

ARTIGO DE REVISÃO

Receptores tirosina-quinase: implicações terapêuticas no câncer

Receptor tyrosine kinases: therapeutic implications in cancer

Caio Abner V G Leite¹; José Victor G Costa¹; Rodrigo B Callado¹; João Nathanael L Torres¹; Roberto César P Lima Júnior²; Ronaldo A Ribeiro³

¹Acadêmicos de Medicina, Ex-Monitores de Farmacologia, atuais Bolsistas de Iniciação Científica (CNPq), Faculdade Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

²Professor Adjunto de Farmacologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

³Professor Titular de Oncologia e Farmacologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará; Oncologista Clínico do Hospital Haroldo Juaçaba do Instituto do Câncer do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil. Pesquisador 1A do CNPq.

PALAVRA-CHAVE

câncer, receptor tirosina quinasetirosina-quinase, inibidor de tirosina quinasetirosina-quinase, anticorpo monoclonal

KEYWORDS

cancer, tyrosine kinase receptor, tyrosine kinase inhibitor, monoclonal antibody

RESUMO

Nas últimas duas décadas, a melhor compreensão da biologia do câncer permitiu um progresso notável no manejo clínico dessa doença. Isso é resultado do crescente conhecimento sobre as estruturas moleculares e vias de sinalização de receptores tirosina-quinase, o que levou ao desenvolvimento de diversas terapias alvo, incluindo os inibidores de tirosina-quinase (TKIs) e os anticorpos monoclonais (Mabs). Alguns dos TKIs disponíveis são relativamente específicos para o receptor de fator de crescimento epidérmico (EGFR), como o Erlotinibe e o Gefitinibe, enquanto outros, por exemplo, Sunitinibe e Sorafenibe, agem em vários alvos, incluindo receptor do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGFR) e receptor do fator de crescimento do endotélio vascular (VEGFR). Além disso, um número de Mabs, como o Trastuzumabe (anti-HER2), Cetuximabe (anti-EGFR) e Bevacizumabe (anti-VEGF), vem sendo utilizados na terapêutica do câncer, como no câncer de mama, câncer colorretal e câncer de pulmão não pequenas células. Um grande número de outros TKIs e Mabs está sob investigação em ensaios clínicos. Dessa forma, esta revisão fornece uma visão geral das terapias alvo, com ênfase sobre os mecanismos, aplicabilidade clínica e perspectivas futuras.

ABSTRACT

In the last two decades, the improved understanding of the cancer biology allowed a remarkable progress in the management of such disease. This is a result of the growing knowledge regarding the structures and signaling pathways of tyrosine kinase receptors, which led to the development of several target therapies, including the tyrosine kinase inhibitors (TKIs) and monoclonal antibodies (Mab). Some of the available TKIs are relatively specific for epidermal growth factor receptor (EGFR), such as erlotinib and gefitinib, while others, for instance sunitinib and sorafenib, act on multiple targets, including platelet-derived growth factor receptor (PDGFR) and vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR). In addition to that, a number of Mabs, such as trastuzumab (anti-HER2), cetuximab (anti-EGFR) and bevacizumab (anti-VEGF) have been used in cancer therapy, for example breast cancer, colorectal cancer and non-small cell lung cancer. A great number of other TKIs and Mabs are under investigation in clinical trials. Then, this review provides an overview of target therapies, with an emphasis on the pharmacological mechanisms, clinical applicability and future perspectives.

RECEBIDO: 23/02/2012 | ACEITO: 04/10/2012

■ INTRODUÇÃO

O tratamento farmacológico do câncer recebeu significativos avanços nas últimas décadas. A descoberta de vias envolvidas na transdução de sinais desencadeados pela ativação de receptores por seus ligantes nas células tumorais tornou possível a identificação e posterior validação de novos alvos terapêuticos do câncer, levando ao desenvolvimento de novas classes de drogas, comumente conhecidas como terapias alvo. Essas drogas representam uma grande promessa para o aperfeiçoamento dos tratamentos convencionais, que se baseiam na ressecção cirúrgica tumoral, na radioterapia, hormonioterapia, e quimioterapia. A terapia-alvo está frequentemente dirigida aos ligantes (fatores de crescimento), aos seus receptores ou ainda às moléculas envolvidas nas suas vias de sinalização intracelular.

Os fatores de crescimento (FC) desempenham um papel importante no controle da maioria dos processos celulares fundamentais, incluindo proliferação, diferenciação, metabolismo e sobrevivência celular, bem como migração celular e controle do ciclo celular¹. Os receptores dos FC podem sofrer desregulação em uma variedade de processos patológicos, incluindo câncer, diabetes, inflamação, doenças ósseas graves, arteriosclerose, e angiogênese¹. No câncer, alterações nesses FC e/ou em seus receptores ou ainda nas vias de transdução de sinais, por eles desencadeadas, podem estar presentes em várias características associadas ao fenótipo maligno, entre as quais pode-se citar: aquisição de auto-suficiência na produção de FC, de insensibilidade aos supressores do crescimento, de resistência à morte celular, de escape à destruição imune, de indução de angiogênese, de ativação da invasão e metastatização, de um potencial replicativo ilimitado, de instabilidade genômica e mutação, de inflamação promovida pelo tumor, e de desregulação energética celular².

Este trabalho foi realizado através de uma revisão bibliográfica, de fontes de revistas indexadas em bases de dados (PubMed, Scielo, Medline), com objetivo de discutir os mecanismos farmacológicos e moleculares envolvidos na ativação de receptores tirosina-quinase por ligantes, na transdução de sinais intracelulares desencadeados, assim como nas implicações relacionadas ao fenótipo maligno. Finalmente, realizamos a descrição do impacto da utilização dessas terapias na prática clínica do tratamento oncológico. Consideraram-se os artigos publicados até janeiro de 2012 e descritores padronizados: *cancer, solid tumors, tyrosine kinase receptors, target therapy, tyrosine kinase inhibitors, monoclonal antibodies, clinical trials*. Para cada um desses, foram selecionados os

descritores padronizados que se relacionavam a cada tema. Foram utilizados os operadores booleanos *or/and* entre os descritores padronizados.

■ CLASSIFICAÇÃO DOS RECEPTORES CELULARES

Baseados na estrutura molecular e na natureza dos mecanismos de transdução de sinal com ativação de cascatas intracelulares, classicamente pode-se distinguir quatro tipos de receptores:

Receptores Tipo I (Canais iônicos controlados por ligantes ou ionotrópicos). São proteínas de membrana com estrutura similar a outros canais iônicos, incorporando um sítio de ligação ao ligante (receptor), geralmente no domínio extracelular. Tipicamente, estes são os receptores nos quais os neurotransmissores rápidos agem. Exemplos incluem o receptor nicotínico da acetilcolina e o receptor de glutamato. Os canais iônicos geralmente se abrem quando o receptor estiver ocupado por um agonista. Entretanto, também podem ser modulados de diversas maneiras. O tipo mais simples de modulação envolve um bloqueio físico do canal pela molécula da droga, como ocorre com a ação bloqueadora dos anestésicos locais sobre o canal de sódio. Uma ativação ou inibição também pode ocorrer pela interação indireta envolvendo uma proteína G e outros intermediários³;

Receptores Tipo II (Receptores acoplados à proteína G ou metabotrópicos). São receptores que atravessam sete vezes a membrana celular (heptaacídicos). São receptores de membrana que estão acoplados a sistemas efetores intracelulares via uma proteína G. Esses receptores tem sua regulação feita por proteínas G triméricas, em contraposição às proteínas G monoméricas, como RAS ou rac, por exemplo, também chamadas pequenas proteínas G. A proteína G tem esse nome devido a sua interação com os nucleotídeos de guanina – guanosina difosfato (GDP) e guanosina trifosfato (GTP) – e c. As proteínas G triméricas consistem em três subunidades (alfa, beta e gama) que são difusíveis no plano da membrana celular. Estas atuam ativando ou inibindo a formação de segundos mensageiros intracelulares (Trifosfato de inositol, Diacilglicerol, 3',5'-adenosina-monofosfato cíclico), culminando com a fosforilação de proteínas e canais iônicos, por exemplo. Nessa classe de receptores estão incluídos os receptores para hormônios e transmissores lentos, como o muscarínico da acetilcolina e os receptores adrenérgicos³.

Receptores Tipo III (Receptores ligados à quinase e correlatos). Esse é um grande e heterogêneo grupo de receptores de membrana respondendo principalmente a mediadores protéicos. Apresentam um domínio

extracelular de ligação ao ligante conectado a um domínio intracelular por uma hélice única transmembrana. Em muitos casos, o domínio intracelular é de natureza enzimática (com atividade proteína quinase). Essa família inclui receptores para insulina, citocinas e fatores de crescimento (EGF e VEGF, por exemplo)³; Receptores Tipo IV (Receptores nucleares). São receptores que regulam a transcrição gênica. O termo receptor nuclear é um tanto falho, pois alguns estão na realidade localizados no citoplasma e migram para o compartimento nuclear, quando um ligante está presente. Compreende receptores para hormônios esteróides, hormônio da tireóide e outros agentes como o ácido retinóico e vitamina D3.

Em função dos objetivos dessa revisão, iremos nos deter aos mecanismos envolvidos na sinalização dos receptores com atividade proteína quinase, devido à importância que estes possuem na biologia do câncer e como alvos terapêuticos.

■ RECEPTORES TIROSINA-QUINASE

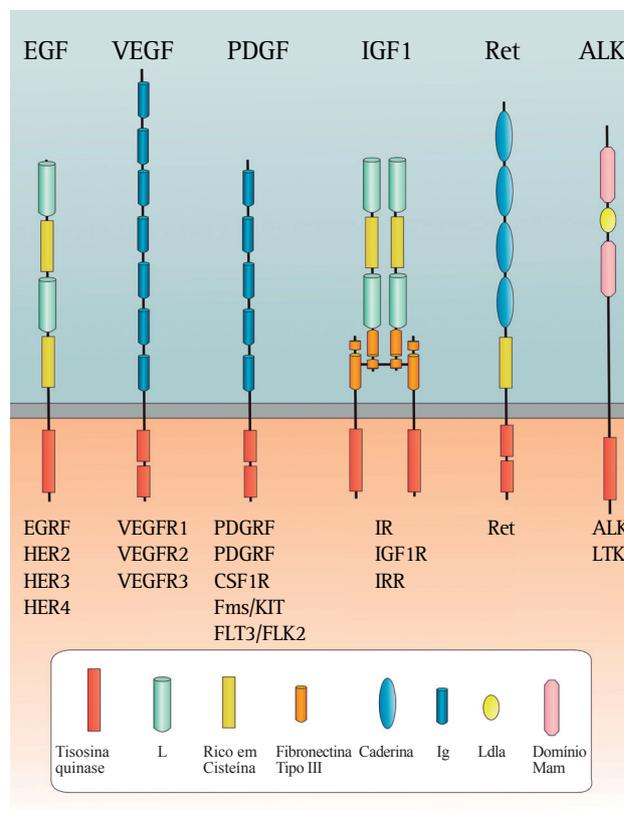
Atualmente, foram descritos 58 Receptores tirosina-quinase (RTK) humanos, divididos em 20 subfamílias, dos quais cada um é caracterizado por três segmentos: um domínio extracelular que funciona como um local obrigatório para um ligante específico, um domínio transmembranar e um domínio tirosina-quinase citoplasmático, além de sequências enzimáticas adicionais que promovem a transdução do sinal intracelular¹. A figura 1 mostra exemplos de alguns desses receptores.

Quando ocorre o contato entre o ligante (FC) e seu receptor na forma monomérica, ocorre um processo de dimerização, resultando na fosforilação do domínio intracelular, através da reação entre ATP e resíduos de tirosina. Em seguida, ocorre a fosforilação de proteínas-alvo que possuem o domínio SH2, o qual representa um sítio de reconhecimento para as fosfotirosinas. A fosforilação intracelular inicia uma cascata de reações citoplasmáticas que culmina em diversas respostas celulares³.

As reações citoplasmáticas ocorrem através de complexas interações enzimáticas sequenciais, que constituem as vias de sinalização. As principais vias de sinalização dos fatores de crescimento envolvem a via PI3K/Akt (Fosfatidilinositol 3-quinase/proteína quinase b) e a via Ras/Raf/MEK/MAPK, as quais têm funções importantes no crescimento, metabolismo, sobrevivência e divisão celular⁴ (Figura 2).

As vias Ras/Raf/MEK/MAPK e PI3K/Akt desempenham papéis críticos na transmissão de sinais provenientes dos receptores de FC para regular a expressão gênica

FIGURA 1. Estrutura dos principais receptores tirosina quinasetirosina-quinase. Os receptores tirosina quinasetirosina-quinase humanos contêm 20 subfamílias, das quais seis estão esquematicamente mostradas na figura com os nomes listados abaixo de cada receptor. Domínios estruturais nas regiões extracelulares, identificados por determinação da estrutura ou análise da seqüência, e são marcados de acordo com a estrutura. Os domínios intracelulares são mostrados como retângulos vermelhos (Adaptado de Lemmon et al., 2010).

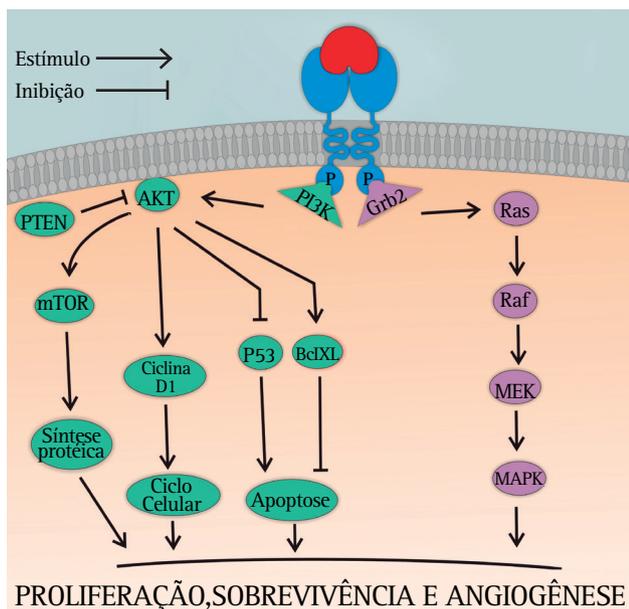


e evitar a apoptose. Estas vias interagem entre si para regular o crescimento e, em alguns casos a carcinogênese. Componentes dessas vias podem estar mutados ou superexpressos em diversos cânceres humanos (por exemplo, Ras, B-Raf, PI3K, PTEN, Akt)⁵.

Os principais FC envolvidos com o câncer, os quais representam alvos terapêuticos importantes são: fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de células tronco (SCF), fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), entre outros.

As principais abordagens terapêuticas envolvidas com os receptores tirosina-quinase são baseadas no uso de (a) Anticorpos monoclonais (*Monoclonal Antibodies*

FIGURA 2. Vias de transdução de sinais dos fatores de crescimento. Os receptores ativados estimulam as cascatas de fosforilação, incluindo aquelas envolvendo Raf/Ras/MEK/MAPK e PI3K/Akt, culminando na proliferação, sobrevivência celular, e angiogênese. (Adaptado de Murer, 2008)



ou MAb), e (b) pequenas moléculas inibidoras da tirosina-quinase (*Tyrosine Kinase Inhibitors* ou TKIs), que podem se ligar de forma reversível ou irreversível, e atuarem especificamente num receptor ou em vários. Apesar de atuarem com o mesmo objetivo final, essas duas classes de fármacos possuem mecanismos moleculares e perfil clínico diferentes. MAb são geralmente direcionados ao domínio externo dos receptores ou ao ligante, bloqueando a ligação ligante-receptor. TKIs impedem a fosforilação do domínio intracelular irosina-quinase, uma vez que competem pelo sítio de ligação do ATP⁶.

■ FATOR DE CRESCIMENTO EPIDÉRMICO

O receptor do fator de crescimento epidérmico (EGF), conhecido por HER-1 (Human Epidermal growth factor Receptor-1) medeia numerosos processos essenciais nas células epiteliais normais, incluindo proliferação, sobrevivência diferenciação, adesão e migração⁷. Nos seres humanos, existem quatro membros da família HER: EGFR/ErbB-1, HER2/ErbB-2/neu-2, HER3/ErbB-3, e HER4/ErbB-4⁸.

Quando esses receptores são estimulados por ligantes, ocorre a dimerização na forma de homodímeros ou heterodímeros. A capacidade da família HER heterodimerizar permite uma maior diversificação de vias

de sinalização⁹. Embora todos os membros dessa família de receptores sejam importantes mediadores das células normais do epitélio normal, não surpreendentemente, eles podem encontrar-se desregulados no câncer. De fato, anormalidades da via têm sido identificadas em câncer da mama, ovário, pulmão e cólon, para citar alguns.

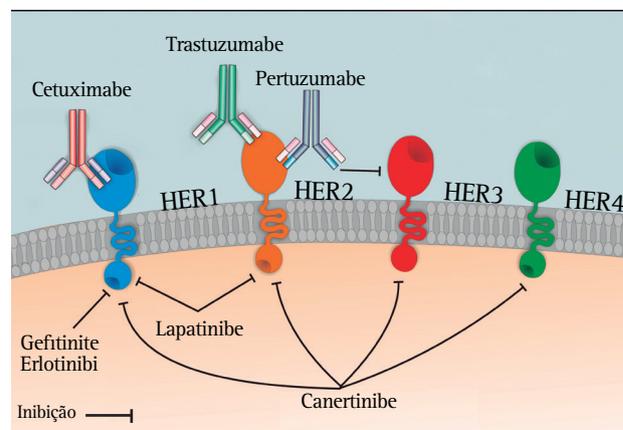
A desregulação dos receptores HER ocorre por uma variedade de mecanismos, entre eles:

- (a) superexpressão do receptor¹⁰.
- (b) superprodução de ligantes¹¹.
- (c) superexpressão do receptor acrescido de superprodução de ligantes, o que resulta numa alça autócrina¹².
- (d) mutações que provocam a ativação constitutiva do domínio tirosina-quinase¹³.
- (e) defeito na internalização com conseqüente não desativação dos receptores, mecanismo conhecido como *downregulation*¹⁴.

Além dos mecanismos de desregulação, os receptores tirosina-quinase podem ser estimulados por outras vias de sinalização, processo conhecido como transativação ou cross-talk. Essas vias marginais podem advir da ativação de receptores acoplados a proteína G, de receptores de citocinas/proteínas de adesão, de receptores ativados por canais de cálcio voltagem dependentes, várias formas de estresse celular (radiação ultravioleta, radiação gama, além de vários compostos oxidantes)¹⁵.

Com os processos de desregulação, as células tornam-se propensas à perpetuação tumoral, dando margem para que algumas estratégias terapêuticas possam bloquear esses processos. Os principais fármacos utilizados são Mabs e TKIs, como mostrado na figura 3.

FIGURA 3. Terapia alvo direcionada à família do receptor do fator de crescimento epidérmico.



■ INIBIDORES DE TIROSINA-QUINASE DO EGFR/HER1

➤ Gefitinibe

Gefitinibe (Iressa®, AstraZeneca) é uma pequena molécula que inibe reversivelmente a autofosforilação da tirosina-quinase do EGFR/HER1, inibindo a sua via de sinalização¹⁶.

Os efeitos antitumorais atribuídos ao Gefitinibe foram mostrados inicialmente em estudos pré-clínicos in vivo com xenoinxertos utilizando células tumorais de câncer de pulmão e próstata em animais atímicos¹⁷. Em seguida, foram desenvolvidos estudos clínicos com Gefitinibe em pacientes com câncer de pulmão não-pequenas células (CPNPC). No estudo fase I, foi mostrada resposta objetiva encorajadora de aproximadamente 8,5%¹⁸, evidenciada também em dois estudos fase II (IDEAL 1 e 2), com respostas objetivas de 12%¹⁹ e 18%²⁰. Entretanto, em grandes estudos fase III (IN-TACT 1 e 2) em que pacientes com CPNPC avançado, foram randomizados para receber quimioterapia à base de platina versus quimioterapia à base de platina em combinação com Gefitinibe, não foi evidenciado diferença significativa em termos de sobrevida geral (SG) e sobrevida livre de progressão (SLP) entre os grupos analisados^{21,22}. A observação de que subgrupos de pacientes do sexo feminino, com tipo histológico de adenocarcinoma^{19,20}, e de etnia japonesa¹⁹ apresentavam maiores taxas de resposta e maior sobrevida média, estimulou estudos posteriores na tentativa de identificar possíveis preditores de resposta ao Gefitinibe. Além disso, nunca ter fumado estava associado com sensibilidade aumentada ao Gefitinibe²³⁻²⁵. No entanto, não estava claro se resultados semelhantes seriam vistos em estudos controlados utilizando outras terapias ou se estes seriam fatores preditivos específicos para o Gefitinibe. Em uma análise retrospectiva, 81% dos pacientes que tiveram respostas parciais ou melhora clínica acentuada com uso de Gefitinibe ou Erlotinibe (outro inibidor do EGFR) apresentavam mutações no domínio tirosina-quinase EGFR (nos éxons 19 ou 21)²⁶. As mutações do EGFR foram mais prevalentes em mulheres, nunca-fumantes, com histologia de adenocarcinoma e de origem étnica asiática²⁶⁻²⁹, ou seja, aqueles grupos que já se mostravam com melhor resposta ao uso do Gefitinibe.

Com isso, foram desenvolvidos diversos estudos com finalidade de mostrar o benefício clínico do Gefitinibe em pacientes com CPNPC selecionados de acordo com as características clínicas ou da genética dos tumores. Dessa forma, o Gefitinibe foi associado a uma melhora significativa na sobrevida SG (9,5 vs 5,5 meses, $p = 0.010$, $n=235$) em pacientes de origem asiática com CPNPC previamente tratados com quimioterapia³⁰.

Finalmente, um estudo fase III, utilizando pacientes asiáticos com CPNPC, tipo histológico adenocarcinoma, não fumantes ou ex-fumantes leves, sem quimioterapia prévia, evidenciou superioridade na SLP do grupo tratado com Gefitinibe em comparação ao grupo tratado com carboplatina e paclitaxel (24,9% vs 6,7% de SLP em 12 meses)³¹. Os resultados desse estudo evidenciaram também que a presença das mutações do EGFR seria forte preditor de melhor resposta objetiva ao Gefitinibe³¹. Outro estudo fase III randomizou 230 pacientes com CPNPC metastático e mutação do EGFR para receberem Gefitinibe ou quimioterapia, e evidenciou um aumento na SLP (10,8 vs 5,4 meses, $p<0,001$) nos pacientes submetidos ao Gefitinibe, bem como um aumento na SG (30,5 vs 23,6 meses $p=0,31$)³².

➤ Erlotinibe

O Erlotinibe (Tarceva®, Genentech Roche) é uma pequena molécula que inibe reversível e seletivamente a atividade tirosina-quinase do EGFR, competindo com o ATP pelo sítio de ligação no domínio intracelular do EGFR³³. O Erlotinibe apresentou atividade antitumoral em modelos animais de câncer de cabeça e pescoço, carcinoma vulvar³⁴, câncer de mama e colorretal³⁵.

O estudo de fase III (BR21) em pacientes com CPNPC avançado que falharam a uma ou duas linhas de quimioterapia padrão, e que foram randomizados (2:1) para receber Erlotinibe mais melhores cuidados de suporte versus placebo mais melhores cuidados de suporte, evidenciou um aumento nas taxas de SLP (2,2 vs 1,8 meses, $p<0,001$, $n=731$) e SG (6,7 vs 4,7 meses, $p<0,001$) no grupo tratado com Erlotinibe³⁵. As taxas de resposta foram ainda maiores em pacientes que apresentaram rash, mulheres, nunca-fumantes, de etnia asiática, e com histologia de adenocarcinoma³⁵. A avaliação da qualidade de vida dos pacientes desse estudo, definido como o tempo de piora clinicamente significativa em três sintomas (tosse, dispnéia e dor), mostrou que pacientes que receberam Erlotinibe tiveram um maior tempo até a piora clínica³⁶. O BR21 foi o primeiro estudo a mostrar aumento de sobrevida em tumores sólidos tratados com inibidor de tirosina-quinase do EGFR. O Erlotinibe também mostrou eficácia no tratamento de primeira linha em pacientes de etnia asiática com CPNPC e mutação do EGFR, com aumento de SLP (13,1 vs 4,6 meses, $p<0,0001$, $n=165$)³⁷ e também em pacientes de etnia caucasiana, com aumento de SLP (9,4 vs 5,2 meses, $p<0,0001$, $n=1227$) e SG (22,9 vs 18,8, $p=0,42$)³⁸.

Além disso, um estudo fase II demonstrou que o acréscimo de Erlotinibe ao tratamento com gencitabina aumentou a SG (6,24 vs 5,91 meses, $p=0,023$, $n=569$)

e SLP (3,75 vs 3,55 meses, $p=0,004$) de pacientes com carcinoma de pâncreas localmente avançado, inoperável ou metastático³⁹.

■ INIBIDORES DUAIS DE HER1 E HER2

↗Lapatinibe

Lapatinibe (Tykerb®, GlaxoSmithKline) é um inibidor reversível da autofosforilação de ambos os receptores tirosina-quinase HER1 e HER2⁴⁰. O Lapatinibe inibe também uma forma de receptor HER2, conhecida por p95HER2 ou HER2 truncado, cujo domínio extracelular de ligação ao Trastuzumabe está ausente, o que confere resistência ao uso deste fármaco⁴¹.

Depois de demonstrada a atividade antitumoral do Lapatinibe em xenoenxertos, e em estudos fase I/II, foi avaliada, em estudo clínico fase III, a eficácia da associação de Lapatinibe com Capecitabina em mulheres com câncer de mama HER2-positivo metastático ou localmente avançado que progrediu após tratamento com regimes que incluíam antraciclina, taxanes e Trastuzumabe (anticorpo anti-HER2). O estudo concluiu que a terapia combinada proporciona maior SLP (8,4 s 4,4 meses, $p<0,001$, $n=324$) e maior taxa de resposta quando comparado à monoterapia com capecitabina, contudo a SG foi semelhante em ambos os braços do estudo⁴².

■ ANTICORPOS ANTI-HER

Anticorpos Anti-EGFR/HER1

↗Cetuximabe

Cetuximabe (Erbix®, Merck) é um anticorpo quimérico (recombinante, com características humanas e murinas) que se liga especificamente ao domínio extracelular do EGFR humano em células normais e tumorais, e inibe competitivamente a ligação do EGF ao seu receptor⁴³.

A inibição do EGFR através da ligação ao Cetuximabe promove uma vasta gama de propriedades biológicas antitumorais, exploradas em modelos experimentais *in vitro* e *in vivo*⁴³.

Estimulados pelos resultados pré-clínicos, diversos ensaios clínicos utilizando combinações de quimioterapia com Cetuximabe foram estudados em vários tipos de tumores. No câncer colorretal metastático, um ensaio clínico fase III mostrou que o acréscimo do Cetuximabe ao tratamento de primeira linha, com irinotecano, 5-fluorouracil e leucovorin (FOLFIRI) possibilitou um aumento na resposta objetiva (46,9 vs 38,7%, $p=0,004$) e na SLP (8,9 vs 8,0, $p=0,048$, $n=599$), sem aumento significativo na SG (estudo

CRYSTAL)⁴⁴. Quando estudado apenas os pacientes sem mutação do KRAS (a mutação do KRAS confere ativação constitutiva e consequente resistência ao Cetuximabe), o acréscimo de Cetuximabe ao FOLFIRI mostrou um impacto ainda maior na resposta objetiva (57,3 vs 39,7%, $p<0,0001$), assim como na SLP (9,9 vs 8,4 meses, $p=0,0012$, $n=1217$), e na SG (23,5 vs 20,0 meses, $p=0,0093$)⁴⁵. Por outro lado, quando associado ao regime com oxaliplatina, 5-fluorouracil e leucovorin (FOLFOX-4), o braço com Cetuximabe mostrou aumento na taxa de resposta (61% vs 37%, $p=0,011$, estudo OPUS)⁴⁶. Em outro estudo fase III, 1630 pacientes foram randomizados para receberem Cetuximabe combinado ou não ao esquema XELOX (Capecitabina mais Oxaliplatina), ou OxMdG (variação de Oxaliplatina mais 5-FU/Leucovorin). Embora se tenha observado um aumento na taxa de resposta, favorecendo a combinação com o anticorpo nos indivíduos com KRAS selvagem (64 vs 57%, $p=0,049$), não se observou diferença na SLP e na SG nesses casos (estudo MRC COIN)⁴⁷. Importante mencionar o estudo de Jonker e cols. que mostrou que Cetuximabe mais melhores cuidados de suporte quando comparado com melhores cuidados de suporte, era capaz de aumentar a SG (6,1 vs 4,6 meses, $p=0,005$, $n=572$) e a SLP e ainda preservar a qualidade de vida em pacientes com câncer colorretal metastático e imunoexpressão de EGFR, e que tinham sido previamente tratados sem resposta com regimes clássicos de quimioterapia.⁴⁸

No carcinoma recorrente ou metastático de células escamosas da cabeça e pescoço, quando comparado o acréscimo do Cetuximabe à terapia baseada em platina e fluorouracil, com a terapia sem o anticorpo, houve uma melhora na SG (10,1 vs 7,4 meses, $p<0,001$, $n=442$)⁴⁹.

↗Panitumumabe

Panitumumabe (Vectibix®, Amgen) é outro anticorpo monoclonal do tipo IgG2 que tem como diferencial o fato de ser totalmente humano. Une-se ao domínio extracelular de EGFR/HER1, inibindo a sua fosforilação⁵⁰. A eficácia do Panitumumabe foi testada em estudo clínico fase III, em pacientes com câncer colorretal metastático, que superexpressaram EGFR, e não responderam à terapia a base de 5-fluorouracil, CPT-11, e oxaliplatina. Quando comparado com apenas melhores cuidados de suporte o Panitumumabe foi capaz de prolongar a SLP (8,0 vs 7,3 semanas, $p<0,0001$, $n=463$), contudo sem diferença na SG⁵¹. Em seguida, outro estudo clínico fase III avaliou o acréscimo do Panitumumabe na segunda linha do tratamento de pacientes com câncer colorretal metastático (CCRM) e sem mutação do KRAS em associação com o esquema

FOLFIRI, mostrando um aumento na SLP (5,9 vs 3,9 meses, $p = 0,004$, $n = 1186$) quando comparado ao FOLFIRI apenas, contudo sem aumento de SG⁵². Na primeira linha do CCRm, a adição de Panitumumabe ao esquema FOLFOX aumentou a SLP (9,6 vs 8,0 meses, $p = 0,02$, $n = 1183$), contudo não aumentou a SG em pacientes com tumores KRAS selvagem⁵³.

■ ANTICORPOS ANTI-HER2

↗ Trastuzumabe

Trastuzumabe (Herceptin®, Genentech) é um anticorpo IgG1 humanizado que se liga com alta afinidade ao HER2, impedindo sua fosforilação, levando ao bloqueio da transdução de sinal intracelular⁵⁴.

O Trastuzumabe, tanto em ensaios in vitro como em animais, é capaz de inibir a proliferação de células tumorais humanas que superexpressam HER2⁵⁴. A eficácia do Trastuzumabe foi estudada em vários ensaios clínicos, dos quais estudo fase III evidenciou que a adição de Trastuzumabe à quimioterapia padrão para o câncer de mama metastático em pacientes com tumores superexpressando HER2 aumentava a SLP (4,6 vs 7,4 meses, $p < 0,001$, $n = 469$) e de SG (25,1 vs. 20,3 meses, $p = 0,046$)⁵⁵. Na terapia adjuvante do câncer de mama, o Trastuzumabe foi testado em 04 diferentes estudos fase III em pacientes com tumor positivo para HER2⁵⁶⁻⁵⁹. Em um deles, 3351 pacientes foram randomizadas para receber quimioterapia com doxorubicina e ciclofosfamida, seguido de paclitaxel e Trastuzumabe e depois apenas Trastuzumabe, ou receber apenas o regime quimioterápico sem o anticorpo. O grupo tratado com Trastuzumabe mostrou aumento na SLP (85% vs 67%, $p < 0,001$, $n = 3351$) e na SG (91% vs 87%, $p = 0,02$)⁵⁶. Em outro estudo, 3222 pacientes com câncer de mama HER2 positivo, em estágio inicial, foram randomizadas em três grupos, para receber doxorubicina e ciclofosfamida seguido por docetaxel a cada 3 semanas (AC-T), ou o mesmo regime, mais 52 semanas de Trastuzumabe, ou ainda docetaxel e carboplatina com 52 semanas de Trastuzumabe, as taxas de SLP em cinco anos foram 75% vs 84% vs 81%, respectivamente, e as taxas de SG foram 87%, 92% e 91%, respectivamente, sem diferença significativa na eficácia entre os dois regimes que utilizaram Trastuzumabe, enquanto ambos eram superiores a AC-T. Além disso, o risco-benefício favoreceu o regime sem antraciclina, dado a sua eficácia semelhante, e menos efeitos tóxicos agudos, além de menores riscos de cardiotoxicidade e leucemia⁵⁸.

O Trastuzumabe também foi ensaiado em estudos pré-clínicos em câncer gástrico⁶⁰, e com os bons re-

sultados no câncer de mama, um ensaio clínico fase III, em pacientes com adenocarcinoma gástrico e da junção gastroesofágica localmente avançados ou metastáticos com superexpressão de HER2, foi desenhado. Nesse estudo Trastuzumabe foi adicionado ou não à quimioterapia padrão. Os resultados mostraram um aumento na SG (13,8 vs 11,0 meses, $p = 0,0046$, $n = 594$)⁶¹, favorecendo o grupo com o anticorpo.

■ FATOR DE CRESCIMENTO DO ENDOTÉLIO VASCULAR

Inicialmente, o crescimento de um tumor é alimentado por vasos sanguíneos próximos. Quando o tumor atinge um determinado tamanho, esses vasos sanguíneos não são mais suficientes e novos vasos sanguíneos são necessários para continuar o crescimento. O tumor adquire a capacidade de formar novos vasos, processo denominado angiogênese. A aquisição do fenótipo angiogênico pelo tumor pode ocorrer através de alterações genéticas ou do ambiente tumoral que levam à ativação das células endoteliais. Uma forma de ativação das células endoteliais é através da secreção de FC pró-angiogênicos, que então se ligam aos receptores de outras células endoteliais e estimulam a angiogênese⁶².

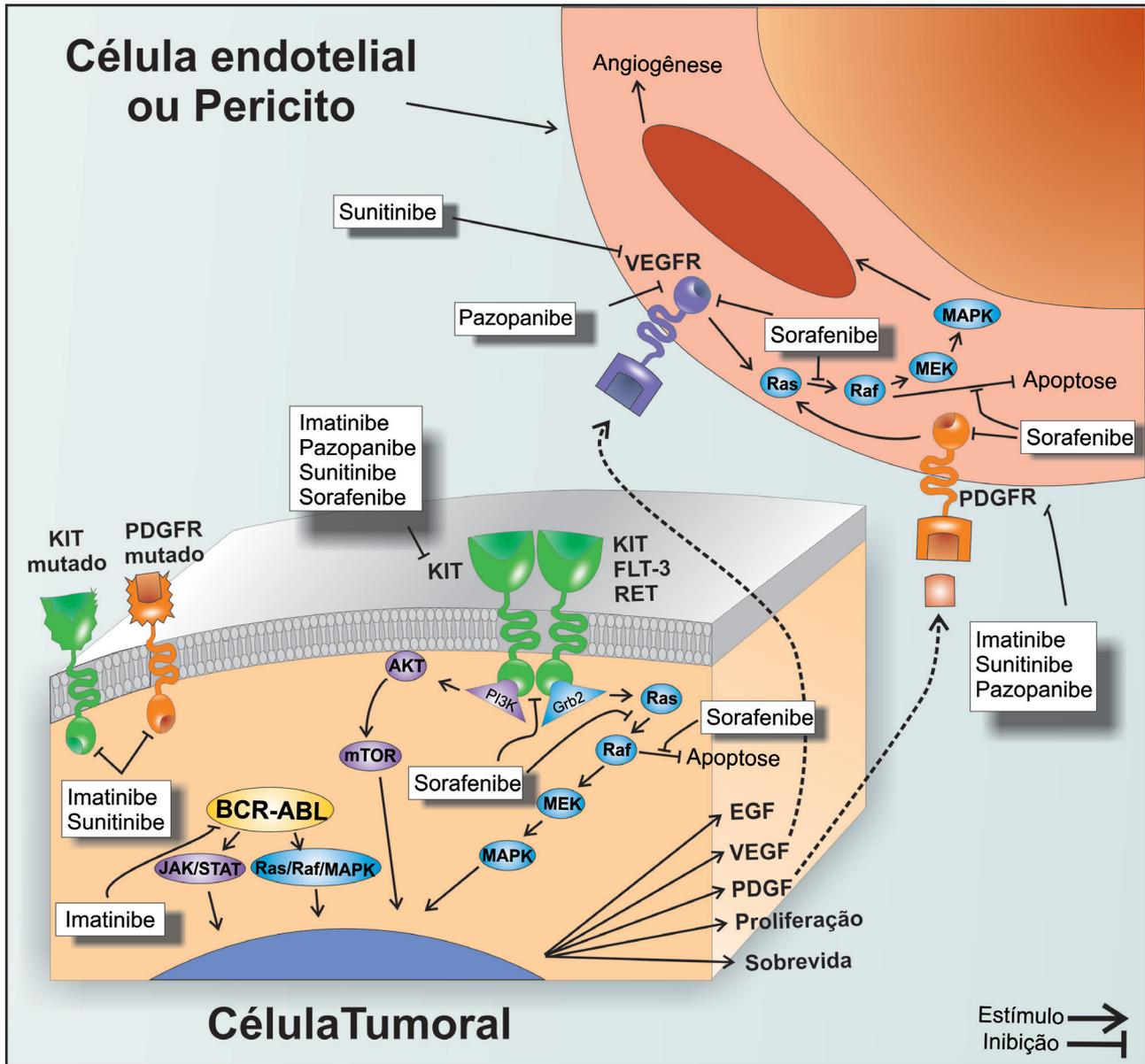
Assim, as células tumorais são capazes de realizar um aumento na expressão de fatores pró-angiogênicos, como o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), e down-regulation de fatores inibidores da angiogênese. Embora existam pelo menos 5 isoformas (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D e VEGF-E), o termo VEGF tipicamente refere-se ao VEGF-A, o principal mediador da angiogênese tumoral, com importante papel na migração celular, proliferação e sobrevivência. Esses ligantes ligam-se a 3 tipos de receptores: VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3. VEGFR-2 é responsável por mediar a maioria dos efeitos angiogênicos do VEGF-A, contudo, também há evidências indicando que VEGFR-1 desempenha um papel importante na angiogênese, já o VEGFR-3 está mais ligado à linfangiogênese⁶².

Neste sentido, foram desenvolvidos alguns fármacos promissores para o uso clínico, como o Bevacizumabe. A figura 4 mostra o mecanismo de ação do Bevacizumabe e das terapias “multi-alvo”. Além disso, drogas multi-alvo incluem em seu espectro de ação os receptores VEGFR, como o pazopanibe, sorafenibe e sunitinibe.

■ FATOR DE CRESCIMENTO DERIVADO DE PLAQUETAS

A família do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) consiste de quatro proteínas (PDGF-A,

FIGURA 4. Terapia alvo direcionada ao VEGF, e terapias "multi-alvo".



PDGF-B, PDGF-C e PDGF-D) codificadas por 9 genes distintos. A síntese de PDGF é aumentada em resposta a estímulos externos, tais como hipóxia, trombina, estímulo de outros fatores de crescimento e citocinas, promovendo a indução do crescimento, da sobrevivência, da transformação, da migração celular, e da permeabilidade vascular. O PDGF exerce seus efeitos no alvo celular, através da ativação de dois receptores tirosina-quinase (PDGFR- α e PDGFR- β), através da dimerização e autofosforilação dos resíduos de tirosina no domínio intracelular, e consequentemente transdução de sinal intracelular de forma semelhante

ao EGF. O receptor α se liga ao PDGF-A, B, e C, e o receptor β se liga ao PDGF-B e D com alta afinidade. Os dois PDGFRs medeiam processos similares, mas não idênticos, por exemplo, o PDGFR- $\beta\beta$ medeia quimiotaxia, transformação, e mobilização intracelular de Ca^{2+} mais eficientemente do que PDGFR- α^{63} . Estudos experimentais têm implicado sinalização aberrante do PDGFR na oncogênese, particularmente em glioblastomas, meduloblastomas, sarcomas, meningiomas, e cânceres epiteliais (colo do útero, mama, e ovário). A ativação do PDGFR no câncer ocorre como consequência da amplificação do gene, de rearranjos cromossômicos, ou mutações

ativadoras, estimulação autócrina ou parácrina do receptor (células tumorais e normais no estroma, como fibroblastos, pericitos, e células endoteliais secretam o PDGF)⁶³.

A ativação de PDGFR é fundamental para a iniciação e expansão tumoral. Além disso, o PDGF é essencial para a formação da “onco-matriz.” Tem sido demonstrado que o homodímero PDGFR- $\beta\beta$ é um potente mediador da formação do tecido conjuntivo do estroma tumoral, que serve como suporte para a angiogênese. O PDGF e o VEGF são sensíveis aos efeitos da hipóxia, e agem de forma sinérgica para a promoção da neovascularização⁶³.

■ FATOR DE CÉLULAS TRONCO

O fator de célula-tronco (SCF) é uma proteína que medeia diversas respostas celulares por meio da ligação e ativação do seu receptor (c-KIT). O c-KIT ou CD117 é um membro da família de receptores tirosina-quinase. A ligação do SCF com o c-KIT leva a dimerização do receptor, autofosforilação intracelular, ativação da proteína tirosina-quinase e subsequente transdução de sinal intracelular. Estudos com camundongos mutantes para os genes responsáveis pela produção de SCF ou c-KIT mostraram que estes são necessários para o desenvolvimento de células hematopoiéticas, melanócitos, células germinativas e células dos plexos nervosos intestinais⁶⁴.

Nos seres humanos, mutações no c-KIT com perda da sua função causam uma despigmentação do tórax e abdômen ventral, coloração branca do cabelo, surdez, e constipação⁶⁵. Uma variedade de mutações no c-KIT com ganho de função foi encontrada em diferentes tipos de cânceres humanos. Mutações de ativação do c-KIT foram encontradas em tumores estromais gastrointestinais (GIST), leucemia mielóide aguda (LMA) e leucemia de mastócitos (MCL), entre outros tipos de câncer⁶⁶.

■ TERAPIA “MULTI-ALVO”

➤ Imatinibe

O Mesilato de Imatinibe (Glivec®, Novartis) é um inibidor seletivo das proteínas quinases do c-KIT (selvagem ou mutado), do PDGFR- α (selvagem e mutado) e PDGFR- β , prevenindo a fosforilação do domínio catalítico intracelular ATP-dependente. Além dessas tirosina-quinases, o Imatinibe é capaz de inibir as quinases intracelulares ABL, BCR-ABL⁶⁷.

Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram inibição de células neoplásicas que expressavam c-KIT, BCR-ABL, e PDGFR por ação do Imatinibe⁶⁸.

Com isso, foram desenvolvidos estudos clínicos com Imatinibe para diversos tipos de câncer. Na era pré-imatinibe, pacientes com tumor estromal gas-

trintestinal (GIST) irressecável ou metastático eram submetidos a quimioterapia principalmente à base de doxorubicina como primeira linha com baixas respostas. O Imatinibe foi o primeiro inibidor de tirosina-quinase utilizado em câncer sólido, evidenciado em um caso clínico, no qual um paciente com GIST metastático obteve resposta clínica favorável com o uso dessa terapia⁶⁹. Após esse achado, estudos fase I/II foram desenvolvidos, seguidos por um ensaio clínico fase III com 946 pacientes portadores de GIST com aumento da expressão do c-KIT, os quais obtiveram um aumento na SLP em 2 anos de 56% com o tratamento com imatinibe (400 mg/dia) e 50% (800 mg/dia). O tratamento com imatinibe também proporcionou aumento na SG de 85% em 1 ano e 69% em 2 anos (400 mg/dia), e 86% em 1 ano e 74% em 2 anos (800 mg/dia)⁷⁰.

➤ Pazopanibe

Pazopanibe (Votrient®, GlaxoSmithKline) é uma pequena molécula que age inibindo múltiplos receptores tirosina quinases, como VEGFR-1, VEGFR-2 e VEGFR-3, PDGFR- α e PDGFR- β , e c-KIT⁷¹. Essa droga foi avaliada em estudo fase III com pacientes portadores de carcinoma de células renais, localmente avançado ou metastático, tratados ou não com citocina, e mostrou aumento da SLP (9,2 vs 4,2 meses, $p < 0,0001$, $n = 435$) quando comparado ao placebo⁷².

➤ Sunitinibe

O Sunitinibe (Sutent®, Pfizer) é um inibidor de múltiplos receptores tirosina-quinase, como c-KIT, PDGFR- α , PDGFR- β , VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, receptor de tirosina-quinase-3 similar a Fms (FLT3), receptor do fator estimulador de colônia 1 (CSF-1R) e receptor do fator neurotrófico derivado de linhagem celular glial (REarranged during Transfection ou RET)⁷³.

Tanto *in vitro* como *in vivo*, o Sunitinibe exibe atividade antitumoral e antiangiogênica⁷³. Através de ensaios clínicos, o Sunitinibe mostrou benefícios clínicos em alguns tipos de câncer. O câncer de células renais primário e metastático é um tipo de neoplasia vascularizada e resistente à quimioterapia citotóxica e à radioterapia tradicional. Assim, o Sunitinibe foi testado em estudo fase II, em comparação à placebo, em pacientes com câncer de células renais metastático e sem resposta à interleucina-2, apresentando melhora na SLP (8,7 vs 2,5 meses, $n = 63$) com SG de 16,4⁷⁴. Em seguida, o tratamento com Sunitinibe foi comparado ao tratamento de primeira linha do carcinoma de células renais metastático, obtendo um aumento de SLP (11 vs 5 meses, $p < 0,001$, $n = 750$)⁷⁵.

O tratamento com Sunitinibe em pacientes com GIST refratário ou com intolerância ao Imatinibe, mostrou uma melhora SLP (27,3 vs 6,4 semanas, $p < 0,0001$, $n = 312$) quando

comparado a placebo⁷⁶. Além disso, em pacientes com tumor neuroendócrino pancreático metastático, o Sunitinibe fornece uma melhora da SLP (11,4 vs 5,5 meses, $p < 0,001$, $n = 171$) quando comparado com placebo⁷⁷.

➤ Sorafenibe

Sorafenibe (Nexavar®, Bayer) é um inibidor de múltiplas tirosina-quinases, que age tanto nas células tumorais como nas células vasculares do tumor. Seu mecanismo de ação consiste na inibição tanto de receptores quanto das vias intracelulares Ras/Raf/MAPK. Dentre os receptores, estão VEGFR-1, VEGFR-2 e VEGFR-3, PDGFR- β , c-KIT, FLT-3 e RET. Dentre as isoformas das proteínas Raf serina/treonina quinases, estão Raf-1 (ou CRAF) e BRAF (selvagem e mutado)⁷⁸.

Pré-clinicamente, o Sorafenibe mostrou um amplo espectro de atividade antitumoral⁷⁹. Com base nos resultados pré-clínicos e clínicos fase I/II, foi avaliada a monoterapia com Sorafenibe em pacientes com câncer hepatocelular avançado em dois ensaios clínicos fase III, e em ambos, o Sorafenibe prolongou a SG (10,7 vs 7,9 meses, $p < 0,001$, $n = 602$ ocidentais)⁸⁰ e (6,5 vs 4,2 meses, $p = 0,014$, $n = 271$ asiáticos)⁸¹ quando comparado com placebo. Outro estudo em monoterapia, desta feita em pacientes com câncer de células renais metastático mostrou um aumento na SLP (5,5 vs 2,8 meses, $p < 0,01$, $n = 903$) quando comparado ao placebo, contudo com um aumento importante dos efeitos adversos⁸².

■ OUTROS INIBIDORES DE TIROSINA-QUINASE

Crizotinibe (Xalkori®, Pfizer) é uma pequena molécula que inibe a atividade tirosina quinase de uma proteína de fusão chamada EML4-ALK do inglês echinoderm microtubule-associated protein-like 4 - anaplastic lymphoma kinase, encontrada em 2-7% dos CPNPC. Em estudo fase III, o Crizotinibe foi testado em 82 pacientes com CPNPC e EML4-ALK, com duração média de 6,4 meses de tratamento, sendo a taxa de resposta global de 57% (47 dos 82 pacientes, com 46 respostas parciais confirmadas e uma resposta completa confirmada), e 27 pacientes (33%) tiveram a doença estável. Um total de 63 dos 82 pacientes (77%) continuaram a receber Crizotinibe no momento do corte de dados e a probabilidade estimada de seis meses de sobrevida livre de progressão foi de 72%. Além disso, os pacientes com EML4-ALK eram mais jovens, com pouca ou nenhuma exposição ao tabaco, e com histologia de adenocarcinoma⁸³.

■ CONCLUSÃO

O papel dos receptores tirosina-quinase no crescimento e diferenciação celular é fundamental para todos os organismos, contudo pode ser a chave para o surgimento de doenças neoplásicas humanas. As terapias direcionadas aos

Tabela 1. Terapias alvo e suas indicações terapêuticas em oncologia clínica.

Substância	Classe	Alvo	Indicação
Gefitinibe	TKI	HER1	CPNPC
Erlotinibe	TKI	HER1	CPNPC, câncer de pâncreas
Lapatinibe	TKI	HER1/2	Câncer de mama HER2+
Canertinibe	TKI	HER1/2/3/4	-
Cetuximabe	Mab	HER1	CCR, câncer de cabeça e pescoço
Panitumumabe	Mab	HER1	CCR
Matuzumabe	Mab	HER1	-
Nimotuzumabe	Mab	HER1	-
Trastuzumabe	Mab	HER2	Câncer de mama, adenocarcinoma gástrico e de junção GE
Pertuzumabe	Mab	HER2/3	-
Bevacizumabe	Mab	VEGF-A	Câncer de mama HER2-, CPNPC, glioblastoma, RCC, CCR
Imatinibe	TKI	c-KIT, BCR-ABL, PDGFR- α/β	GIST
Sunitinibe	TKI	c-KIT, BCR-ABL, PDGFR- α/β , VEGFR-1/2/3, FLT3, CSF-1R, RET	GIST, RCC, PNET
Sorafenibe	TKI	VEGFR-1/2/3, PDGFR- β , c-KIT, FLT-3 e RET, CRAF	HCC, RCC
Vandetanibe	TKI	VEGFR-2, HER1, RET	Câncer de tireóide
Pazopanibe	TKI	c-KIT, PDGFR- α/β , VEGFR-1/2/3,	RCC

receptores tirosina-quinase (Inibidores de tirosina-quinase e anticorpos monoclonais) e seu potencial terapêutico estão bem documentados por exemplos marcantes, como no caso do Trastuzumabe, Imatinibe, Bevacizumabe, Cetuximabe, Gefitinibe, e Erlotinibe (Tabela 1).

Várias outras terapias estão passando por estudos pré-clínicos e clínicos, e estão em fase de implementação. Para estas desafiadoras conquistas, torna-se necessário o envolvimento integral dos profissionais que as cercam, com o conhecimento desde a biologia dos receptores e suas vias de transdução de sinal até a pesquisa clínica.

■ CONFLITOS DE INTERESSE

Nada a declarar

■ REFERÊNCIAS

- Lemmon MA, Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell* 2010; 141(7):1117-34.
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144(5):646-74.
- Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ. *Farmacologia*. 6ª edição, Rio de Janeiro, Elsevier, 2007.
- Murer B. Targeted therapy in non-small cell lung cancer: a commentary. *Arch Path Lab Med* 2008; (132):1573-1575.
- McCubrey JA, Steelman LS, Chappell WH, et al. Roles of the Raf/MEK/ERK pathway in cell growth, malignant transformation and drug resistance. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773(8):1263-84.
- Stoffel A. Targeted therapies for solid tumors: current status and future perspectives. *BioDrugs* 2010; 24(5):303-16.
- Arteaga C. Targeting HER1/EGFR: a molecular approach to cancer therapy. *Semin Oncol* 2003; 30(3 Suppl 7):3-14.
- West CM, Joseph L, Bhana S. Epidermal growth factor receptor-targeted therapy. *Br J Radiol* 2008; 81 (1):S36-44.
- Kondo N, Tsukuda M, Ishiguro Y, et al. Antitumor effects of lapatinib (GW572016), a dual inhibitor of EGFR and HER-2, in combination with cisplatin or paclitaxel on head and neck squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 2010; 23(4):957-63.
- Mendelsohn J. The epidermal growth factor receptor as a target for cancer therapy. *Endocr Relat Cancer* 2001; 8:3-9.
- Umekita Y, Ohi Y, Sagara Y, Yoshida H. Co-expression of epidermal growth factor receptor and transforming growth factor- α predicts worse prognosis in breast-cancer patients. *Int J Cancer* 2000; 89: 484-487.
- Meierjohann S, Hufnagel A, Wende E, et al. MMP13 mediates cell cycle progression in melanocytes and melanoma cells: in vitro studies of migration and proliferation. *Mol Cancer* 2010; 9:201.
- Pines G, Huang PH, Zwang Y, et al. EGFRvIII: a previously uncharacterized oncogenic mutant reveals a kinase autoinhibitory mechanism. *Oncogene* 2010; 29(43):5850-60.
- Abella JV, Park M. Breakdown of endocytosis in the oncogenic activation of receptor tyrosine kinases. *Am J Physiol Endoc M* 2009; 296:E973-984.
- Zwick E, Hackel PO, Prenzel N, Ullrich A. The EGF receptor as central transducer of heterologous signalling systems. *Trends Pharmacol Sci* 1999; 20(10):408-12.
- Thomas SM and Grandis JR. Pharmacokinetics and pharmacodynamic properties of EGFR inhibitors under clinical investigation. *Cancer Treat Rev* 2004; 30:255-268.
- Sirotnak FM, Zakowski MF, Miller VA, et al. Efficacy of cytotoxic agents against human tumor xenografts is markedly enhanced by coadministration of ZD1839 (Iressa), an inhibitor of EGFR tyrosine kinase. *Clin Cancer Res* 2000; 6(12):4885-92.
- Kris M, Herbst R, Rischin D, et al: Objective regressions in non-small cell lung cancer patients treated in phase I trials of oral ZD1839 (Iressa), a selective tyrosine kinase inhibitor that blocks the epidermal growth factor receptor (EGFR). *Lung Cancer* 2000; 29:72 (suppl 1, abstr 231).
- 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 (The IDEAL 1 Trial) [corrected]. *J Clin Oncol*. 2003; 21(12):2237-46.
- 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. *JAMA* 2003; 290: 2149-2158.
- Giaccone G, Herbst RS, Manegold C, et al. Gefitinib in combination with gemcitabine and cisplatin in advanced non-small-cell lung cancer: a phase III trial - INTACT 1. *J Clin Oncol* 2004; 22: 777-784.
- Herbst RS, Giaccone G, Schiller JH, et al. Gefitinib in combination with paclitaxel and carboplatin in advanced non-small-cell lung cancer: a phase III trial - INTACT 2. *J Clin Oncol* 2004; 22: 785-794.
- Kaneda H, Tamura K, Kurata T, et al. Retrospective analysis of the predictive factors associated with the response and survival benefit of gefitinib in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 2004; 46: 247-254.
- Miller VA, Kris MG, Shah N, et al. Bronchioloalveolar pathologic subtype and smoking history predict sensitivity to gefitinib in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22: 1103-1109.
- Takano T, Ohe Y, Kusumoto M, et al. Risk factors for interstitial lung disease and predictive factors for tumor response in patients with advanced non-small cell lung cancer treated with gefitinib. *Lung Cancer* 2004; 45: 93-104.
- 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 USA* 2004; 101: 13306-13311.
- 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.
- 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.
- Kosaka T, Yatabe Y, Endoh H, et al. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene in lung cancer: biological and clinical implications. *Cancer Res* 2004; 64: 8919-8923.
- Chang A, Parikh P, Thongprasert S, et al. Gefitinib (IRESSA) in patients of Asian origin with refractory advanced non-small cell lung cancer: subset analysis from the ISEL study. *J Thorac Oncol* 2006; 1(8):847-55.
- Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med* 2009; 361(10):947-57.
- Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med* 2010; 362(25): 2380-8.
- Moyer JD, Barbacci EG, Iwata KK, et al. Induction of apoptosis and cell cycle arrest by CP-358,774, an inhibitor of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase. *Cancer Res* 1997; 57: 4838-4848
- Pollack VA, Savage DM, Baker DA, et al. Inhibition of epidermal growth factor receptor-associated tyrosine phosphorylation in human carcinomas with CP-358,774: dynamics of receptor inhibition in situ and antitumor effects in athymic mice. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 291: 739-748.
- Shepherd FA, Pereira JR, Ciuleanu T et al. Erlotinib in previ-

- ously treated non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2005; 353: 123-132.
36. Bezjak A, Tu D, Seymour L et al. Symptom improvement in lung cancer patients treated with erlotinib: quality of life analysis of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group Study BR21. *J Clin Oncol* 2006; 24: 3831-3837.
 37. Zhou C, Wu YL, Chen G, et al. Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study. *Lancet Oncol* 2011; 12 (8): 735-42.
 38. Rosell R, Gervais R, Vergnenegre A, et al. Erlotinib versus chemotherapy (CT) in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) patients (p) with epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations: Interim results of the European Erlotinib Versus Chemotherapy (EURTAC) phase III randomized trial. *J Clin Oncol* 2011 (suppl; abstr 7503).
 39. Moore MJ, Goldstein D, Hamm J, et al. Erlotinib plus gemcitabine compared with gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic cancer: A phase III trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1960-1966.
 40. Rusnak DW, Allfleck K, Cockerill SG, et al. The characterization of novel, dual ErbB2-2/EGFR tyrosine kinase inhibitors: Potential therapy for cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 7196-7203
 41. Scaltriti M, Rojo F, Ocafia A, et al. Expression of p95HER2, a truncated form of the HER2 receptor, and response to anti-HER2 therapies in breast cancer. *J Nail Cancer Inst* 2007; 99: 628-638.
 42. Geyer CE, Forster J, Lindquist D, et al. Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med* 2006; 355 (26): 2733-43.
 43. Herbst RS, Shin DM. Monoclonal antibodies to target epidermal growth factor receptor-positive tumors: a new paradigm for cancer therapy. *Cancer* 2002; 94: 1593-1611.
 44. Van Cutsem E, Köhne CH, Hitre E, et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009 360:1408-1417.
 45. Van Cutsem E, Köhne CH, Láng I, et al. Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: updated analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status. *J Clin Oncol* 2011; 29(15):2011-9.
 46. Bokemeyer C, Bondarenko L, Makhson A, et al. Fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin with and without cetuximab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 663-671.
 47. Maughan TS, Adams RA, Smith CG, et al. Addition of cetuximab to oxaliplatin-based first-line combination chemotherapy for treatment of advanced colorectal cancer: results of the randomised phase 3 MRC COIN trial. *Lancet* 2011; 377(9783):2103-14.
 48. Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Karapetis CS, et al. Cetuximab for the treatment of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2007; 357(20):2040-8.
 49. Vermorken JB, Mesia R, Rivera F, et al. Platinum based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer. *N Engl J Med* 2008; 359: 1116-1127.
 50. Yang XD, Jia XC, Corvalan JR, et al. Development of ABX-EGF, a fully human anti-EGF receptor monoclonal antibody, for cancer therapy. *Crit Rev Oncol Hematol* 2001; 38: 17-23.
 51. Van Cutsem E, Peeters M, Siena S, et al. Open-label phase III trial of panitumumab plus best supportive care compared with best supportive care alone in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1658-1664.
 52. Peeters M, Price TJ, Cervantes A, et al. Randomized phase III study of panitumumab with fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) compared with FOLFIRI alone as second-line treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2010 ;28(31):4706-13.
 53. Douillard JY, Siena S, Cassidy J, et al. Randomized, phase III trial of panitumumab with infusional fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first-line treatment in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer: the PRIME study. *J Clin Oncol* 2010; 28(31):4697-705.
 54. Valabrega G, Montemurro F, Aglietta M. Trastuzumab: mechanism of action, resistance and future perspectives in HER2-overexpressing breast cancer. *Ann Oncol* 2007; 18(6):977-84.
 55. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, 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.
 56. Romond EH, Perez EA, Bryant J, et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005; 353:1673-84.
 57. Smith I, Procter M, Gelber RD, et al. 2-Year follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer: a randomised controlled trial. *Lancet* 2007;369:29-36.
 58. Slamon D, Eiermann W, Robert N, et al. Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2011; 365(14):1273-83.
 59. Joensuu H, Kellokumpu-Lehtinen PL, Bono P, et al. Adjuvant docetaxel or vinorelbine with or without trastuzumab for breast cancer. *N Engl J Med* 2006; 354:809-20.
 60. Fujimoto-Ouchi K, Sekiguchi F, Yasuno H, et al. Antitumor activity of trastuzumab in combination with chemotherapy in human gastric cancer xenograft models. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2007; 59:795-805.
 61. Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 376(9742):687-97.
 62. Cook KM, Figg WD. Angiogenesis inhibitors: current strategies and future prospects. *CA Cancer J Clin* 2010; 60(4):222-43.
 63. Schmitt J, Matei D. Platelet-Derived Growth Factor Pathway Inhibitors in Ovarian Cancer. *Clinical Ovarian Cancer* 2008 1(2): 120-126.
 64. Ashman LK. The biology of stem cell factor and its receptor c-KIT. *Int J Biochem Cell Biol* 1999; 31(10):1037-51.
 65. Fleischman RA, Saltman DL, Stastny V, Zneimer S. Deletion of the c-kit protooncogene in the human developmental defect piebald trait. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88(23):10885-9.
 66. Lennartsson J, Rönnstrand L. The stem cell factor receptor/c-Kit as a drug target in cancer. *Curr Cancer Drug Targets* 2006; 6(1):65-75.
 67. Duffaud F, Le Cesne A. Imatinib in the treatment of solid tumours. *Target Oncol* 2009; 4(1):45-56.
 68. Fabro D, Ruetz S, Buchdunger E, et al. Protein kinases as targets for anticancer agents: from inhibitors to useful drugs. *Pharmacol Ther* 2002; 93(2-3):79-98.
 69. Joensuu H, Roberts PJ, Sarlomo-Rikala M et al. Effect of the tyrosine kinase inhibitor STI571 in a patient with a metastatic gastrointestinal stromal tumor. *N Engl J Med* 2001; 344:1052-1056.
 70. Verweij J, Casali PG, Zalcberg J et al. Progression-free survival in gastrointestinal stromal tumours with high-dose imatinib: randomised trial. *Lancet* 2004; 364:1127-1134.
 71. Podar K, Tonon G, Sattler M, et al. The small-molecule VEGF receptor inhibitor pazopanib (GW786034B) targets both tumor and endothelial cells in multiple myeloma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(51):19478-83.
 72. Sternberg CN, Davis ID, Mardiak J, et al. Pazopanib in lo-

- cally advanced or metastatic renal cell carcinoma: results of a randomized phase III trial. *J Clin Oncol* 2010; 28(6):1061-8.
73. Mendel DB, Laird AD, Xin X, et al. In vivo antitumor activity of SU11248, a novel tyrosine kinase inhibitor targeting vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor receptors: determination of a pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship. *Clin Cancer Res* 2003; 9(1):327-37.
74. Motzer RJ, Michaelson MD, Redman BG, et al. Activity of SU11248, a multitargeted inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor and platelet-derived growth factor receptor, in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2006; 24(1):16-24.
75. Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, et al. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007; 356(2):115-24.
76. Demetri GD, van Oosterom AT, Garrett CR, et al. Efficacy and safety of sunitinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumour after failure of imatinib: a randomised controlled trial. *Lancet* 2006; 368(9544):1329-38.
77. Raymond E, Dahan L, Raoul JL, et al. Sunitinib malate for the treatment of pancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med* 2011; 364(6):501-13.
78. Wilhelm SM, Carter C, Tang LY, et al. BAY 43-9006 exhibits broad spectrum oral antitumor activity and targets the RAF/MEK/ERK pathway and receptor tyrosine kinases involved in tumor progression and angiogenesis. *Cancer Res* 2004; 64(19): 7099-109.
79. Strumberg D. Preclinical and clinical development of the oral multikinase inhibitor sorafenib in cancer treatment. *Drugs Today (Barc)* 2005; 41(12):773-84.
80. Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2008; 359 (4): 378-90
81. Cheng A -L, Kang Y -K , Chen Z , et al. Efficacy and safety of sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: a phase III randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Oncol* 2009; 10 (1): 25-34.
82. Escudier B, Eisen T, Stadler WM, et al. Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007; 356(2):125-34.
83. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2010; 363(18):1693-703.