



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE

Sezione di Patologia Sperimentale e di Oncologia

DOTTORATO DI RICERCA IN

EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE DEI TUMORI

Coordinatore: Prof.ssa Rosa Maria Pascale

**RAZIONALE ALL' USO DEGLI INIBITORI
DEL RECETTORE TIROSIN-CHINASICO
HER1/EGFR NEL TRATTAMENTO DEL NSCLC**

Relatore: *Prof. Antonio Farris*

**Tesi di Dottorato del
Dott. Carlo Putzu**

XXI Ciclo

Anno Accademico 2007/2008



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE

Sezione di Patologia Sperimentale e di Oncologia

**DOTTORATO DI RICERCA IN
EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE DEI TUMORI**

Coordinatore: Prof.ssa Rosa Maria Pascale

**RAZIONALE ALL'USO DEGLI INIBITORI
DEL RECETTORE TIROSIN-CHINASICO
HER1/EGFR NEL TRATTAMENTO DEL NSCLC**

Relatore: *Prof. Antonio Farris*

Tesi di Dottorato del
Dott. Carlo Putzu

XXI Ciclo

Anno Accademico 2007/2008

Introduzione:

La chemioterapia sistemica nel trattamento del tumore polmonare non a piccole cellule (NSCLC) in stadio avanzato migliora sia la sopravvivenza che la qualità di vita, nonostante ciò, la prognosi di questi pazienti rimane infausta. Per tale motivo e grazie a nuove tecnologie in ambito di oncologia molecolare, si sono potute sviluppare delle “target therapy” a bersaglio molecolare con obiettivo di migliorare la possibilità di cura di questi pazienti.

Il fattore di crescita epidermico (EGFR) è disregolato nella maggior parte dei tumori, in particolare nel NSCLC e gioca un ruolo importante nella invasione e nella crescita tumorale. Per tale motivo le EGFR sono state identificate come un target ideale nel trattamento del NSCLC.

Il segnale dell'EGFR, può essere bloccato con piccole molecole inibitrici della tirosin-chinasi delle EGFR (TKI: erlotinib e gefitinib) e con anticorpi monoclonali (mABS) diretti contro il dominio extracellulare, interferendo con il ligando fisiologico.

Erlotinib e Gefitinib (TKI) vengono attualmente utilizzati in oncologia medica come singoli agenti per il trattamento del NSCLC in fase avanzata; inoltre il Cetuximab (mABS) sta per essere approvato in associazione alla chemioterapia nella prima linea di terapia del NSCLC in fase avanzata.

INDICE

- Il tumore polmonare
 - Incidenza e prognosi
 - Cause principali
 - Istopatologia
 - Diagnosi
 - Stadiazione
 - Terapia
- Razionale all'uso degli inibitori del recettore tirosin-chinasico EGFR/HER1 nel trattamento del NSCLC
 - Introduzione
 - Agenti specifici anti-EGFR
 - Anticorpi per l'EGFR
 - Inibitori della tirosin –chinasi (TKI)
 - Getifinib
 - Erlotinib
 - Tossicità della terapia anti-EGFR
 - Selezione dei pazienti
 - Dosaggio e durata della terapia con TKI
 - Prospettive future

- **IL TUMORE POLMONARE**

Incidenza e Prognosi:

Il carcinoma polmonare è la prima causa di morte per tumore sia nel sesso maschile che in quello femminile. Negli Stati Uniti, nel 2005, si sono stimati 172.550 nuovi casi di tumore polmonare (93.010 M, 79.560 F), in Italia si contano dai 35 ai 40 mila nuovi casi l'anno. Si riscontra con maggiore frequenza nel sesso maschile, anche se con il diffondersi nel sesso femminile dell'abitudine al fumo, questa differenza si sta riducendo con un rapporto attuale M/F di circa 2.5 a 1. L'età di massima incidenza è tra i 55-65 anni, il 30-35% dei casi insorge negli ultrasettantenni, raro è invece il riscontro nei bambini e negli adolescenti con un'incidenza dell'1% al di sotto dei 30 anni.

La prognosi del carcinoma polmonare è assai dipendente dallo stadio di malattia e dall'istotipo. La sopravvivenza globale a 5 anni dalla diagnosi è di circa il 15%, sino a oltre al 70% nei casi precoci di NSCLC, ma purtroppo solo il 15-20% dei tumori polmonari è diagnosticato in questa fase.

I pazienti con nuova diagnosi di tumore polmonare (al di fuori dello screening) si presentano al 25% con malattia stadio I, 7 % stadio II, 32 % stadio III, e 36 % in stadio IV (1).

La sopravvivenza A 5 ANNI è direttamente proporzionale allo stadio come sotto riportato:

STADIO I: 60%
STADIO II: 40%
STADIO III: 15%-25%
STADIO IV: 1.6%

Cause Principali:

Il fumo di sigaretta è in assoluto il principale fattore di rischio associato al carcinoma polmonare. Da diversi dati della letteratura sono state documentate delle alterazioni molecolari specifiche (ad es. mutazioni della p53), associate al fumo di sigaretta; si osservano inoltre nella mucosa bronchiale

dei fumatori la perdita di cilia vibratili, iperplasia delle cellule basali e presenza di cellule atipiche (nuclei ipercromatici). Globalmente è stimato che circa l'85% dei tumori polmonari è correlato al fumo di sigaretta e da una recente analisi epidemiologica è emerso che circa il 17% dei forti fumatori è affetto da carcinoma polmonare, contro < dell'1% dei non fumatori. È stata identificata una relazione di tipo dose-risposta tra l'esposizione al fumo di tabacco e il rischio di ammalarsi

di carcinoma polmonare; il rischio relativo è in stretta correlazione con il numero di sigarette fumate al giorno, con la durata in anni dell'abitudine al fumo e con il contenuto di catrame delle sigarette fumate. Il rischio appare aumentato anche nei soggetti esposti a fumo passivo.

Smettere di fumare è considerato, a tutt'oggi, il più importante obiettivo da raggiungere per ciò che riguarda la prevenzione primaria del carcinoma polmonare, è stimato che per annullare il rischio oncologico sono necessari 10-15 anni di cessazione dal fumo di sigaretta. Un altro fattore frequentemente correlato al carcinoma polmonare e presente nell'ambiente domestico, è il gas radon: l'esposizione del gas radioattivo prodotto dal suo decadimento sembra indurre un danno cellulare che aumenta il rischio di trasformazione maligna. Tra i patogeni ambientali, l'asbesto è un noto carcinogeno correlato ad un aumentato rischio di carcinoma polmonare, specialmente nei soggetti fumatori. Si valuta infatti che il 3-4% dei carcinomi polmonari è associato all'esposizione

all'asbesto. Altri possibili fattori di rischio sembrerebbero essere riconducibili ad infezioni polmonari ricorrenti, cicatrici polmonari secondarie a tubercolosi, familiarità ed esposizione ad altri carcinogeni (2)

Istopatologia

Il carcinoma polmonare, secondo le linee guida dell'OMS, può essere classificato sulla base della biologia, l'approccio terapeutico e la prognosi in:

- 1) Carcinoma non a piccole cellule (NSCLC)
- 2) Carcinoma a piccole cellule (SCLC)

Esistono poi altre forme istologiche di neoplasie polmonari, meno frequenti come il carcinoide, i sarcomi, l'emangioendotelioma epitelioido, i linfomi polmonari ed altri. Peraltro il polmone frequentemente è sede di metastasi secondarie da tumori di origine polmonare e non. Oltre l'80% di tutti i carcinomi polmonari è rappresentato dal carcinoma non a piccole cellule (NSCLC). Il NSCLC include 3 maggiori istotipi: a cellule squamose (epidermoide), l'adenocarcinoma ed il carcinoma anaplastico a grandi cellule. L'adenocarcinoma è l'istotipo più frequente ed è quello che più frequentemente si riscontra nei non fumatori e nel sesso femminile.

Circa il 15% di tutti i tumori polmonari appartiene all'istotipo a piccole cellule (SCLC) che presenta un comportamento biologico ed una storia naturale del tutto differenti dai tumori polmonari non a piccole cellule. Le principali caratteristiche del microcitoma polmonare sono la rapida crescita tumorale, l'elevata tendenza alla metastatizzazione a distanza, l'elevata chemiosensibilità e radiosensibilità.

Diagnosi

La tipizzazione può avvenire tramite:

1) *Esame citologico dell'espettorato*, infatti i tumori a sede ilare possono essere diagnosticati con questa metodica in circa l'80% dei casi, soprattutto i carcinomi epidermoidi che presentano una maggiore esfoliazione cellulare.

2) *Broncoscopia* con lavaggio bronchiolo-alveolare e biopsie mirate che in caso di neoplasie ilari permettono una diagnosi citologica in circa il 90% dei casi. La broncoscopia è necessaria anche per la stadiazione locale di lesioni polmonari (invasione della carina) fornendo indicazioni utili per l'intervento chirurgico. Tale metodica può avere anche un ruolo terapeutico, con un trattamento laser o una protesi endobronchiale è possibile disostruire vie aeree che causano ad esempio atelattasia.

3) *Biopsia percutanea* sotto guida ecografica o sotto controllo TAC. In presenza di quantità deguate di materiale prelevato si pone diagnosi di carcinoma polmonare in circa il 90% dei casi.

Stadiazione

Una volta ottenuta la diagnosi di carcinoma polmonare non microcitoma, il passo successivo più importante è quello di differenziare una malattia localizzata al polmone (M0), da una malattia con metastasi a distanza (M1). L'esame necessario per escludere o meno la presenza di una malattia metastatica è la TC torace-addome superiore (valutazione toracica, surrenalica ed epatica). Seppure non standardizzata, l'utilizzo della PET è di grande aiuto nel completamento della stadiazione. La sensibilità della PET nella valutazione delle adenopatie mediastiniche è intorno all'85% (contro il 60% della TAC), con una specificità di circa il 90% (contro l'80% della TAC). Altri esami Andranno eventualmente eseguiti, secondo decisione individuale basata sullo stadio e sui sintomi (TC o risonanza magnetica nucleare ell'encefalo e scintigrafia ossea). Se gli esami di stadiazione escludono la presenza di lesioni metastatiche a distanza (M0), il passo successivo è la valutazione dello stato linfonodale mediastinico, che ci permette di differenziare gli "N0", "N1 e N2" nei

quali una chirurgia è ancora possibile, dagli “N3” dove un approccio chirurgico è normalmente escluso.

In caso di negatività evidenziata sulla base della TAC e della PET, il tumore si stadierà come cN0, cioè clinicamente N0 (Tab 0).

È noto che in simili situazioni è possibile riscontrare all'intervento chirurgico di linfadenectomia, un interessamento linfonodale misconosciuto (così detto N occulto), ma questo non influenza ad oggi l'iter terapeutico pre-chirurgico.

In caso invece di positività evidenziata alla TAC e/o PET, è necessario avere una conferma istologica tramite l'esecuzione di una mediastinoscopia. Tale metodica è una procedura in anestesia generale che consiste nell'introduzione di un mediastinoscopio ad accesso sovragiugulare mediano traverso, in grado di biopsiare i linfonodi paratracheali e sottocarenali. In caso di sospetta infiltrazione esofagea (criterio di inoperabilità) può rendersi necessaria, l'esecuzione di una esofagoscopia. La spirometria, la DLCO (lung diffusing capacity for carbon monoxide), la scintigrafia perfusionale e la saturazione dell'O₂ sono esami specifici mirati a valutare la riserva respiratoria per confermare o meno la fattibilità di una chirurgia (3) (Fig 1,2)

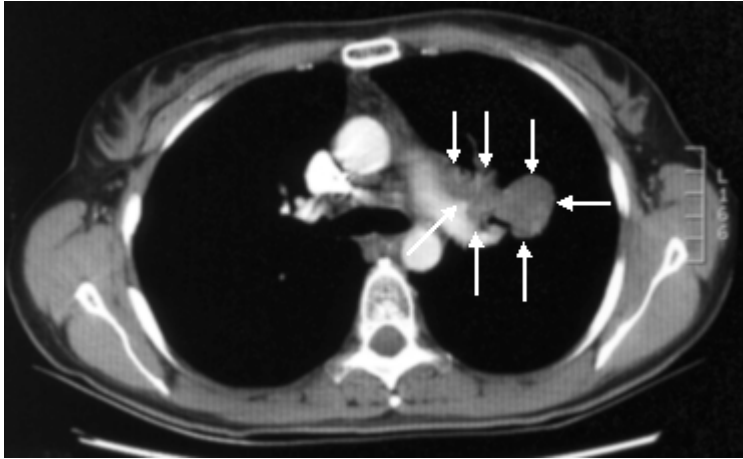


Fig 1: TAC torace: Addensamento polmonare spiculato di 2.8 x 3 cm, sito nel lobo polmonare superiore sinistro con evidente adenopatia ilare sinistra confluyente nella finestra aorto-polmonare

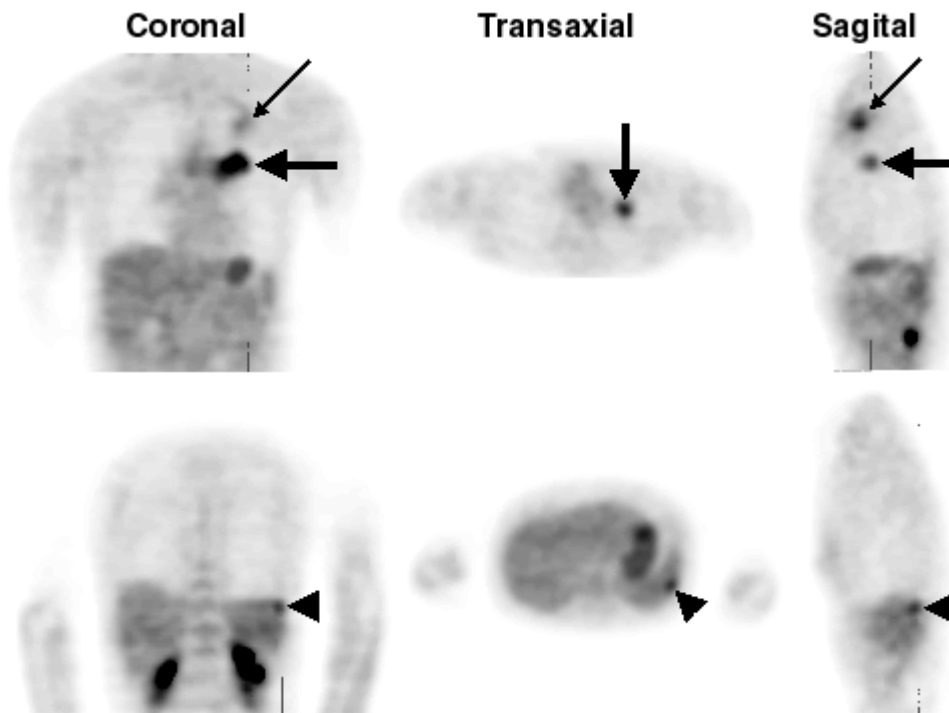


Fig. 2: PET (eseguita nello stesso paziente): evidenza di captazione avida del tracciante in sede polmonare: lobo superiore sinistro, ilo sinistro, mediastino; inoltre captazione patologica in sede cervicale destra ed a livello splenico.

Tab. 0**Stadiazione secondo il sistema TNM del cancro del polmone (VI edizione 2002)***T Tumore primitivo*

- TX Presenza di cellule maligne nell'escreato o nel liquido di lavaggio bronchioalveolare; tumore non evidenziato con le tecniche per immagini o dalla broncoscopia.
- T0 Nessuna evidenza di tumore primitivo.
- Tis Carcinoma in situ.
- T1 Tumore < 3 cm circondato da parenchima polmonare o da pleura viscerale, senza segni di invasione del bronco lobare prossimale alla broncoscopia.
- T2 Tumore > 3 cm, interessamento del bronco principale almeno 2 cm distalmente alla carena tracheale, invasione della pleura viscerale o associato ad atelectasia o polmonite ostruttiva che si estende alla regione ilare, ma non interessa il polmone in toto.
- T3 Tumore di qualsiasi dimensione con invasione della parete toracica (inclusi i tumori del sulcus superiore), del diaframma, del mediastino, della pleura parietale o tumore del bronco principale a meno di 2 cm distalmente alla carena, ma senza interessamento della carena stessa o associato ad atelectasia o polmonite ostruttiva dell'intero polmone.
- T4 Tumore di qualsiasi dimensione con invasione di organi mediastinici: cuore, grossi vasi, esofago, trachea, corpi vertebrali, carena, presenza di nodulo(i) neoplastico(i) separato(i) nello stesso lobo o presenza di versamento pleurico citologicamente positivo.

N linfonodi regionali

- NX I linfonodi regionali non possono essere definiti.
- N0 Assenza di interessamento dei linfonodi regionali.
- N1 Interessamento dei linfonodi peribronchiali e/o ilari omolaterali, compresa l'estensione diretta del tumore primitivo.
- N2 Interessamento dei linfonodi mediastinici e/o ilari omolaterali e/o sottocarenali.
- N3 Interessamento dei linfonodi mediastinici e/o ilari contralaterali e/o linfonodi scalenici omolaterali e contralaterali e/o sovraclavicolari omo e contralaterali.

M Metastasi a distanza

- MX Assenza di requisiti minimi per definire la presenza di metastasi a distanza.
- M0 Assenza di metastasi a distanza.
- M1 Presenza di metastasi a distanza

Sulla scorta del TNM sono stati identificati quattro stadi:

- Carcinoma occulto TX N0 M0
- Stadio 0 Tis N0 M0
- Stadio I T1 N0 M0 / T2 N0 M0
- Stadio IIA T1 N1 M0
- Stadio IIB T2 N1 M0/ T3 N0 M0
- Stadio IIIA T1 N2 M0/ T2 N2 M0 / T3 N1,2 M0
- Stadio IIIB T1-3 N3 M0 / T4 N0-3 M0
- Stadio IV T1-4 N0-3 M1

Terapia

L'approccio terapeutico del tumore polmonare non a piccole cellule (NSCLC) deve essere sempre discusso in ambito multidisciplinare, valutando per ogni stadio di malattia (Tab 1) l'indicazione all'utilizzo della chirurgia, della chemioterapia e della radioterapia. L'obiettivo della strategia terapeutica multidisciplinare è quello di offrire al paziente la massima probabilità di ottenere una guarigione, un aumento della sopravvivenza ed il massimo beneficio in termini di

qualità di vita. L'indicazione all'utilizzo della chemioterapia e della radioterapia

deve essere valutata in ogni stadio di malattia: nella malattia operata in maniera apparentemente radicale (regime adiuvante), nella malattia apparentemente operabile (trattamento pre-operatorio), nella malattia localmente avanzata non operabile e nella malattia metastatica.

Stadio I-II

In questa fase di malattia l'approccio chirurgico è la terapia di scelta. È importante sottolineare che l'indicazione alla reseccabilità chirurgica o meno dovrebbe essere effettuata esclusivamente da un chirurgo toracico oncologo di provata esperienza. La sopravvivenza globale a 5 anni con chirurgia

radicale è di circa il 70% per lo stadio I, del 55-60% nello stadio IB e del 35-40% nello stadio II. Peraltro negli ultimi anni, grazie ad una stadiazione più precisa, resa possibile dai criteri sopra riportati, i bracci di controllo di studi randomizzati negli stadi precoci mostrano sopravvivenze > 50-60% anche nel II stadio.

Inoltre in un ampio studio collaborativo, sono stati screenati 31.567 soggetti asintomatici considerati a rischio per tumore polmonare (grossi fumatori). Questi soggetti sono stati sottoposti a TC spirale a basse dosi di radiazioni dal 1993 al 1995. Dal 1994 al 2005, 27.456 soggetti hanno ripetuto una TC di screening a 7 e 18 mesi successivamente al precedente esame. Il programma di screening ha portato alla diagnosi di un tumore polmonare in 484 soggetti. Di questi, 412 (85%) erano neoplasie

polmonari operate allo stadio I, con una sopravvivenza a 10 anni dell'88% in tale sottogruppo. Nel gruppo dei 312 pazienti con stadio I operati entro 1 mese dalla diagnosi la sopravvivenza è stata del 92%. Tali dati giustificano ulteriori studi di screening con TC spirale in soggetti considerati ad alto rischio per tumore polmonare (2,10).

Qualora la valutazione patologica confermasse lo stadio precoce (I-II), ad oggi non vi sono dati che supportino l'utilizzo di una radioterapia precauzionale. La chemioterapia in fase adiuvante è stata recentemente riconosciuta come terapia standard nel NSCLC radicalmente operato in stadio II-IIIa, come dimostrato da vari studi di fase III (IALT, ANITA, CALGB, JBR 10) e da importanti metanalisi (quali la metanalisi LACE di Pignon che ha valutato circa 4500 pazienti) (4).

Stadio IIIa

Nell'ambito delle neoplasie polmonari non a piccole cellule, il sottogruppo di pazienti affetti da tumore in stadio IIIa, con metastatizzazione ai linfonodi mediastinici omolaterali (N2), è caratterizzato da prognosi meno favorevole.

Il ruolo della chirurgia in tale stadio è molto discusso, e si ritiene fondamentalmente rilevante in casi di malattia N2 non bulky e non refrattaria ad una chemioterapia di induzione. Un approccio molto condiviso è quello di confermare la presenza di adenopatie mediastiniche (N2) con tipizzazione, quindi eseguire una chemioterapia di induzione ed una chirurgia sequenziale nei casi non progredienti non bulky, quindi una radioterapia, da non effettuarsi nei casi con risposta completa alla chemioterapia di induzione preoperatoria. In caso di malattia operata in prima battuta, si utilizza normalmente una terapia precauzionale sia chemioterapica che radioterapica.

La chemioterapia neoadiuvante rappresenta un'alternativa alla chemioterapia adiuvante soprattutto nei casi N2. Le basi concettuali a favore della chemioterapia neoadiuvante includono un immediato controllo delle micrometastasi presenti alla diagnosi, una compliance al

trattamento più elevata (circa 80%) rispetto alla chemioterapia post-operatoria, una citoriduzione del tumore con downstaging all'intervento chirurgico (e quindi potenziale riduzione dell'estensione della exeresi) ed una selezione di pazienti chemiosensibili, al contrario i vantaggi sull'utilizzo della terapia in fase adiuvante riguardano la riduzione del tempo intercorso tra la diagnosi e l'exeresi chirurgica ed una migliore stadiazione (patologica) (5).

Tra gli studi di fase III importanti che hanno valutato la chemioterapia in fase neoadiuvante citiamo lo studio di Depierre et al (JCO 2002), che ha dimostrato che la CT a base di platino somministrata in fase preoperatoria rispetto la sola chirurgia, offre una riduzione delle recidive a distanza ed un prolungamento della sopravvivenza; questi dati sono stati confermati da un altro importante studio americano di fase III (SWOG 9900), anche se l'aumento di sopravvivenza non ha raggiunto la significatività statistica, anche perché interrotto precocemente dopo i risultati positivi sulla chemioterapia adiuvante.

Ma ancora non esistono dati pubblicati di studi che dimostrino un chiaro vantaggio della chemioterapia preoperatoria vs chemioterapia postoperatoria, uno studio europeo di fase III ha valutato questo (NATCH), ma siamo ancora in attesa della pubblicazione definitiva dei dati.

L'altro punto di discussione ancora aperto è nel caso di malattia N2 sempre resecabile, se considerare un approccio terapeutico con chemio-radio definitiva o chemio-radio di induzione seguita da chirurgia.

Stadio IIIA non operabile e IIIB.

Quale sia la singola modalità di trattamento più efficace nel trattamento delle forme di neoplasie polmonari non a piccole cellule localmente avanzate non operabili risulta ancora oggi controverso. È peraltro possibile affermare che lo stadio IIIa non operabile in maniera radicale (decisione che

nasce dall'esperienza del chirurgo, spesso motivato dal riscontro di malattia bulky o di linfadenopatie con estensione e locazione tale da non permettere una chirurgia radicale)

e lo stadio IIIb non traggono consistenti benefici dalla chirurgia, al di fuori di singole indicazioni.

Se in assenza di controindicazioni maggiori, i pazienti in tale stadio di malattia vanno trattati con una terapia combinata chemio-radioterapica.

La combinazione di chemioterapia sistemica e radioterapia, valutata in numerosi studi clinici di fase II e di fase III randomizzati, permette di ottenere una sopravvivenza globale a 2 anni del 20-30%.

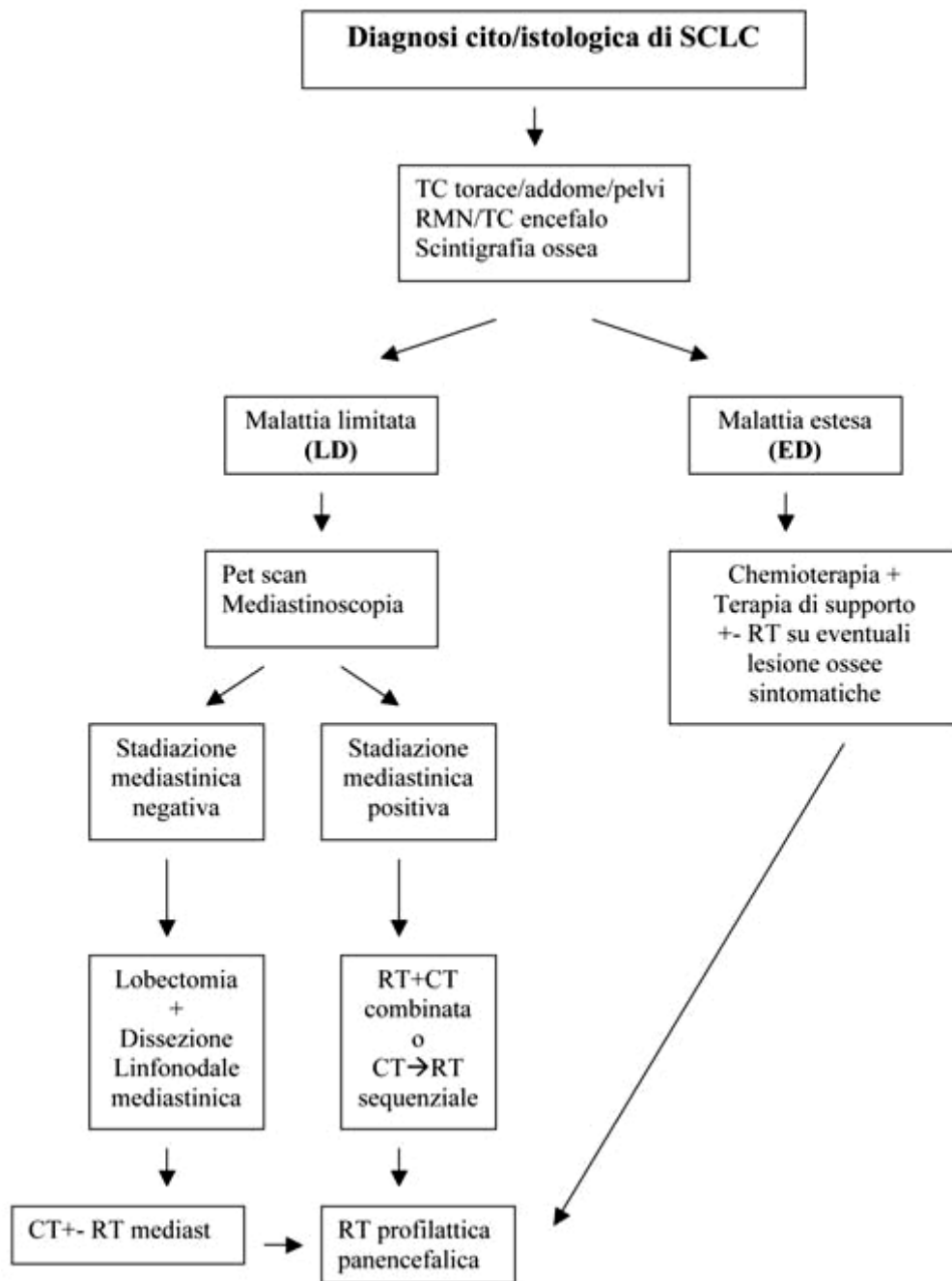
Laddove il trattamento combinato non fosse proponibile, la decisione a favore di una chemioterapia sistemica piuttosto che di una radioterapia dovrà essere valutata caso per caso. La chemioterapia sistemica viene utilizzata con riferimento agli schemi e alle tossicità sperimentate su pazienti con

malattia metastatica. È qui sufficiente ribadire che un trattamento chemioterapico sistemico rimane a tutt'oggi una terapia corretta in pazienti con malattia avanzata inoperabile, e permette di riportare successivamente in valutazione un'eventuale radioterapia sequenziale in casi selezionati in base

alla risposta ottenuta. Inoltre, qualora la stadiazione IIIb sia dovuta a versamento pleurico citologicamente positivo o a metastatizzazione a linfonodi prescalenici, il solo trattamento chemioterapico viene ancora considerato un trattamento di riferimento, alla luce degli evidenti limiti e difficoltà correlate ad un'eventuale trattamento radioterapico in tali situazioni.

La radioterapia come unico trattamento, sebbene raramente porti ad una risposta completa, può offrire una sopravvivenza a lungo termine al 5%-10% dei pazienti quando frazionata in modo convenzionale, e risulta spesso associata ad un'efficace palliazione (5) (Tab. 2).

Tab. 2: Flow-chart del management del paziente affetto da NSCLC



Malattia Metastatica : Trattamenti Chemioterapici di Prima Linea:

Negli anni 80 è stato raggiunto un accordo globale sull'uso della chemioterapia a base di cisplatino (con o senza radioterapia) come trattamento di 1° linea del NSCLC avanzato, chirurgicamente non resecabile allo stadio IIIB/IV.

Le associazioni di Cisplatino ed Etoposide o Vindesina sono state considerate trattamenti all'avanguardia. Un'ampia metanalisi ha dimostrato che regimi terapeutici a base di Cisplatino riducono il rischio di morte del 27 %, che corrisponde ad un incremento assoluto del 10% della sopravvivenza ad 1 anno, anche se dalla ricerca non emerge la superiorità di un'associazione a base di Cisplatino rispetto ad un'altra.

In seguito, nel tentativo di superare i problemi di tossicità e di somministrazione legati alle terapie a base di Cisplatino, è stato messo a punto il Carboplatino. Anche se non è stato ancora accertato se il carboplatino garantisca o meno una minore sopravvivenza, si ritiene che rispetto al Cisplatino esso sia associato ad un tasso inferiore di leucopenia, nausea, vomito e diarrea.

In genere Cisplatino in monoterapia offre una response rate (RR) dell'11%, con circa il 30% di sopravvivenza ad un anno, mentre in associazione con etoposide il RR può superare il 20%, ma senza variazioni di rilievo di sopravvivenza ad un anno rispetto al Cisplatino in monoterapia.

Negli ultimi anni nelle associazioni terapeutiche di prima linea a base di Cisplatino, sono stati inseriti diversi farmaci innovativi, quali gli agenti antimicrotubuli (Paclitaxel e Docetaxel), un antimetabolita (Gemcitabina), un alcaloide della vinca (Vinorelbina) e gli inibitori della topoisomerasi 1 (topotecan ed irinotecan). L'attività di queste nuove terapie di associazione di terza generazione è stata confermata in studi randomizzati che hanno riportato periodi di sopravvivenza di 9-10 mesi e tassi di sopravvivenza ad 1 anno di circa il 40%. Nessuno studio ha mostrato una differenza significativa tra i bracci di trattamento per quanto riguarda i tassi di sopravvivenza ad un anno o la sopravvivenza ad

un anno. Con queste associazioni terapeutiche il tempo alla progressione (Time To Progression: TTP) risulta compreso tra 3.3 e 4.5 mesi (6,7,9).

Malattia Metastatica: Trattamenti Chemioterapici Di Seconda Linea:

Come conseguenza del miglioramento dei tassi di sopravvivenza ad un anno con la chemioterapia di prima linea, è aumentata la necessità di terapie di seconda linea per quei pazienti che presentano una successiva progressione di malattia. Il fallimento della terapia di prima linea è ascrivibile ad uno sviluppo clonale resistente al farmaco di elezione (per esempio le associazioni a base di platino). Nei pazienti già trattati in precedenza la terapia di seconda linea con un singolo agente, ha mostrato di indurre valori di RR dal 0 al 10% (11).

I farmaci chemioterapici ad oggi approvati dall'FDA e dall'AIFA per il trattamento di seconda linea nel NSCLC sono: Docetaxel, Pemetrexed; tra i farmaci di “nuova generazione” approvati in seconda e terza linea sino ad oggi l'approvazione è limitata ad Erlotinib (TKI), di cui parleremo in seguito.

Docetaxel:

Si è rivelato come il più promettente tra i chemioterapici di terza generazione con RR compresi tra 15-20% osservati in studi di fase II e successivamente confermati in trials multicentrici di fase III (12,13)(Fossella et al, Sheperd et al), mostrando una RR superiore a quelli osservati al gruppo trattato con vinorelbina o ifosfamide, mostrando un vantaggio significativo di sopravvivenza ad un anno.

Pemetrexed:

Questo nuovo antifolato in associazione ad una integrazione vitaminica è stato confrontato in uno studio di fase III randomizzato (Hanna N. et al, JCO 2004) con il Docetaxel (standard di riferimento), mostrando pari efficacia (in termini di RR e OS), ma minore tossicità (14).

Tra gli altri agenti di terza generazione gemcitabina ha dimostrato di essere attiva nel trattamento di seconda linea nel NSCLC refrattario e trattato in precedenza con Platino; comunque ad ora l'impiego di Gemcitabina come trattamento di 2° linea rimane ancora sperimentale.

Anche Vinorelbina e Irinotecan si sono dimostrati attivi come farmaci di 2° linea per NSCLC, ma come per altri trattamenti monoterapici, nessuno di essi si è mostrato superiore al Docetaxel in termini di RR o OS. Così come l'impiego di regimi in associazione a base di Platino, resta ad oggi a livello sperimentale.

La prognosi dei pazienti in stadio IIIb e IV rimane infausta, nonostante l'impiego di chemioterapia con regimi a base di Cisplatino e farmaci di terza generazione (Taxani, antimetaboliti ed alcaloidi della vinca) hanno migliorato la sopravvivenza, ma ad oggi non si osservano rilevanti progressi, né benefici.

Inoltre molti pazienti, soprattutto anziani e quelli in condizioni generali scadute (performance status o PS = 0 > 2), non sono in grado di sopportare la tossicità della chemioterapia. (14,15)

Terapie di “Nuova Generazione”:

Grazie ad una migliore comprensione dei processi cellulari e molecolari alla base della biologia del tumore e della diffusione metastatica, sono nati e sono in corso di studio, una nuova generazione di farmaci antitumorali mirati, che vengono classificati in base a processi specifici della biologia del tumore verso i quali sono diretti:

- Inibitori di EGFR/HER1: anticorpi monoclonali e piccole molecole TKI
- Inibitori dell'angiogenesi: piccole molecole inibitrici TKI, della metallo proteasi di matrice e anticorpi anti-VEGFR
- Inibitori della traduzione del segnale: molecole anti fosfochinasi e ras
- Modulatori dell'attività apoptotica: molecole anti bcl-2
- Inibitori della via degli eicosanoidi: molecole dirette contro COX-2 e 5-lipossigenasi.

- **RAZIONALE DELL'USO DELL'INIBITORI DEL RECETTORE TIROSIN-CHINASICO EGFR/HER1 NEL TRATTAMENTO DEL NSCLC:**

Il recettore per il fattore di crescita epidermico (Epidermal Growth Factor Receptor o EGFR/ ErbB1/ EGFR/ HER1) appartiene alla superfamiglia dei recettori di membrana per fattori di crescita strutturalmente e funzionalmente correlati (Fig. 3). Gli altri membri della famiglia ErbB sono ErbB2 (HER2/neu), ErbB3 (HER3) e ErbB4 (HER4) (15).

EGFR/ErbB1 è classificato nell'ambito dei recettori con attività enzimatica intrinseca definiti come recettori tirosina chinasi (RTKs). Il legame al EGFR-TK di specifiche molecole quali EGF e TGF- α (cosiddetti ligandi) determina la omo-eterodimerizzazione del recettore e la stimolazione della sua attività chinasica (16) (Fig. 4).

EGFR/ErbB1 è una glicoproteina transmembrana di 170 kd espressa in alcuni tessuti umani normali ed iperespressa in molti tessuti neoplastici come i carcinomi della testa e del collo, del polmone (NSCLC), della vescica, della mammella, dell'ovaio e nei glioblastomi. La struttura dell'EGFR comprende un dominio extracellulare glicosilato e con due residui cisteinici, tra i quali si trova la regione di interazione con il ligando; un dominio transmembrana idrofobico; e un dominio intracitoplasmatico che contiene una tirosin-chinasi altamente conservata (17).

In condizioni di riposo, tali recettori, si trovano in uno stato non fosforilato ed in forma monomeric. HER1/EGFR, presente nella maggior parte delle cellule normali, è il recettore per vari ligandi endogeni, tra cui il fattore di crescita epidermico (EGF) ed il fattore di crescita trasformante (TGF-alfa). Il legame del ligando promuove l'accoppiamento del recettore con un'altra proteina recettoriale adiacente, in genere HER2, con formazione di un dimero; la dimerizzazione del recettore provoca la auto fosforilazione di specifici residui di tirosina C-terminali del dominio intracellulare. A sua volta, il recettore attivato fosforila alcune proteine citoplasmatiche (tra cui RAS), che scatenano

una serie di reazioni a cascata lungo le vie di trasduzione del segnale che regolano i processi di differenziamento, crescita e proliferazione cellulare, invasione ed adesione cellulare, regolazione dell'apoptosi e dell'angiogenesi (18-19) (Fig. 5 e Fig. 6).

L'attivazione di HER1-EGFR, quindi, influenza tutta una serie di funzioni cellulari che sono essenziali alla regolazione della crescita delle cellule.

L'importanza di HER1-EGFR, per la crescita e la differenziazione cellulari è dimostrata sperimentalmente in modelli di animali geneticamente modificati, nei quali la mancanza del gene che codifica per questo recettore, comporta un deficit nello sviluppo e malformazione in diversi organi con elevata mortalità degli animali.

Nei tessuti normali l'espressione e la funzione del recettore HER1-EGFR è sotto stretto controllo. Un'alterazione della regolazione dell'attività del recettore e quindi la rottura dell'equilibrio tra processi di crescita e di morte cellulare con sbilanciamento a favore dell'iperproliferazione cellulare può rappresentare quindi l'input allo sviluppo dei tumori (20).

L'iperespressione di HER1/EGFR svolge un ruolo chiave nella crescita e progressione di molte neoplasie, inclusi i tumori polmonari (21) (Tab. 1).

L'abnorme attività del recettore è strettamente connesso ad un'eccessiva produzione del ligando o del recettore (iperespressione) o alla presenza di mutazioni che ne determinano un'attivazione costitutiva (Tab. 2).

L'iperespressione del recettore determina un aumento dell'attività trasduttrice del segnale anche in presenza di livelli fisiologici di fattori di crescita. Nel tessuto polmonare normale sono presenti bassi livelli di espressione di HER1/EGFR che tra l'altro è limitata allo strato basale dell'epitelio bronchiale. L'espressione del recettore invece aumenta progressivamente durante l'evoluzione da lesioni metaplastiche a lesioni preneoplastiche e neoplastiche, pertanto l'aumento di espressione del recettore è un marker precoce di trasformazione maligna. HER1/EGFR risulta iperspresso in una percentuale variabile di pazienti con NSCLC (tra il 40 e l'80%) (22) (Tab. 3).

Il secondo meccanismo alla base di un'attivazione eccessiva del recettore è la presenza di mutazioni genetiche che comportano alterazioni strutturali come per esempio la perdita del dominio extracellulare (forme mutate EGFRvI o EGFRvIII), tali da impedire il legame del ligando, rendendo però possibile un'attivazione costitutiva del recettore stesso. In alcuni casi sono coinvolte anche mutazioni puntiformi o delezioni responsabili di alterazioni nel dominio intracellulare tali da indurre un'aumento dell'affinità per l'ATP e quindi dell'attività tirosin-chinasica del recettore, con forti effetti stimolatori sulla proliferazione cellulare.

Mutazioni somatiche del genere sembrano verificarsi in alcune sottopopolazioni (pazienti con istotipo adenocarcinoma, razza asiatica, sesso femminile e soggetti fumatori) (23); l'eventuali implicazioni cliniche tuttavia non sono state ancora completamente chiarite. L'iperattività di HER1/EGFR sembra essere anche alla base della formazione di fenotipi tumorali aggressivi o insensibili alla chemioterapia ed alla terapia radiante. Invece, sul significato prognostico dell'espressione del recettore (scarsa risposta al trattamento, sopravvivenza più breve), in particolare in pazienti con NSCLC in stadio avanzato, permangono ancora dubbi. L'evidente implicazione di HER1 nella regolazione della crescita e della proliferazione cellulare e la sua abnorme attività nelle cellule tumorali, incluse quelle del polmone, ha condotto allo sviluppo di nuovi composti ed agenti biologici in grado di bloccare in modo specifico l'attività del recettore, come per esempio anticorpi monoclonali, piccoli inibitori dell'attività tirosin-chinasica (TKI), coniugati ligando-tossina e vaccini anti EGF.

Per esempio, l'anticorpo monoclonale cetuximab compete per il legame con il ligando endogeno prevenendo così la dimerizzazione di HER1-EGFR e la conseguente fosforilazione del dominio intracellulare. In questo modo nella cellula tumorale vengono inibiti i processi come la proliferazione, l'angiogenesi, l'invasione e la migrazione mentre è favorita l'apoptosi (24).

Le piccole molecole TKI come gefitinib ed erlotinib competono con ATP per il legame al dominio intracellulare del recettore, inibendo così la sua attività chinasi in presenza del suo ligando.

Agendo a livello intracellulare, le piccole molecole TKI, sono efficaci anche nei confronti della forma mutata del recettore ad attività costituzionale (EGFRvIII).

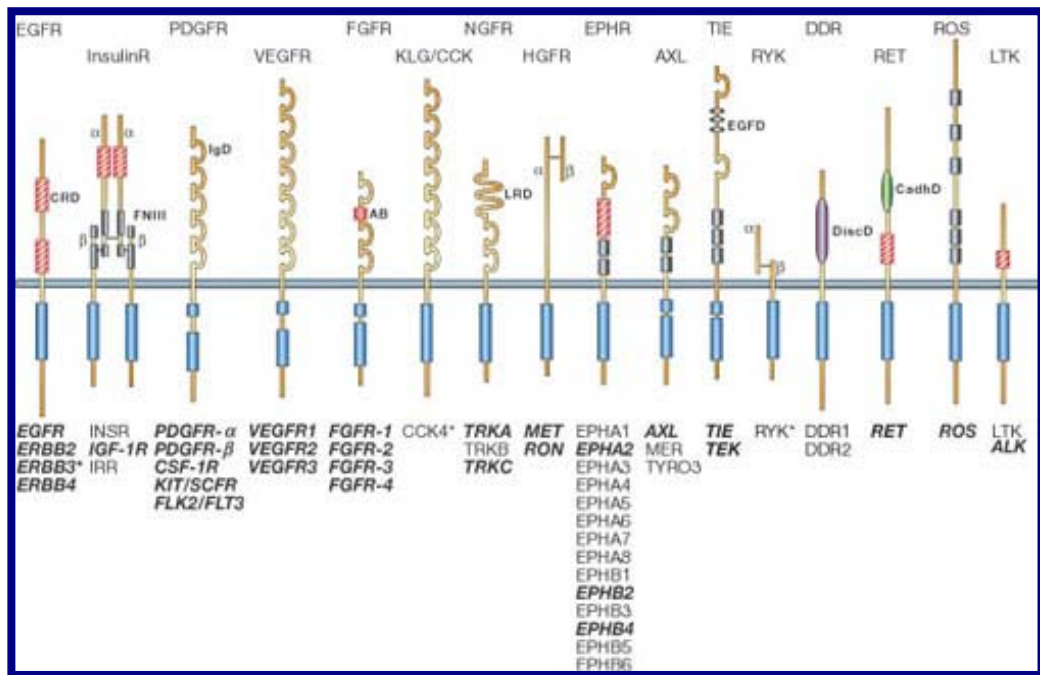


Fig. 3 Recettori tirosino chinasi

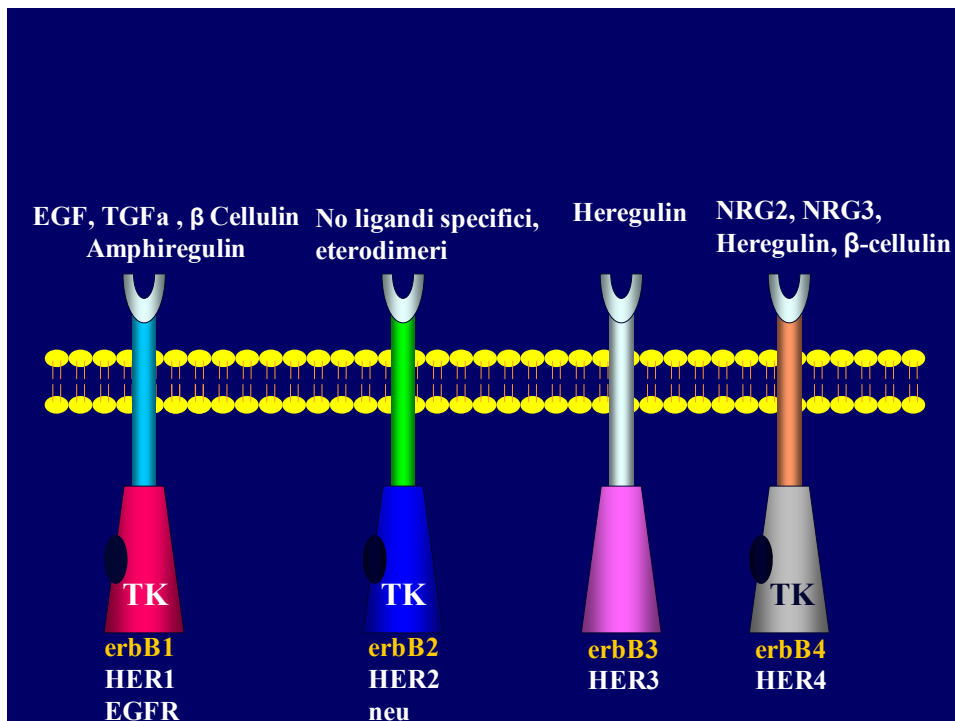


Fig. 4 Famiglia degli ErbB e Ligandi

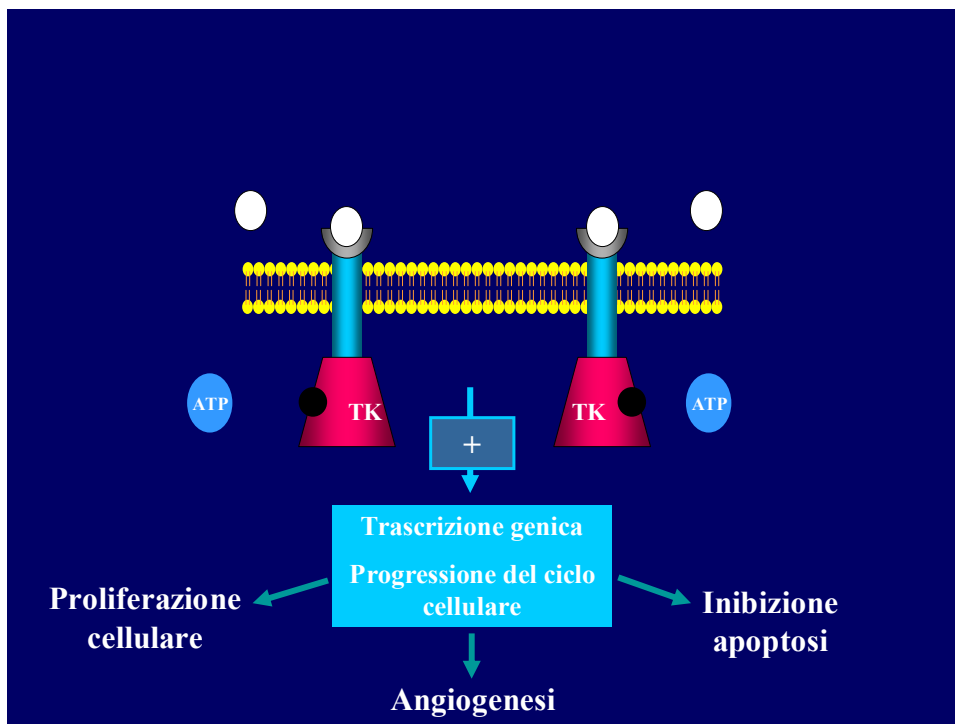


Fig. 5 EGFR: funzione fisiologica

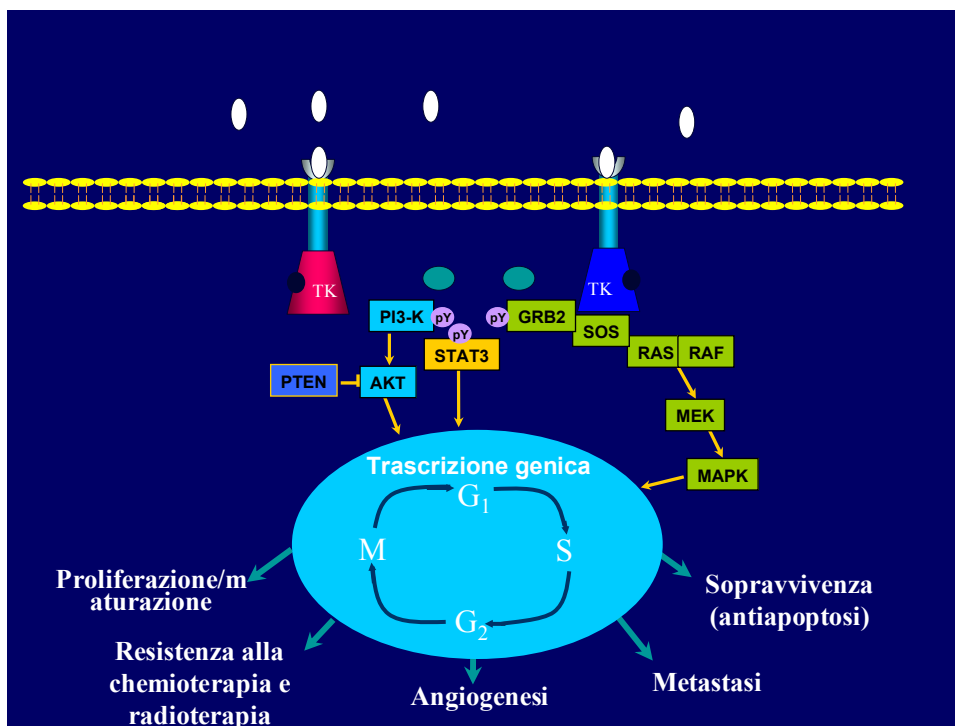
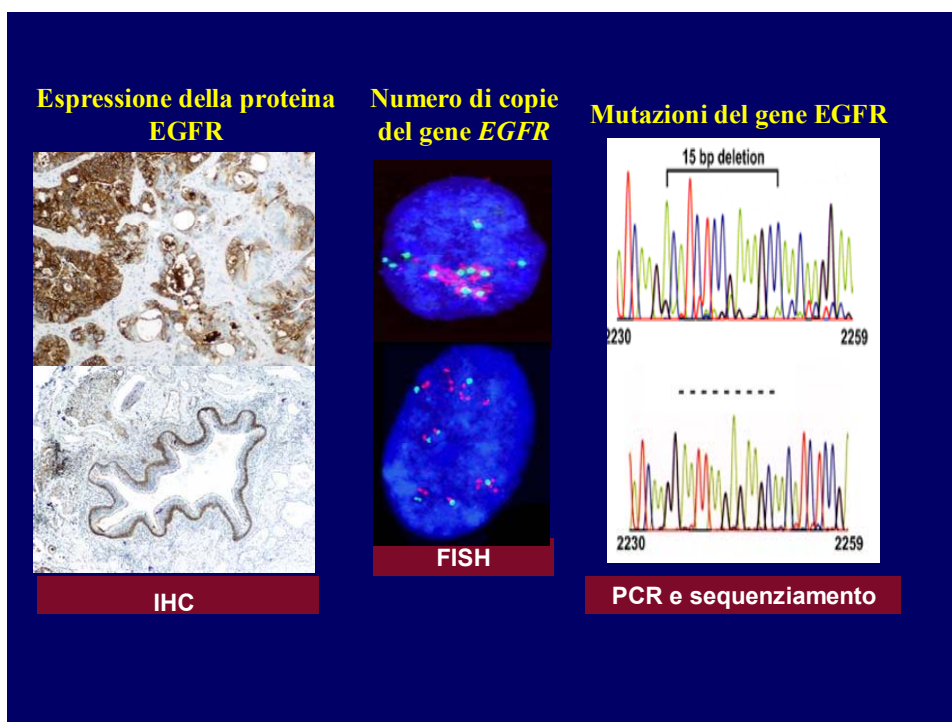


Fig. 6 EGFR: ruolo nella cancerogenesi

Tipo di tumore	Sopravvivenza	Rischio di metastasi	Letteratura
NSCLC	↓SG	↑	Volm (1998) Ohsaki (2000)
Mammella	↓SG	↑	Nicholson (2001) Perez (2001)
Colon	↓SG	↑	Mayer (1993) Nicholson (2001)
Testa collo	↓SG ↓IL	—	Maurizi (1996) Grandis (1998)

IL: intervallo libero da malattia; SG: sopravvivenza globale

Tab. 1 EGFR: significato prognostico



Tab. 2 Potenziali marcatori biologici delle EGFR: test diagnostici

Neoplasia	Espressione (%)	Letteratura
Colon	25-77%	Salomon 1995, Goldstein 2001
Testa-collo	95-100%	Saltz 2001
Pancreas	30-89%	Salomon 1995, Grandis 1996
NSCLC	40-80%	Salomon 1995, Ueguaki 1997
Rene	50-90%	Salomon 1995, Yoshida 1997
Mammella	14-91% (45%)	Beckam 1996, Bucci 1997
Ovaio	35-70%	Salomon 1995, Barlett 1996
Glioma	40-63%	Salomon 1995, Rieske 1998
Vescica	31-48%	Salomon 1995, Chow 1997

Tab. 3 Espressione di EGFR in tumori solidi

Recettore del Fattore di Crescita Epidermoidale come Target (bersaglio) per il NSCLC:

I progressi nella conoscenza della biologia tumorale hanno portato all'identificazione di molti dei meccanismi molecolari che inducono la crescita tumorale. Uno di questi meccanismi è innescato dall'attivazione del recettore del fattore di crescita epidermoidale (EGFR) [Fig 2]. L'EGFR è una glicoproteina di membrana che appartiene alla famiglia dell'EGFR umano. Esso è costituito da un sito di legame extracellulare, una regione trans-membrana e un sito citoplasmatico che contiene una regione tirosina-chinasi (TK). Le TK sono proteine espresse ubiquitariamente coinvolte in numerosi processi intracellulari, tra i quali la crescita cellulare normale o anomala. Sia il fattore di crescita epidermoidale (EGF) che il fattore di crescita trasformante (TGF-alfa) si legano all'EGFR per indurre effetti biologici e fitogeni. I ligandi che si legano all'EGFR inducono la dimerizzazione del recettore e ne attivano l'attività TK. Ciò causa di conseguenza la defosforilazione del recettore, attivando il meccanismo di trasduzione dei segnali che induce la proliferazione cellulare, l'inibizione dell'apoptosi e l'angiogenesi. L'alterata regolazione di questi meccanismi può determinare oncogenesi e progressione del cancro. Esistono importanti evidenze di un legame diretto tra l'EGFR e il cancro umano. Infatti, una attività TK anomala è un tratto tipico delle cellule maligne. Molti tumori, ed in particolare il NSCLC, presentano un'aumentata o alterata espressione dell'EGFR TK o dei suoi ligandi. L'overespressione dell'EGFR si verifica nel 40-80% dei casi di NSCLC ed è riportata principalmente nelle cellule squamose (84%), seguite dalle grandi cellule (68%) e dall'adenocarcinoma (65%). Molteplici studi hanno indicato che il livello di espressione dell'EGFR si correla con una scarsa prognosi e una ridotta sopravvivenza. L'approccio di trattare il NSCLC inibendo l'attivazione dell'EGFR si basa su meccanismi diversi dalla chemioterapia citotossica. Mentre i farmaci chemioterapici colpiscono la divisione cellulare in maniera indifferenziata, gli agenti specifici per l'EGFR agiscono selettivamente

sulle cellule maligne grazie al ruolo limitato rivestito dall'EGFR nei tessuti normali non embrionali. Questi agenti pertanto hanno potenzialmente una tossicità ridotta rispetto agli agenti citotossici non specifici.

Nuovi Agenti Specifici per l'EGFR:

Esistono due approcci generali per inibire l'EGFR:

- uno consiste nell'impedire ai ligandi di legarsi al sito extracellulare con un anticorpo monoclonale (mABS).
- l'altro nell'inibire l'attività intracellulare del TK (TKI).

Anticorpi Specifici per l'EGFR: Meccanismo D'azione

L'elevata espressione di EGFR nei tumori NSCLC rappresenta il razionale per studiare gli anticorpi EGFR. Gli anticorpi monoclonali sono stati sviluppati per legarsi in modo specifico alla componente extracellulare del recettore EGFR. Questi anticorpi competono con il TGF-alfa, l'EGF e altri ligandi naturali per i siti di legame extracellulari dell'EGFR prevenendo l'autofosforilazione della regione (23). Di conseguenza, il sito TK rimane inattivo e non si attiva il sistema di trasduzione dei segnali e ciò conduce all'inibizione della progressione del ciclo cellulare, alla promozione dell'apoptosi e all'antiangiogenesi (24). L'anticorpo IgG umano-murino cetuximab attualmente è approvato per il trattamento del carcinoma colon-rettale, e sta per essere approvato nel NSCLC avanzato in prima linea in associazione a chemioterapia con Cisplatino e Vinorelbina, dopo i risultati recentemente pubblicati dello studio FLEX. Panitumumab (IgG2 umano) e EDM- 72000 (IgG1 umanizzato) sono anticorpi in fase di sviluppo. Questi anticorpi hanno un'emivita prolungata che permette di usare dosi settimanali o a intervalli più lunghi (25).

Efficacia degli Anticorpi per l'EGFR nei pazienti con NSCLC in Fase Avanzata:

Gli studi di fase I sul cetuximab dimostrano che questo anticorpo monoclonale ha attività antitumorale verso diversi tumori solidi, incluso il NSCLC, e può essere associato in modo efficace con il cisplatino e la radioterapia. In uno studio internazionale recente di fase III (Bonner)(26), 424 pazienti con cancro a cellule squamose localizzato in fase avanzata della testa e del collo venivano randomizzati al trattamento con la sola terapia radiante (ad una dose di 70 Gy) o alla terapia radiante più il cetuximab (400 mg/m²). L'aggiunta del cetuximab ad un'alta dose di radiazioni aumentava la sopravvivenza in modo statisticamente significativo (la mediana della sopravvivenza e la sopravvivenza a tre anni nel gruppo trattato con cetuximab rispetto al gruppo trattato solo con terapia radiante era di 54 mesi vs 28 mesi e del 57% vs 44% rispettivamente, $p = 0,02$). Sebbene al cetuximab fossero attribuiti effetti tossici addizionali (i pazienti nel braccio del cetuximab avevano più frequentemente febbre, brividi, nausea e vomito), il beneficio clinico ottenuto con cetuximab-radioterapia veniva ottenuto con un aumento minimo della tossicità globale. Il cetuximab, sempre nelle neoplasie del distretto cervico-facciale è stato studiato anche in fase metastatica o recidivante in associazione alla chemioterapia, nello specifico alla doppietta platino/fluorouracile, mostrando incremento netto della sopravvivenza (studio EXTREME). Sta per essere approvato dall'FDA l'uso del cetuximab nel tumore polmonare non a piccole cellule dopo i risultati di uno studio di fase III (FLEX) che randomizzava pazienti naive alla chemioterapia affetti da NSCLC in stadio IIIb/IV, valutando l'attività del cetuximab aggiunto ad un regime standard con cisplatino e vinorelbina; i pazienti erano randomizzati al trattamento con cetuximab/cisplatino/vinorelbina o ad cisplatino/vinorelbina; i pazienti nel braccio della sola chemioterapia hanno ottenuto una risposta globale più bassa (RR 20% vs 31,7%) rispetto a quelli trattati con chemioterapia più cetuximab, si è inoltre documentato un modesto, ma significativo

incremento di sopravvivenza ad un anno. Il profilo di sicurezza di entrambi i trattamenti è risultato tollerabile, con la leucopenia che rappresentava l'effetto tossico più comune.

Inibitori della TK: Meccanismo d'Azione

Gli inibitori della fosforilazione della TK (inibitori della TK [TKI]) sono agenti costituiti da piccole molecole che bloccano l'attività dell'EGFR interferendo con il sito di legame dell'adenosina trifosfato nella regione intracellulare del recettore (27). Sono stati sviluppati diversi TKI per il NSCLC in fase avanzata.

Il gefitinib è stato il primo della classe di EGFR-TKI ad essere approvato dalla FDA per il trattamento dei pazienti con NSCLC in fase avanzata. Il gefitinib induce una riduzione radiologica della massa tumorale, migliora i sintomi e la qualità di vita in quei pazienti che non rispondono ad altre precedenti terapie. Inoltre, nel programma sull'uso compassionevole del gefitinib, che negli Stati Uniti includeva più di 21000 pazienti con NSCLC, la sopravvivenza a 1 anno era del 30% ed era paragonabile a quella ottenuta con un singolo agente chemioterapico.

Un altro importante TKI, l'erlotinib, si è dimostrato efficace nel trattamento di seconda o terza linea metastatica nel NSCLC. In uno studio recente di fase III (BR-21) il trattamento con l'erlotinib aumentava la sopravvivenza in maniera statisticamente significativa e la qualità di vita globale nei pazienti con NSCLC in fase avanzata rispetto al placebo (28). Questo risultato ha infatti portato all'approvazione da parte della FDA e successivamente dall'AIFA di erlotinib come trattamento di seconda o terza scelta per i pazienti con NSCLC in stadio avanzato.

Efficacia degli EGFR-TKI nei pazienti con NSCLC in Fase Avanzata

Gefitinib

La somministrazione orale di gefitinib una volta al giorno è stata studiata come monoterapia per i pazienti precedentemente trattati con NSCLC in due studi non controllati vs placebo: il primo ed il secondo IRESSA Dose Evaluation in Advanced Lung Cancer (IDEAL)(29, 30). Negli studi IDEAL, i pazienti venivano randomizzati al trattamento con 250 mg/die o 500 mg/die di gefitinib. Nell'IDEAL-1, i pazienti (n = 210) avevano ricevuto precedentemente uno o due regimi chemioterapici, mentre, nell'IDEAL-2, i pazienti (n = 216) avevano ricevuto due o più regimi chemioterapici. Nell'IDEAL-2, gli end-point primari erano la risposta oggettiva del tumore e il miglioramento dei sintomi, e tutti i pazienti dovevano essere sintomatici in condizioni basali.

L'IDEAL-1 comprendeva un sottogruppo di pazienti con sintomi in condizioni basali e gli end point primari erano la sicurezza e l'efficacia. In entrambi gli studi il miglioramento dei sintomi veniva valutato attraverso una scala specifica "Functional Assessment of Cancer Therapy-Lung study quality-of-life questionnaire". I sintomi valutati includevano la dispnea, il dimagrimento, la lucidità mentale, la tosse, l'appetito, la costrizione toracica e la difficoltà respiratoria.

I risultati degli studi IDEAL-1 e IDEAL-2 sono riassunti in Tabella. Una modificazione oggettiva del tumore con 250 mg/die di gefitinib si osservava nel 18% dei pazienti nell'IDEAL-1 e nel 12% nell'IDEAL-2. In ciascuno studio, la risposta nei gruppi trattati con 500 mg/die era simile a quella dei gruppi trattati con 250 mg/die.^{25,26} Le risposte radiologiche erano rapide e durature in entrambi gli studi. Nell'IDEAL-1,²⁵ il 68% delle risposte si osservava entro un mese dopo la randomizzazione. Nell'IDEAL-2, la mediana della durata della risposta per i pazienti trattati con 250 mg/die o 500 mg/die era di 7 e 6 mesi rispettivamente. Le risposte venivano ottenute indipendentemente dai regimi terapeutici precedenti, dall'età, dal sesso o dal performance status

(PS). Il controllo della malattia (risposta oggettiva più raggiungimento della fase stabile) si otteneva in circa il 50% dei pazienti in entrambi gli studi. È interessante notare che nell'IDEAL-226 la risposta oggettiva al gefitinib si verificava più frequentemente nelle donne rispetto agli uomini, era più alta nell'adenocarcinoma rispetto ad altri tipi istologici ed era più alta nei pazienti che non avevano mai fumato. I motivi di queste differenze al momento sono sconosciuti, ma probabilmente vi è una base biologica per queste risposte diverse nei sottogruppi di popolazione con NSCLC in fase avanzata. Una plausibile spiegazione per la più alta risposta nelle donne che non avevano mai fumato è che questa popolazione potrebbe avere maggiori mutazioni di EGFR. Tuttavia, risposte al gefitinib sono state osservate nei pazienti con NSCLC indipendentemente dal tipo istologico di tumore o dalle caratteristiche demografiche. Nello studio IDEAL-226, il miglioramento dei sintomi per i pazienti trattati con 250 mg/die o 500 mg/die di gefitinib si osservava nel 43% e nel 35% dei pazienti rispettivamente. Simili percentuali di miglioramento dei sintomi sono state riscontrate nello studio IDEAL-1 tra quei pazienti sintomatici al basale. Nell'IDEAL-226 tra i pazienti con trattamento palliativo dei sintomi il 56% presentava miglioramento nella prima settimana del trattamento e il 75% entro 3 settimane. È importante notare che in entrambi gli studi i sintomi miglioravano nel 96% dei pazienti con risposta radiologica. Il miglioramento dei sintomi si correlava strettamente anche con la sopravvivenza e, pertanto, poteva essere considerato un indice di risposta. Nell'IDEAL-226 nei pazienti con miglioramento dei sintomi la mediana della sopravvivenza era di 13 mesi, mentre nei pazienti senza miglioramento dei sintomi la mediana della sopravvivenza era di 5 mesi. La risposta tumorale al gefitinib non si associa all'espressione dell'EGFR (31, 32). Piuttosto questa risposta potrebbe essere legata a differenze genetiche dell'EGFR tra le sottopopolazioni o a livello dell'attività di EGFR-TK. Due studi recenti hanno identificato delle versioni mutanti specifiche di EGFR nelle cellule del NSCLC che sembrano determinare la risposta al gefitinib (33, 34) e all'erlotinib (35). Queste mutazioni somatiche (piccole delezioni o

sostituzioni aminoacidiche) con acquisizione di funzione sono vicine in sequenza al sito catalitico del TK e determinano un aumento dell'attivazione EGF-indotta e dell'inibizione della TK gefitinib-indotta. L'aggiunta del ligando EGF raddoppiava o triplicava l'attivazione dei recettori EGF mutanti rispetto all'EGFR wild-type. Inoltre, mentre l'attivazione dell'EGFR wild-type era sottoposta a down-regulation (sottoregolazione) dopo 15 minuti, i recettori mutanti erano attivati continuamente fino a tre ore. Le mutazioni probabilmente stabilizzano l'interazione tra gefitinib e TK aumentando l'effetto inibitorio del farmaco. I recettori mutanti che contengono queste diversità sono circa 10 volte più sensibili all'iniziazione con gefitinib rispetto all'EGFR originale. Nello studio di Lynch e coll., mutazioni dell'EGFR sono state dimostrate in otto su nove pazienti con cancro del polmone sensibile al gefitinib, rispetto a zero su sette pazienti che non rispondevano al farmaco ($p = 0,001$). Nell'insieme, i nove pazienti che rispondevano al gefitinib traevano benefici dalla terapia con una mediana della sopravvivenza > 18 mesi dall'inizio del trattamento. Come osservato in precedenti studi, la maggior parte dei pazienti nello studio di Lynch e coll. che rispondeva al gefitinib era costituita da donne, pazienti che non avevano mai fumato e pazienti con tumori broncoalveolari. Al momento queste mutazioni sono state documentate solamente nelle cellule del NSCLC. Non è chiaro se anche le risposte all'erlotinib si correlino con queste mutazioni. Sebbene le mutazioni possano servire ad identificare quei pazienti con maggiore probabilità di avere una risposta completa, non si esclude che anche altri pazienti possano avere un beneficio clinico dal gefitinib (Tab 4, 5 e 6).

Lo studio Isel, di fase III che ha confrontato il gefitinib, in 2° e 3° linea di pazienti affetti da NSCLC in fase avanzata, confrontato con la BSC (miglior terapia di supporto), non ha mostrato un incremento di sopravvivenza statisticamente significativo; pertanto ad oggi il gefitinib, non è approvato dall'FDA, ma viene assunto dai pazienti che ne hanno un persistente beneficio, da quando assunto, per uso compassionevole.

HER1/EGFR TK mutations in patients with NSCLC who respond to a HER1/EGFR TKI

Authors	Drug	Patients with somatic mutations	
		Responders	Non-responders
Paez et al., Jänne et al. (DFCI) ¹	Gefitinib	7/7	0/6
Lynch et al. (MGH) ¹	Gefitinib	8/9	0/7
Pao et al. (MSKCC) ²	Gefitinib	7/10	0/8
Pao et al. (MSKCC) ²	Tarceva	5/7	0/10
Jänne et al. (DFCI) ¹	Tarceva	3/5	1/8
Total		30/38 (79%)	1/39 (3%)

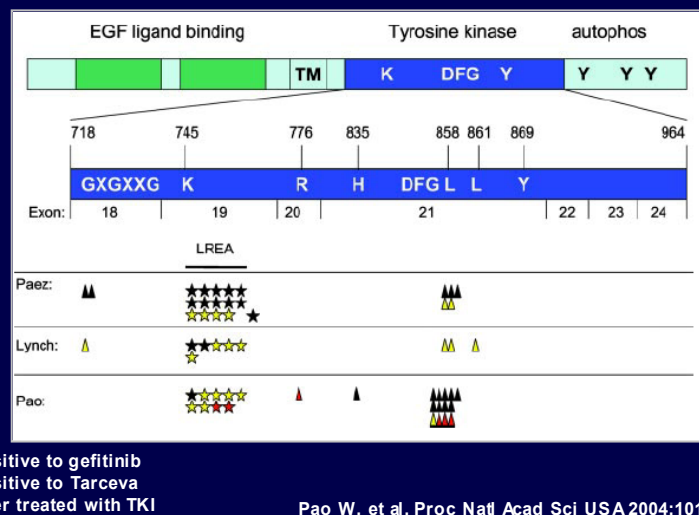
TKI = TK inhibitor

¹Arteaga C. Presented at ASCO 2004

²Pao W, et al. Proc Natl Acad Sci USA 2004;101:13306–11

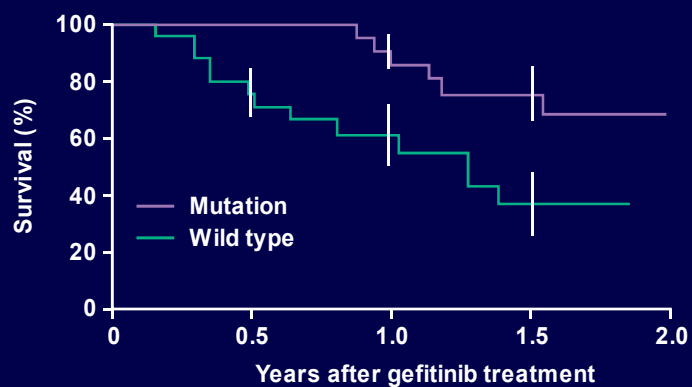
Tab. 4

Known HER1/EGFR activating mutations underlying NSCLC sensitivity to gefitinib or Tarceva



Tab. 5

HER1/EGFR mutations and survival



No. of patients at risk	
Mutation	33
Wild type	26

	0.5	1.0	1.5
Mutation	28	19	12
Wild type	18	10	6

Mitsudomi T, et al. J Clin Oncol 2005;23:2513-20

Tab. 6

Erlotinib

L'erlotinib è stato studiato in uno studio di fase II non controllato verso placebo in 57 pazienti con NSCLC in stadio avanzato che avevano ricevuto almeno un ciclo di chemioterapia a base di platino. I pazienti dovevano avere un tumore EGFR-positivo documentato con immunohistochimica. L'esito primario era la risposta oggettiva del tumore mentre gli esiti secondari includevano il tempo di progressione, la sicurezza, la sopravvivenza e la qualità della vita. I pazienti ricevevano erlotinib alla dose di 150 mg/die. La risposta oggettiva era del 13% e il controllo della malattia era pari al 51%. Tra i pazienti che avevano ricevuto due o più regimi terapeutici (n = 47) la risposta era del 13%; tra i pazienti che avevano ricevuto i trattamenti con platino e taxane la risposta era pari al 10%. L'erlotinib è stato studiato anche in uno studio di fase III (28) controllato verso placebo (BR.21 trial) (Tab 5). I pazienti dovevano aver ricevuto uno o due precedenti regimi chemioterapici e venivano randomizzati 2:1 al trattamento con 150 mg/die di erlotinib o placebo. L'end-point primario era la sopravvivenza. La risposta si otteneva nel 9% dei casi nel braccio trattato con erlotinib (n = 427) e < 1% nel gruppo trattato con placebo (n = 211). La stabilizzazione della malattia si otteneva nel 35% dei pazienti trattati con erlotinib e nel 27% dei pazienti nel gruppo placebo. La sopravvivenza globale (6,7 mesi, p = 0,001) e senza progressione (2,2 mesi, p < 0,001) erano significativamente migliorate nel gruppo trattato con erlotinib rispetto a quello trattato con placebo. L'erlotinib induceva anche un significativo miglioramento dei sintomi (dolore, dispnea, tosse, fatica) e nella qualità di vita rispetto al placebo. I risultati di questi studi hanno dimostrato che inibire l'attività dell'EGFR-TK con gefitinib o erlotinib nei pazienti con NSCLC in fase avanzata può indurre un miglioramento radiologico del tumore, un miglioramento dei sintomi e un miglioramento globale della qualità di vita con effetti collaterali minimi.

Lo studio dell'erlotinib TRUST di fase IV, che ha coinvolto circa 7000 pazienti, ha documentato che erlotinib offre un beneficio rispetto al

placebo, in pazienti affetti da NSCLC avanzato, in 2°/3° linea, indipendentemente da istotipo, sesso, anamnesi positiva per fumo o meno e razza.

Tab. 5—Risultati della sopravvivenza dallo studio BR.21 su erlotinib vs placebo*

End point	Erlotinib (n = 488)	Placebo (n = 243)	Valore di p
Soprav. senza PD, mesi	2,2	1,8	< 0,001
Soprav. globale, mesi	6,7	4,7	< 0,001
Soprav. a 1 anno, %	31	22	NA

*Dati dallo studio di Shepherd e coll..

Tossicità della Terapia Anti-EGFR:

I rash cutanei sono gli effetti collaterali più comuni associati con gli anticorpi monoclonali anti-EGFR (Fig. 2). Sono state identificate due tipi di alterazioni istologiche: un infiltrato infiammatorio superficiale del derma e la follicolite suppurativa superficiale (36). È stato riportato un trend verso l'incidenza dose dipendente del rash secondario ad anticorpi anti-EGFR; tuttavia, la gravità del rash non sembra essere dose-dipendente. I dati clinici suggeriscono una potenziale relazione tra lo sviluppo di rash e gli esiti clinici nei pazienti trattati con cetuximab e TKI. Una revisione di quattro studi di fase II (37) che includevano diversi tipi di tumori ha evidenziato che i pazienti che manifestavano rash dopo trattamento con cetuximab avevano una sopravvivenza più lunga rispetto ai pazienti nei quali il rash non compariva. Gli EGFR-TKI come classe sono ben tollerati. Gli effetti collaterali più comuni sono dermatologici (rash acneiforme e xerosi o pelle secca, paronichia e tricomegalia) (Fig. 3) e gastrointestinali (diarrea). Questi effetti collaterali sono in generale di grado da lieve a moderato, facili da trattare e reversibili. Con il gefitinib la frequenza degli effetti collaterali legati al farmaco è dose-

dipendente, con un numero maggiore di effetti collaterali che si verificavano alla dose di 500 mg/die rispetto alla dose di 250 mg/die. Non c'è evidenza che la tossicità da gefitinib sia cumulativa con cicli successivi di trattamento.

Il rash acneiforme non rappresenta una reazione allergica ma piuttosto un effetto dell'inibizione dell'EGFR a livello della cute (38). La correlazione tra la comparsa del rash cutaneo e i benefici clinici dei TKI è tutt'ora in fase di studio, ma si è dimostrata in molti casi un'associazione tra intensità del rash, risposte obiettive e sopravvivenza. Dopo l'introduzione sul mercato in Giappone, è emerso che l'interstiziopatia polmonare (ILD) rappresenta una complicazione rara ma molto grave legata all'uso di gefitinib (39). Nel mondo, la percentuale di ILD legata all'uso compassionevole del gefitinib è $< 0,1\%$ e la mortalità è $< 0,3\%$. Negli studi fase III che confrontano la chemioterapia standard associata o meno a gefitinib, la percentuale di ILD non era significativamente diversa rispetto al placebo. Nello studio BR.21 sull'erlotinib, l'ILD è stata osservata con un'incidenza $< 1\%$, che non era significativamente diversa dal placebo. Dovrebbe anche essere notato che il trattamento standard delle neoplasie polmonari con chemioterapia o radioterapia è associato ad una incidenza di ILD di circa l'1%. L'ILD dovrebbe sempre essere presa in considerazione in ogni paziente trattato per cancro del polmone con insorgenza improvvisa o peggioramento della dispnea non spiegabile altrimenti o nuovi infiltrati alla radiografia e i trattamenti con chemioterapici, inclusi gli EGFR-TKI, dovrebbero essere sospesi mentre si prendono i provvedimenti necessari per la gestione della complicanza. La polmonite acuta si può risolvere con la sospensione del trattamento o con un breve ciclo a base di cortisonici. Tuttavia una volta che la fibrosi si è manifestata si può avere una perdita irreversibile della funzione polmonare e in questo sottogruppo di pazienti ci si può aspettare un tasso di mortalità fino al 50%.



Fig. 2: Rash acneiforme: colpisce le aree seborroiche, risparmia piante dei piedi e palmi delle mani.



Fig 3. Paronichia, tricomegalia e xerosi.

Selezione dei Pazienti:

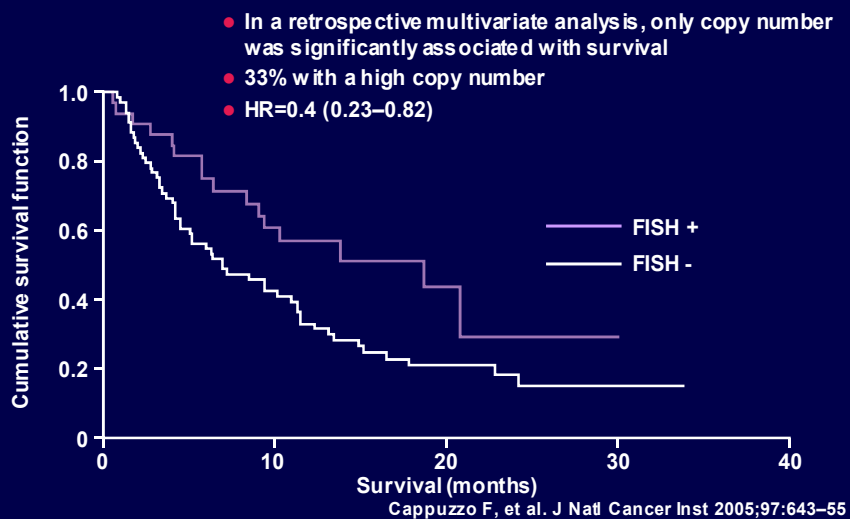
Esistono diverse popolazioni di pazienti che dovrebbero essere prese in considerazione per la terapia con gli agenti orali specifici. Attualmente gli EGFR-TKI dovrebbero essere presi in considerazione per i pazienti con NSCLC in fase avanzata o metastatica refrattari alla chemioterapia di prima scelta (associazioni a base di platino) o di seconda scelta (docetaxel o pemetrexed). Inoltre, questi nuovi agenti rappresentano una nuova opzione terapeutica per i pazienti con NSCLC in stadio avanzato che hanno un PS scarso o in quelli che non tollerano la chemioterapia. I pazienti con un PS scarso potrebbero non tollerare i regimi standard di chemioterapia. Inoltre, esistono evidenze che i pazienti con un PS scarso ricevono scarso beneficio dalla chemioterapia a base di cisplatino. Pertanto, le opzioni terapeutiche per questi pazienti sono molto limitate e includono la chemioterapia con un solo agente o la terapia di supporto. Lo scopo principale della terapia in questo sottogruppo di pazienti è il trattamento palliativo dei sintomi, il controllo della malattia e la qualità della vita. Gli agenti specifici per l'EGFR possono rappresentare una nuova opzione terapeutica per i pazienti con un PS scarso. Questi agenti determinano di solito effetti collaterali lievi e sono ben tollerati senza gli effetti sistemici gravi delle terapie citotossiche. Inoltre, gli EGFR-TKI determinano miglioramento dei sintomi e stabilizzazione della malattia. Risulta altresì importante considerare le mutazioni dell'EGFR, che come abbiamo già detto, sono fattori predittivi di risposta ai TKI ed inoltre risulta importante la valutazione della k-ras, la cui mutazione risulterebbe associata ad una mancata efficacia delle terapia anti-EGFR, come dimostrato in studi condotti sul cetuximab nel colon retto e sul pancreas ed inoltre sul gefitinib ed erlotinib nel NSCLC. Inoltre l'amplificazione delle EGFR valutata secondo metodica FISH deve essere considerato un fattore predittivo di risposta alle EGFR (Tab. 7); invece l'iperespressione valutata con l'immunoistochimica, non appare un fattore predittivo di risposta agli anti-EGFR, ma rimane un fattore prognostico negativo (Tab. 6).

EGFR status: predictive status in NSCLC

- **Mutations** are rarely found in this heterogeneous disease
 - do not differentiate all patients who benefit from an EGFR-TKI
 - identify a subset of patients with an increased absolute advantage from chemotherapy and/or EGFR-TKI (prognostic factor?)
 - difficult to perform (laser capture: PCR: sequencing)
- **Immunohistochemistry** requires standardised procedures for quantification
 - adequate on cytology specimen?
- **FISH** is more standardised
 - not evaluated in a prospective fashion
- **Tissue/biopsy availability** is a problem for NSCLC patients
 - is the current data sufficient to warrant pre-treatment biopsy for all patients?

Tab. 6

FISH analysis and survival: NSCLC patients treated with gefitinib



Tab. 7

Dosaggio Appropriato e Durata della Terapia:

Per il NSCLC il gefitinib viene somministrato alla dose di 250 mg/die, che è al di sotto della dose massima tollerata pari a 700 mg/die. Negli studi IDEAL (29, 30), l'utilizzo del gefitinib alla dose di 500 mg/die induceva una tossicità più elevata senza ulteriori benefici clinici rispetto alla dose di 250 mg/die.

L'erlotinib si somministra alla dose di 150 mg/die. Al momento, ci sono studi in corso per stabilire se è necessario un dosaggio più alto o più basso di erlotinib nel NSCLC in stadio avanzato.

Per tutti i sottogruppi di pazienti il trattamento con EGFR-TKI dovrebbe essere mantenuto fino a quando il paziente ottiene benefici clinici, inclusi una risposta parziale o completa, la stabilizzazione della malattia o il miglioramento dei sintomi. Il progredire della malattia o il peggioramento dei sintomi indicano che il trattamento deve essere sospeso e altre opzioni terapeutiche devono essere prese in considerazione.

Prospettive Future:

Oltre a gefitinib ed erlotinib, altri EGFR-TKI sono al momento inclusi negli studi di fase I/II. Molti di questi EGFR-TKI hanno una diversa selettività per i vari membri della famiglia dell'EGFR umano.

Il CI-1033, un pan-erbB TKI, è un agente clinicamente promettente, attivo contro i quattro membri della famiglia dei recettori erbB (40) TK. L'inibizione del CI-1033 è altamente selettiva per erbB1 (EGFR), erbB2, erbB3 ed erbB4, ed è al momento studiata in studi di fase I. Come detto prima, l'anticorpo monoclonale cetuximab è stato approvato per il trattamento del cancro colon-rettale ma gli studi di fase III sono ancora in corso. Inoltre, sono in via di sviluppo due anticorpi umanizzati anti-EGFR, panitumumab e EMD 72000. L'anticorpo monoclonale

antiangiogenico contro il fattore vascolare di crescita endoteliale bevacizumab è stato recentemente approvato per il trattamento del carcinoma colon-rettale in fase metastatica e per il carcinoma polmonare non a piccole cellule in prima linea metastatica in associazione a chemioterapia contenente Cisplatino. Le molecole chimeriche create unendo porzioni dei geni per i ligandi (EGF1, TGF-alfa) con il gene di una tossina rappresentano un nuovo approccio per indirizzare le tossine alle cellule tumorali che esprimono l'EGFR. Il DAB389-EGF rappresenta una di queste tossine attualmente valutata in uno studio di fase II per il NSCLC. Molti di questi agenti specifici vengono studiati in associazione tra loro e con le chemioterapie standard. C'è ancora molto da imparare sull'utilizzo di questi agenti. Il loro buon profilo di tollerabilità ha permesso il loro uso in associazione in quei pazienti per i quali non ci sono altre opzioni. In questa fase, i risultati promettenti suggeriscono che il futuro potrà portare ulteriori benefici per i pazienti una volta che si stabilisce l'uso più appropriato di questi farmaci.

Considerazioni:

Le migliori conoscenze sui meccanismi di crescita delle cellule tumorali hanno facilitato lo sviluppo di terapie basate sui meccanismi molecolari che possono agire su bersagli specifici. Gli anticorpi anti- EGFR e gli EGFR-TKI si sono dimostrati efficaci nel trattamento di pazienti con NSCLC in fase avanzata che non hanno risposto a precedenti terapie di prima o di seconda scelta. Benefici importanti per i pazienti con NSCLC in fase avanzata includono la riduzione della massa tumorale, la stabilizzazione della malattia, il miglioramento dei sintomi e della qualità di vita in circa la metà dei pazienti trattati. L'inibizione del sistema di trasduzione dei segnali dell'EGFR permette di ottenere questi effetti quando le altre terapie hanno fallito. La chemioterapia citotossica ha spesso delle limitazioni a causa di gravi effetti tossici sistemici. Con le terapie molecolari specifiche il massimo effetto antitumorale può essere

ottenuto a dosi che sono notevolmente inferiori alla dose massima tollerata. Gli eventi avversi sono lievi, trattabili e reversibili con la cessazione del farmaco.

Nell'insieme, questi dati supportano l'uso di agenti specifici per migliorare gli esiti clinici e la qualità di vita nei pazienti con NSCLC in fase avanzata. Questi agenti dovrebbero essere considerati un'opzione terapeutica per i pazienti che non hanno avuto beneficio o non sono eleggibili ad essere trattati con la chemioterapia tradizionale. L'American Society of Clinical Oncology e il National Comprehensive Cancer Network hanno recentemente rivisto e revisionato le loro linee guida pratiche basate sul consenso per il trattamento del NSCLC; in queste linee guida, le terapie specifiche sono raccomandate come seconda o terza scelta.

Il trattamento dei pazienti con NSCLC è fatto meglio attraverso un approccio interdisciplinare. In precedenza, è stato dimostrato che non tutti i pazienti vengono inviati all'oncologo medico perché gli pneumologi e i chirurghi sono convinti che i benefici della sopravvivenza siano ridotti dalla tossicità della chemioterapia. Questi nuovi farmaci rappresentano una promettente opzione terapeutica per i pazienti con cancro del polmone in fase avanzata e pertanto i pazienti dovrebbero essere inviati all'oncologo per considerare questo trattamento.

Anche se i pazienti non dovrebbero essere illusi che la "bacchetta magica" guarirà il cancro, questa strategia rappresenta un passaggio fondamentale per il trattamento del cancro polmonare nel futuro.

Bibliografia essenziale

1. Surveillance Research, American Cancer Society, Inc 2005.
2. Saba NF, Khuri FR. Chemoprevention strategies for patients with lung cancer in the context of screening. *Clin Lung Cancer* 2005; 7 (2): 92-9.
3. Ginsberg RJ, Vokes EE, Rosenzweig K: Non-small cell lung cancer. In: DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA, eds. Cancer principles and practice of oncology. 6th ed. Philadelphia: Lippincott-Williams & Wilkins 2001: 925-83.
4. Pisters KM, Le Chevalier T: Adjuvant chemotherapy in completely resected non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23 (14): 3270-8.
5. Farray D, Mirkovic N, Albain KS: Multimodality therapy for stage III non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23 (14): 3257-69.
6. Shiller JH, Harrington D, Belani CP, Langer C, Sandler A, Krook J: Comparison of four chemotherapy regimens for advanced NSCLC. *NEJM* 2002; 346 (2): 92-8.
7. D'Addario G, Pintilie M, Leighl NB, Feld R, Cerny T, Shepherd FA: Platinum-based versus non-platinum-based chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer: a meta-analysis of the published literature. *J Clin Oncol* 2005; 23 (13): 2926-36.
8. Pao W, Miller VA: Epidermal growth factor receptor mutations, small-molecule kinase inhibitors, and non-small-cell lung cancer: current knowledge and future directions. *J Clin Oncol* 2005; 23(11): 2556-68.
9. Sundstrom S, Bremnes RM, Kaasa S, et al: Cisplatin and etoposide regimen is superior to cyclophosphamide, epirubicin, and vincristine regimen in small-cell lung cancer: results from a randomized phase III trial with 5 years' follow-up. *J Clin Oncol* 2002; 20: 4665-72.
10. The International Early Lung Cancer Action Program Investigators. Survival of patients with stage I lung cancer detected on CT screening. *N Engl J Med* 2006; 355: 1763-71.
11. Roth Jr et al. A randomised trial comparing perioperative chemotherapy plus surgery with surgery alone in resectable Stage IIIA NSCLC. *J Natl Canc Inst* 1994; 86: 673-680.

12. Novello S, Le Chevalier T. Chemotherapy for NSCLC. Part 2: advanced disease. *Oncology* 2003; 17(4): 457-471.
13. Fossella FV et al. Randomised phase III trial of docetaxel versus vinorelbine or ifosfamide in patients with advanced NSCLC previously treated with platinum-containing chemotherapy regimens: the TAX 320 NSCLCSG. *JCO* 2000; 18: 2354-62.
14. Sheperd FA et al. Prospective randomised trial of docetaxel versus best supportive care in patients with NSCLC previously treated with platinum-based chemotherapy. *JCO* 2000; 18: 2095-103.
15. Arteaga C. Targeting in the treatment of second-line NSCLC. *Semin Oncol* 2005; 30: 3-14.
16. Olayioye MA et al. The erbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer. *EMBO J* 2003; 3(19): 3159-67.
17. Voldborg BR et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) and EGFR mutation, function and possible role in clinical trials. *Ann Oncol* 1997; 8: 1197-206.
18. SeymourLK. Epidermal growth factor receptor as a target: recent developments in search for effective new anti-cancer agents. *Curr Drug Targets* 2001; 2: 117-33.
19. Arteaga CL. The EGFR: from mutant oncogene in nonhuman cancers to therapeutic target in human neoplasia. *JCO* 2001; 19 (Suppl. 18): 32S-40S.
20. Pringent SA et al. The type 1 (EGFR-related) family of growth factor receptors and their ligands. *Prog Growth factor Res* 1992; 4 (1): 1-24.
21. Rush V et al. Overexpression of EGFR and its ligand Transformin factor alpha is frequent in resectable NSCLC but does not predict tumor progression. *Clin Canc Res* 1997;3:515-22.
22. Pao W et al. EGF receptor gene mutation are common in lung cancer from "new smokers" and are associated with sensitivity of tumors getifinib and erlotinib. *Proc Natl acad sci USA* 2004; 101:13306-11.

- 23 Baselga J. New technologies in epidermal growth factor receptor-targeted cancer therapy: an overview of novel therapeutic agents in development. *Signal* 2000; 1:12–2.1
- 24 Herbst RS, Kim ES, Harari PM. IMC-C225: an anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody for the treatment of head and neck cancers. *Expert Opin Biol Ther* 2001; 1:719–732.
- 25 Baselga J, Pfister D, Cooper MR, et al. Phase I studies of anti-epidermal growth factor receptor chimeric antibody C225 alone and in combination with cisplatin. *J Clin Oncol* 2000; 18:904–914. *CHEST / Edizione Italiana / VIII / 1 / GENNAIO-MARZO, 2006; 59.*
- 26 Bonner JA, Giralt PM, Harari R, et al. Phase III study of high dose radiation with or without cetuximab in the treatment of locoregionally advanced squamous cell cancer of the head and neck (SCCHN) [abstract]. *Am Soc Clin Oncol* 2004. Available at: <http://www.asco.org/ac/1,1003,12-002636-0018-0026-0019-00213,00.asp>. Accessed July 2004.
- 27 Mendelsohn J. The epidermal growth factor receptor as a target for cancer therapy. *Endocr Relat Cancer* 2001; 8:3–9.
- 28 Shepherd FA, Pereira J, Ciuleanu TE, et al. Erlotinib in previously tested non-small cell lung cancer. *N Engl J Med* 2005; 353:123–132.
- 29 Fukuoka M, Yano S, Giaccone G, et al. Multi-institutional randomized phase II trial of gefitinib for previously treated patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21:2237–2246.
- 30 Kris MG, Natale RB, Herbst RS, et al. Efficacy of gefitinib, an inhibitor of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase, in symptomatic patients with non-small cell lung cancer: a randomized trial.
- 31 Bailey R, Kris M, Wolf M, et al. Tumor EGFR membrane staining is not clinically relevant for predicting response in patients receiving gefitinib ('Iressa', ZD1839) monotherapy for pretreated advanced non-small-cell lung cancer: IDEAL 1 and 2. *Proc Am Assoc Cancer Res* 2003; 44 (2nd ed):1362.
32. Bailey LR, Janas M, Schmidt K, et al. Evaluation of epidermal growth factor receptor (EGFR) as a predictive marker in patients with

non-small-cell lung cancer (NSCLC) receiving first-line gefitinib combined with platinum-based chemotherapy. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2004; 23:618.

33 Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004; 350:2129–2139.

34 Paez JG, Jänne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004; 304:1497–1500.

35 Pao W, Miller V, Zakowski M, et al. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from “never smokers” and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101:13306–13311.

38 Busam KJ, Capodiceci P, Motzer R, et al. Cutaneous side effects in cancer patients treated with the antiepidermal growth factor receptor antibody C225. *Br J Dermatol* 2001; 144:1169–1176.

39. Inoue A, Saijo Y, Maemondo M, et al. Severe acute interstitial pneumonia and gefitinib. *Lancet* 2003; 361:137–139.

40. Slichenmyer WJ, Elliott WL, Fry DW. CI-1033, a pan-erbB tyrosine kinase inhibitor. *Semin Oncol* 2001; 5(suppl16): 80–85.