96, 759-69.
 74. Robert N, Leyland-Jones B, Asmar L, Belt R, Ilegbodun D, Loesch D, et al. Randomized phase III study of trastuzumab, paclitaxel and carboplatin versus trastuzumab and paclitaxel in women with HER2 overexpressing metastatic breast cancer. An update including survival. *Proceedings ASCO*; 2004;23:20(abstract 573).
 75. Brufsky AM, Cleary D, Fuchs C, Lebish J, Baar J, Evans T, et al. First-line chemotherapy for metastatic breast cancer (MBC) with docitaxel (T), carboplatin (C) and trastuzumab (H) (TCH). A phase II trial. *Proceedings ASCO*; 2003;22:18(abstract71).
 76. Rowland KM, Suman VJ, Ingle NJ, Loprinzi CL, Flynn PJ, Krook JE, et al. Randomized phase II trial of weekly versus 3-week administration of paclitaxel, carboplatin and trastuzumab in women with HER2 overexpressing metastatic breast cancer (MBC) *Proceedings ASCO*; 2003; 22:8(abstract 31).
 77. Pietras RJ, Poen JC, Gallardo D, Wongvipat PN, Lee HJ, Slamon DJ. Monoclonal antibody to HER2/neu receptor modulates repair of radiation induced DNA damage and enhances radiosensitivity of human breast cancer cells overexpressing this oncogene. *Cancer Res* 1999;59:1347-55.
 78. Konecny G, Pauletti G, Pegram M, Untch M, Dandekar S, Aguilar Z, et al. Quantitative association between HER-2/neu and steroid hormone receptors in hormone receptor-positive breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:142-53.
 79. Wright C, Nicholson S, Angus B, Sainsbury JR, Farndon J, Cairns J, et al. Relationship between c-erbB2 protein product expression and response to endocrine therapy in advanced breast cancer. *Br J Cancer* 1992;65:118-21.
 80. Elledge RM, Green S, Ciocca D, Pugh R, Allred DC, Clark GM, et al. HER-2 expression and response to tamoxifen in estrogen receptor – positive breast cancer: a Southwest Oncology Group Study. *Clin Cancer Res* 1998;4:7-12.
 81. Carlomagno C, Perrone F, Gallo C, De Laurentis M, Lauria R, Morabito A, et al. C-erbB2 overexpression decreases the benefit of adjuvant tamoxifen in early stage breast cancer without axillary lymph node metastasis. *J Clin Oncol* 1996;14:2702-08.

82. Houston SJ, Plunkett TA, Barnes DM, Smith P, Rubens RD, Miles DW. Overexpression of c-erbB2 is an independent marker of resistance to endocrine therapy in advanced breast cancer. *Br J Cancer* 1999 Mar;79(7-8):1220-6
83. Lipton A, Ali SM, Leitzel K, Demers L, Chinchilli V, Engle L, et al. Elevated serum HER2/neu level predicts decreased response to hormone therapy in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2002;20:1467-72.
84. Mouridsen H, Gershonovich M, Sun Y, Perez-Carrion R, Boni C, Monnier A, et al. Superior efficacy of letrozole versus tamoxifen as first-line therapy for postmenopausal women with advanced breast cancer: results of a phase II study of the International Letrozole Breast Cancer Group. *J Clin Oncol* 2001;19:2596-606.
85. Normanno N, Campiglio M, De LA, Somenzi G, Maiello M, Ciardello F, et al. Cooperative inhibitory effect of ZD1839 (Iressa) in combination with trastuzumab (Herceptin) on human breast cancer cell growth. *Ann Oncol* 2002;13:65-72.
86. Nahta R, Hung MC, Esteva FJ. The HER-2-targeting antibodies trastuzumab and pertuzumab synergistically inhibit the survival of breast cancer cells. *Cancer Res* 2004;64:2343-6.
87. Colombo MP, Trinchieri G. Interleukin -12 in anti-tumor immunity and immunotherapy. *Cytokine Growth Factor Rev* 2002; 13:155-68.
88. Robertson MJ, Cameron C, Atkins MB, Gordon MS, Lotze MT, Sherman ML, et al. Immunological effects of interleukin 12 administered by bolus intravenous injection to patients with cancer. *Clin Cancer Res* 1999;5:9-16.
89. Parihar R, Nadella P, Jensen R, Dirksheide J, Shapiro C, Carson W. A phase I trial of Herceptin and interleukin-12 in patients with HER-2 overexpressing malignancies. *Proceedings ASCO* 2001;20:258a (abstract 1031).
90. Repka T, Chiorean EG, Gay J, Herwig KE, Kohl VK, Yee D, et al. Trastuzumab and interleukin-2 in HER2-positive metastatic breast cancer: a pilot study. *Clin Cancer Res* 2003;9:2440-6.
91. Burris HA 3rd, Storniolo AM, Overmoyer EA, Pegram MD, Jones SF, Peacock NW, et al. A phase I, open label study of the safety, tolerability and pharmacokinetics of lapatinib (GW 572016) in combination with trastuzumab. *Breast Cancer Res Treat* 2004; 88:126(abstract 3043).
92. Pegram MD, Yeon C, Ku NC, Gaudreault J, Slamon DJ. Phase I combined biological therapy of breast cancer using two humanized monoclonal antibodies directed against HER2 proto-oncogene and vascular endothelial growth factor (VEGF). *Breast Cancer Res Treat* 2004;88:124-5.
93. Yeon CH and Pegram MD. Anti-erbB2 antibody trastuzumab in the treatment of HER2-amplified breast cancer. *Investigational New Drugs* 2005;23:391-409.
94. Trastuzumab trials steal show at ASCO Meeting, News 870-871. *J Nat Cancer Instit* 2005 June 15; 97(12).
95. Cook- Bruns N. Retrospective analysis of the safety of Herceptin immunotherapy in metastatic breast cancer. *Oncology* 2001;61(suppl 2):58-66.
96. Keefe DL. Trastuzumab-associated cardiotoxicity. *Cancer* 2002;95:1592-600
97. Burstein J. Preoperative therapy with trastuzumab and paclitaxel followed by sequential adjuvant doxorubicin/ cyclophosphamide for HER2-overexpressing stage II or III breast cancer: a pilot study. *J Clin Oncol* 2003;21:46-53.
98. Hurley J, Franco S, Velez P, Doliny P, Gomez-Fernandez C, Powell J, et al. Primary therapy with Herceptin, taxotere and cisplatin in locally advanced and inflammatory breast cancer. *Proceedings ASCO*; 2001;20:31b(abstract 1871).
99. Harris L, Burstein HJ, Gelman R, Hallor M, Smith D, Borges V, et al. Preoperative trastuzumab and vinorelbine (HN) is a highly active, well tolerated regimen for HER2 3+/FISH+ stage II/III breast cancer. *Proceedings ASCO* 2003;22(abstract 86).

100. Budzar AU, Hunt K, Smith t, Francis D, Ewer M, Booser D, et al. Significantly higher pathological complete remission (pCR) rate following neoadjuvant therapy with trastuzumab (H), paclitaxel (P), and anthracycline – containing chemotherapy (CT): Initial results of a randomized trial in operable breast cancer (BC) with HER2 positive disease. *Proceedings ASCO*; 2004; 22(abstract 520).
101. Bookman MA, Darcy KM, Clark-Pearson D, Boothby RA, Horowitz IR. Evaluation of monoclonal humanized anti-HER2 antibody (Trastuzumab, Herceptin), in patients with recurrent or refractory ovarian or primary peritoneal carcinoma with overexpression of HER2: a phase II trial of the Gynecologic Oncology Group. *J Clin Oncol* 2002;20:In press.
102. Zinner RG, Glisson BS, Pisters KM, et al. Cisplatin and Gemcitabine combined with Herceptin in patients with HER2 – overexpressing, untreated, advanced, non-small cell lung cancer (NSCLC). A phase II trial. *Proceedings ASCO*; 2001;20:328a.
103. Margolin K, Gordon MS, Holmgren E, Gaudreault J, Novotny W, Fyfe G, et al. Phase Ib trial of intravenous recombinant humanized monoclonal antibody to vascular endothelial growth factor in combination with chemotherapy in patients with advanced cancer: pharmacologic and long-term safety data. *J Clin Oncol* 2001;19:851-6.
104. Darland DC, D' Amore PA. Blood vessel maturation: vascular development comes of age. *J Clin Invest* 1999;103:157-8.
105. Weidner N. Tumoural vascularity as a prognostic factor in cancer patients: the evidence continues to grow. *J Pathol* 1998; 184:119-22.
106. Borgstrom P, Gold DP, Hillan KJ, 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;19:4203-14.
107. Gordon MS, Margolin K, Talpaz M, Sledge GW Jr, Holmgren E, Benjamin R, et al. Phase I safety and pharmacokinetic study of recombinant anti-vascular endothelial growth factor in patients with advanced cancer. *J Clin Oncol* 2001;19:843-50
108. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J, Heim W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2004 Jun 3;350(23): 2335-42.
109. Benson AB, Catalano PJ, Meropol NJ et al. Bevacizumab (anti-VEGF plus FOLFOX4) in previously treated advanced colorectal (advCRC): an interim toxicity analysis of the Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) study E3200 *Proceedings ASCO*; 2003.
110. Cobleigh MA, Langmuir VK, Sledge GW, Miller KD, Haney L, Novotny WF et al. A phase I/II dose –escalation trial of bevacizumab in previously treated metastatic breast cancer. *Semin Oncol* 2003;30(5, suppl 16):117-24.
111. Miller KD, Chap LI, Holmes FA, Cobleigh MA, Marcom PK, Fehrenbacher L, et al. Randomized Phase III trial of capecitabine compared with bevacizumab plus capecitabine in patients with previously treated metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2005;23:792-9.
112. Miller KD. E2100: a phase II trial of paclitaxel /bevacizumab for metastatic breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2003;3:421-2.
113. Gray R, Giantonio BJ, O'Dwyer PJ, et al. The safety of adding angiogenesis inhibition into treatment for colorectal, breast and lung cancer: the Eastern Cooperative Oncology Group's Experience with bevacizumab, *Proceedings ASCO*; 2003.
114. Sledge G, Miller K, Novotny W, et al. A phase II trial of single agent comparing rhuMab VEGF (recombinant humanized monoclonal antibody to vascular endothelial cell growth factor) in patients with relapsed metastatic breast cancer. *Proceedings ASCO*; 2000;20,A5C.

115. Burnstein HJ, Parker LmM, Savoie J, et al. Phase II trial of the anti-VEGF antibody bevacizumab in combination with vinorelbine for refractory advanced breast cancer. San Antonio Breast Cancer Conference; 2002.
116. Notovny W, Holmgren E, Griffing S, et al. Identification of squamous cell histology and central cavitory tumors as possible risk factors for pulmonary hemorrhage (PH) in patients with advanced NSCLC receiving Bevacizumab (B). Proceedings ASCO; 2001;21:A1318.
117. Herbst RS, Johnson DH, Mininberg E, Carbone DP, Henderson T, Kim ES, et al. Phase I/II trial evaluating the anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody bevacizumab in combination with the HER-1/epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor erlotinib for patients with recurrent non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23(11):2544-55.
118. Yang JC, Haworth L, Sherry RM, Hwu P, Schwartzentruber DJ, Topalian SL, et al. A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. *N Engl J Med*; 2003;349(5):427-34.
119. Motzer RJ, Bacik J, Murphy BA, Russo P, Mazumdar M. Interferon-alfa as a comparative treatment for clinical trials of new therapies against advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2002;20(1):289-96.
120. Hainsworth JD, Sosman JA, Spigel DR, Edwards DL, Baughman C, Greco A. Treatment of metastatic renal cell carcinoma with a combination of bevacizumab and erlotinib. *J Clin Oncol* 2005;23(31):7889-96.
121. Rini BI, Halabi S, Taylor J, Small EJ, Schilsky RL: Cancer and Leukemia Group B 90206: A randomized phase III trial of interferon-alpha or interferon-alpha plus anti-vascular endothelial growth factor antibody (bevacizumab) in metastatic renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10(8):2584- 6.
122. Kindler HL, Friberg G, Singh DA, Locker G, Nattam S, Kozloff M, et al. Phase II trial of bevacizumab plus gemcitabine in patients with advanced pancreatic cancer. *J Clin Oncol.* 2005;23(31):8033-40
123. Kindler HL, Ansari R, Lester E, et al. Bevacizumab (B) plus gemcitabine (G) in patients with advanced pancreatic cancer. ASCO; 2000
124. Crane CH, Ellis LM, Xiong H, et al. Preliminary results of a phase I study of RhuMab VEGF (bevacizumab) with concurrent radiotherapy (XRT) and capecitabine (CAP). ASCO Gastrointestinal Symposium; 2004.
125. Picus J, Halabi S, Rini B, et al. The use of bevacizumab (B) with docetaxel (D) and estramustine (E) in hormone refractory prostate cancer (HRPC): initial results of CALBG 90006. ASCO; 2003.
126. Rini B, Weinberg V, Bok RA, et al. A phase 2 study of prostatic acid phosphatase-pulsed dendritic cells (APC 8015; Provenge) in combination with bevacizumab in patients with serologic progression of prostate cancer after local therapy. ASCO; 2003.
127. Schwartz JD, Schwartz M, Kinkhabwala M, et al. Bevacizumab in hepatocellular carcinoma in patients without invasion of the portal vein. ASCO Gastrointestinal Symposium; 2004.
128. Carson WE, Biber J, Snah N, et al. A phase 2 trial of a recombinant humanized monoclonal anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) antibody in patients with malignant melanoma. ASCO; 2003.
129. Yang XD, Jia XC, Corvalan JRF, Wang P, Davis CG. Development of ABX-EGF, a fully human anti-EGF receptor monoclonal antibody, for cancer therapy. *Crit Rev Oncol/Hemat* 2001;38:17-23.
130. Roskos L, et al. Low pharmacokinetic variability facilitates optimal dosing of ABX-EGF in cancer patients. Proceedings ASCO; 2002;21:A362.
131. Figlin RA, et al. ABX-EGF, a fully human anti-epidermal growth factor receptor

- (EGFR) monoclonal antibody (mAb) in patients with advanced cancer: phase I clinical results. *Proceedings ASCO*; 2002; 21: A35.
132. Meropol NJ, et al. Multicenter study of ABX-EGF monotherapy in patients with metastatic colorectal cancer. *Proceedings ASCO*; 2003;22:A1026.
 133. Sshwartz G, et al. Phase II clinical trial evaluating the safety and effectiveness of ABX-EGF in renal cell cancer (RCC). *Proceedings ASCO*; 2002;21:A91.
 134. Vanhoefer U, Tewes M, Rojo F, Dirsch O, Schleucher N, Rosen O, et al. Phase I study of the humanized anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody EMD72000 in patients with advanced solid tumors that express the epidermal growth factor receptor. *J Clin Oncol* 2004;22:175-84.
 135. Burger AM, et al. The humanized monoclonal anti-EGFR antibody EMD72000 potently inhibits the growth of EGFR-expressing human tumor xenografts insensitive to chemotherapeutic drugs. *Proceedings AACR*; 2003;44:A5719.
 136. Amendt C, et al. In vivo activity of humanized monoclonal anti-EGFR antibody EMD72000 in combination with gemcitabine on growth of primary tumors and metastases in an orthotopic nude mouse model. *Proceedings AACR*; 2003;44:A6189.
 137. Lo Km, et al. The role of ADCC effector function in the antitumor activity of anti-EGFR antibodies in a mouse xenograft model. *Clin Cancer Res* 2003;9:A125,6069S.
 138. Zalutski MR. Current status of therapy of solid tumors: brain tumor therapy. *J Nucl Med* 2005;46 Suppl 1:151S-6S.
 139. Koppe MJ, Bleichrodt RP, Oyen WJ, Boerman OC. Radioimmunotherapy and colorectal cancer. *Br J Surg* 2005;92(3):264-76.
 140. Janessa J. Laskin and Alan B. Sandler. Epidermal growth factor receptor: a promising target in solid tumors. *Cancer Treatment Reviews* 2004;30:1-17.
 141. Fountzilas G, Christodoulou C, Tsavlaridis D, Kalogera-Fountzila A, Aravantinos G, Razis E, Kalofonos HP et al. Paclitaxel and gemcitabine, as first-line chemotherapy, combined with trastuzumab in patients with advanced breast cancer: a phase II study conducted by the Hellenic Cooperative Oncology Group (HeCOG). *Cancer Invest* 2004;22(5),655-62.