

# Przeciwciała monoklonalne w regulacji transdukcji sygnału receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR) w komórkach nowotworowych

## Monoclonal antibodies in regulation of signal transduction of Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) pathway in cancer cells

Rafał Paweł Kampa, Daniel Sypniewski, Ilona Bednarek

Zakład Biotechnologii i Inżynierii Genetycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

### STRESZCZENIE

Receptor naskórkowego czynnika wzrostu EGFR (*Epidermal Growth Factor Receptor*), ze względu na jego ważny udział w patogenezie nowotworów złośliwych, jest obiektem intensywnych badań naukowych ostatnich lat. W wielu typach nowotworów wewnątrzkomórkowe szlaki sygnalizacyjne pobudzone przez EGFR mają wręcz kluczowe znaczenie w ich rozwoju. Z drugiej strony wykazano, iż EGFR może stanowić bardzo obiecujący punkt uchwytu dla czynników terapeutycznych. Podjęto próby modyfikacji transdukcji sygnału przekazywanego przez aktywny EGFR wewnątrz komórek poprzez blokowanie aktywności elementów tego szlaku bądź samego receptora. Wykazano też, że blokowanie receptora EGFR przez przeciwciała monoklonalne podwyższa efektywność stosowanych w terapii konwencjonalnych czynników przeciwnowotworowych, np. cisplatyny. Dodatkowo opracowano wiele terapii przeciwnowotworowych opierając się na zastosowaniu inhibitorów wybranych, kluczowych składowych szlaku sygnalizacyjnego EGFR, z których wiele bazuje na zastosowaniu przeciwciał monoklonalnych.

### SŁOWA KLUCZOWE

kancerogeneza, terapia przeciwnowotworowa, transdukcja sygnału, EGFR, przeciwciała monoklonalne

Received: 07.04.2017

Revised: 08.05.2017

Accepted: 10.06.2017

Published online: 28.02.2018

Adres do korespondencji: Dr hab. n med. Ilona Bednarek, Zakład Biotechnologii i Inżynierii Genetycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Jedności 8, 41-200 Sosnowiec, tel. + 48 32 364 12 73, e-mail: [ibednarek@sum.edu.pl](mailto:ibednarek@sum.edu.pl)

Copyright © Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach  
[www.annales.sum.edu.pl](http://www.annales.sum.edu.pl)

## ABSTRACT

In recent years intensive research has been dedicated to the Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) due to its significant role in the pathogenesis of malignant tumors. In many types of cancers intracellular pathways modulated by EGFR have been identified as crucial factors influencing tumor survival and development. On the other hand, EGFR has also been shown to be a promising molecular target for potential therapeutic agents. Attempts to modify the signal transduction exerted by EGF have been made either by blocking the activity of certain elements of the EGFR pathway or by direct inhibition of the EGF receptor itself. It has also been demonstrated that the use of monoclonal antibodies to block the EGF receptor increases the effectiveness of conventional anticancer agents such as cisplatin. Thus, many anticancer therapies based on inhibitors of the selected components of the EGFR signaling pathway have been established, and many of them apply monoclonal antibodies.

## KEY WORDS

carcinogenesis, anticancer therapy, signal transduction, EGFR, monoclonal antibodies

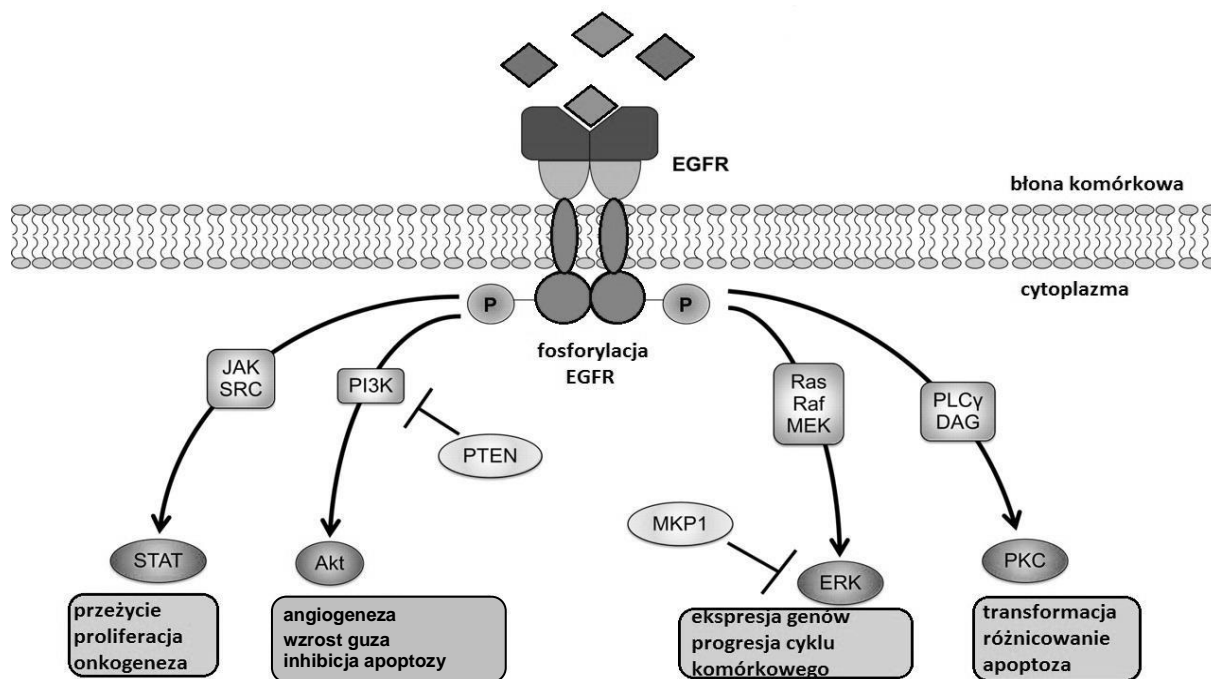
## WSTĘP

EGFR jest przezbłonowym receptorem należącym do rodziny HER (*Human Epidermal Receptors*, grupy ludzkich receptorów czynnika wzrostu naskórka), wywierającym istotny wpływ na procesy biologiczne w komórkach, m.in. wzrost, różnicowanie, adhezję, apoptozę oraz naprawę DNA [1]. Dotyczy to w głównej mierze komórek prawidłowych, aczkolwiek EGFR ma także swój istotny udział w proliferacji komórek zmienionych nowotworowo. Stąd też inhibicja tego receptora za pomocą czynników farmakologicznych może spowodować zahamowanie wzrostu guza nowotworowego. Receptor EGFR, będący glikoproteiną, zbudowany jest z domeny wewnątrzkomórkowej, o aktywności kinazy tyrozynowej, domeny przezbłonowej oraz domeny pozakomórkowej [1]. Aktywacja receptora EGFR następuje po związaniu liganda z domeną zewnątrzkomórkową, co z kolei prowadzi do homodimeryzacji z kolejnym receptorem EGFR bądź heterodimeryzacji z innym z receptorów wchodzących w skład rodziny HER. Kolejno aktywowana zostaje domena kinazowa, co uruchamia między innymi kaskadę wewnątrzkomórkowych sygnałów mitogennych [2,3].

Wraz z połączeniem naskórkowego czynnika wzrostu z receptorem EGFR następuje aktywacja białek RAS oraz kinaz z rodziny MAP (*Mitogen-Activated Protein Kinases* – MAPK; grupa kinaz białkowych aktywowana mitogenami), które z kolei odpowiadają za aktywację wielu szlaków sygnałowych jądrowych czynników transkrypcyjnych, w tym cykliny D niezbędnej podczas przejścia komórki z fazy G<sub>1</sub> do fazy S podczas podziałów komórkowych [1,4]. Do innych istot-

nych dróg sygnałowych aktywowanych przez EGFR należy np. szlak kinazy 3-fosfatydyloinozytolu (*phosphatidylinositol 3-kinase* – PI3K) [1,5,6]. Ścieżki sygnałowe związane z aktywacją receptora EGFR schematycznie przedstawiono na ryc. 1. Dotyczą one jego wpływu na proliferację, różnicowanie, apoptozę, transformację nowotworową, angiogenezę i inne procesy, które ujęto na rycinie.

Do ligandów EGFR, tworzących rodzinę naskórkowego czynnika wzrostu, zalicza się u ssaków: EGF (*Epidermal Growth Factor*, czynnik wzrostu naskórka), neureguliny, betacelluliny, amfireguliny, TGF- $\alpha$  (*Transforming Growth Factor  $\alpha$* ; transformujący czynnik wzrostu  $\alpha$ ) i HB-EGF (*Heparin-binding EGF-like growth factor*; EGF-podobny czynnik wiążący heparynę,) [1,2]. Cechą charakterystyczną ligandów zaliczanych do tej rodziny jest stymulacja wzrostu i podziałów komórkowych przez aktywację swoistych receptorów transbłonowych – EGFR i HER. Do ważniejszych funkcji biologicznych tych czynników należy nie tylko wpływ na proliferację poszczególnych komórek, głównie na drodze przyspieszenia podziału komórki, ale też działanie o szerszym aspekcie narządowym czy metabolicznym. Można tu wymienić np.: działanie protekcyjne na błonę śluzową żołądka, realizowane poprzez wzrost wydzielania dwuwęglanów, syntezy i wydzielania śluzu, przepływu krwi przez błonę śluzową i jej naprawę po urazie, a z drugiej strony spadek wydzielania kwasu solnego. Trzecią istotną funkcją wspomnianych czynników jest regulacja procesów trawiennych poprzez spadek wydzielania jonów chlorkowych i kwasu solnego, wzrost wytwarzania chlorku sodu, dwuwęglanów, amylazy oraz stymulacja transportu glukozy do komórki. Ponadto wpływają na motorykę żołądka oraz stymulują przepływ krwi przez błonę śluzową tego narządu [6,7,8,9].



**Ryc. 1.** Szlaki sygnałowe EGFR [na podstawie: 1,2,3,4,6,24,30]. Rycina przedstawia schemat przekazywania sygnału aktywowanego receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR) do wnętrza komórki za pośrednictwem czterech głównych szlaków sygnalizacyjnych: szlak oparty na czynnikach transkrypcyjnych STAT (*Signal Transducer and Activator of Transcription*), szlak kinazy 3-fosfatydyloinozytolu (PI3K) i kinazy Akt (kinaza białkowa B), szlak kinaz Ras/Raf/MEK/ERK oraz szlak oparty na fosfolipazie C (PLC) i diacyloglicerolu (DAG), jako wtórnym przekaźniku. Na rycinie podano najważniejsze efekty pobudzenia wymienionych szlaków sygnalizacyjnych w komórkach.

**Fig. 1.** EGFR signaling pathways [based on: 1,2,3,4,6,24,30]. Diagram of activated epidermal growth factor receptor signaling routes via four major signaling pathways: STAT (*Signal Transducer and Activator of Transcription*) pathway, 3-phosphatidylinositol cascade (PI3K) and Akt (*B-protein kinase*) kinases, Ras/Raf/MEK/ERK kinase pathway and phospholipase C (PLC) and diacylglycerol (DAG) cascade. Figure shows most important effects of stimulating these signaling pathways in cells.

### Ekspresja oraz mutacje EGFR jako czynnik prognostyczny w nowotworach

Liczne badania molekularne na przestrzeni lat dowiodły, że poszczególne składowe szlaków sygnałowych EGFR są ściśle powiązane z wszystkimi fazami nowotworzenia, zaliczając tu proliferację, angiogenezę, zahamowanie apoptozy oraz przerzutowanie [3]. Podwyższoną aktywność tych szlaków komórkowych wykazano między innymi w przypadku nowotworów złośliwych trzustki, głowy, szyi, żołądka, jelita grubego, przelyku, jajników, płuca, wątroby i piersi [10,11,12,13,14,15,16]. W przypadku gruczołu sutkowego, w warunkach uznanych za prawidłowe, stwierdzono maksymalnie około stu tysięcy receptorów EGFR występujących na powierzchni komórek tego gruczołu, natomiast w komórkach raka piersi liczba ta wzrasta nawet do wartości dwóch milionów [4]. W łagodnych postaciach guzów skóry badania wykazały stosunkowo stabilną ekspresję receptora czynnika wzrostu naskórka oraz występowanie prawidłowej struktury tego białka. Z kolei w złośliwych postaciach nowotworów występuje zjawisko utraty lokalizacji błonowej EGFR oraz wewnątrzkomórkowa akumulacja tego receptora [10]. Badania wykazały, iż do powstawania złośli-

wych nowotworów skóry, np. czerniaka naczyniowego, przyczynia się nie tyle sama akumulacja wadliwych wersji EGFR, lecz dysregulacja szlaków sygnałowych, w których bierze on udział [3,4].

Mutacja w obrębie genu kodującego ten receptor to w większości przypadków mutacja typu trzeciego (*Epidermal Growth Factor Receptor version III – EGFRvIII*; mutacja typu III receptora czynnika wzrostu naskórka), będąca delecją eksonów 2–7, co wiąże się z brakiem aminokwasów składających się na domenę zewnątrzkomórkową. Skutkuje to niemożnością związania fizjologicznego liganda oraz nadmierną aktywnością samego receptora EGFR, prowadzącą do nieprzerwanej aktywacji szlaków sygnałowych związanych z proliferacją i przeżyciem komórek nowotworowych. Dowiedzono też, że forma zmutowana receptora jest dużo bardziej onkogeniczna od wersji prawidłowej [4]. Obecność mutacji w obrębie genu kodującego EGFR ma istotny wpływ na rokowania, które uzależnione są również od wieku pacjentów, a zatem w grupie starszych pacjentów amplifikacja EGFR związana jest z lepszym rokowaniem, natomiast w przypadku osób młodszych – z gorszym [17,18]. Podwyższona onkogenność formy EGFRvIII ma związek ze zmienioną kinetyką transdukcji sygnału.

Należy jednak pamiętać, że domeny wewnątrzkomórkowe obu form (prawidłowej i zmutowanej) pozostają identyczne, różnica dotyczy jedynie budowy domeny zewnątrzkomórkowej. Mutacja w obrębie genu kodującego re-ceptor EGFR wiąże się z ciągłą fosforylacją domeny wewnątrzkomórkowej kinaz tyrozynowych i stałym wzbudzeniem przewodnictwa wewnątrzkomórkowego. Sytuacja taka prowadzi do silnie mitogennego efektu [3,4].

Pomimo tego, iż w komórkach nowotworowych bardzo często stwierdza się podwyższoną ekspresję receptora EGFR, to jednak niekoniecznie dochodzić musi do nasilenia sygnalizacji szlaków wewnątrzkomórkowych, ze względu na to, iż wiązanie liganda z receptorem pozostaje bardzo ważną składową internalizacji receptora. Zauważono, że w przypadku formy niezmutowanej nadmierna ekspresja EGFR na powierzchni komórki prowadzi do przewyciężenia mechanizmów wiodących do internalizacji receptora, co wiąże się ze stałą aktywnością prawidłowej wersji EGFR i oznacza niezmienny poziom nasilenia sygnalizacji [4,10]. Jeżeli zaś chodzi o aktywację transkrypcji, to w przypadku receptora prawidłowego jest ona znacznie silniejsza w porównaniu z obecnością wyłączniczej formy EGFRvIII. Obie formy receptora wykazują tendencję do heterodimeryzacji, a ich wspólne działanie przejawia się nasileniem podziałów komórkowych, a także zwiększonym przeżyciem komórek [17,18]. Wszystkie powyżej przedstawione cechy mogą wpływać na zwiększenie złośliwości komórek nowotworowych.

EGFR jest obecny nie tylko na komórkach nowotworowych, lecz także w prawidłowych komórkach organizmu, toteż aplikacja takiego przeciwciała wywołuje swoistą reakcję we wszystkich komórkach EGFR-pozytywnych. Ponadto, komórki nowotworowe często nabywają nowe mutacje, które niosą ze sobą odmienne warianty aktywacji szlaku promitogennego, a finalnie – pojawienie się oporności na leczenie przeciwciałami skierowanymi przeciw EGFR. Z dotychczasowych obserwacji wynika, że rozwój oporności wynikającej z tego typu leczenia wynosi średnio pięć miesięcy. W wielu doniesieniach literaturowych podkreśla się, iż terapia tego typu znajduje zastosowanie głównie u pacjentów z mutacją w obrębie genu KRAS (homolog genu szczerzego wirusowego mięsaka, *Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog*), którą zauważa się w niemal połowie przypadków raka jelita grubego [19]. Dostrzeżono również, że podobną rolę w tego typu nowotworach posiada także receptor insulinopodobnego czynnika wzrostu IGFR (*Insulin-like Growth Factor Receptor*) [21]. Sygnalizuje to konieczność przeprowadzania badań w kierunku terapii obejmujących swoim obszarem inaktywację obu tych receptorów. Dotychczasowe badania wykazały, że w przypadku zablokowania EGFR jego funkcje może przejąć

IGFR, który również jest obecny w komórkach nowotworowych jelita grubego [5,20,21,22].

### **Rola EGFR w procesach naprawy defektów DNA**

Receptor czynnika wzrostu naskórka EGFR, we współdziałaniu z enzymem DNA-PKcs (*DNA-Dependent Protein Kinase, Catalytic Subunit*; katalityczna podjednostka zależnej od DNA kinazy białkowej), bierze także udział w naprawie powstałych w DNA defektów w trakcie prowadzonego leczenia przeciwnowotworowego, w tym radioterapii [4,23]. Dotyczy to przede wszystkim dwuniciowego DNA, a mechanizmy te prowadzą do indukowania radiooporności komórek nowotworowych. W takich wypadkach można zastosować przeciwciała skierowane przeciw EGFR lub inhibitory kinazy tyrozynowej. Efektem będzie podwyższenie wrażliwości komórek glejaka na oddziaływanie czynnika terapeutycznego, jakim jest w tym przypadku promieniowanie jonizujące. Dobrym przykładem powyższej tezy może być przeciwciało anty-EGFR, przez co następuje hamowanie translokacji receptora do jądra komórkowego i jego wiązania z DNA-PKcs. Brak wiązania EGFR z DNA-PKcs zapobiega uruchomieniu systemu naprawy DNA zależnego od tego enzymu. W efekcie dochodzi do zwiększenia wrażliwości na radioterapię [23]. Przeciwciałem monoklonalnym o takiej aktywności jest cetuksymab. W naprawie DNA istotną rolę pełni pośrednio, poprzez udział w regulacji cyklu komórkowego, szlak sygnalizacyjny PI3K-Akt [20,23,24], który jest aktywowany między innymi przez EGFR. Zmutowana forma receptora EGFR, która podlega fosforylacji wskutek działania promieniowania jonizującego, jeszcze silniej sprzyja oporności glejaków wielopostaciowych na radioterapię. A zatem, jeśli komórki podda się działaniu promieniowania jonizującego, następuje fosforylacja EGFR i aktywacja szlaku PI3K-Akt, a naprawa defektów DNA zachodzi prawidłowo. Jeżeli natomiast do zahamowania PI3K-Akt, to naprawa staje się niemożliwa i zwiększa się wrażliwość komórek glejaka na promieniowanie [10,18].

### **Leki blokujące aktywność EGFR w nowotworach złośliwych skóry**

Aktualnie w terapii wielu typów raka skóry (a także w leczeniu czerniaka), stosuje się zazwyczaj dwa rodzaje nowoczesnych środków terapeutycznych, których celem jest hamowanie aktywności receptora EGFR. Ekspresja tego receptora zwiększa się, zarówno w większości przypadków raków skóry, jak i np. czerniaka naczyniowego. Do czynników hamujących aktywność EGFR należą przeciwciała monoklonalne, których rolą jest neutralizacja EGFR. Wiążąc się do domeny zewnątrzkomórkowej EGFR, przeciwciała an-

ty-EGFR uniemożliwiają aktywację domeny kinazy tyrozynowej. Do preparatów zawierających takie przeciwciała należą panitumumab, matuzumab czy cetuksymab [25,26]. Uaktywniają one cytotoksyczność komórkową zależną od przeciwciała i uwalnianie czynnika martwicy nowotworu TNF- $\alpha$ , czego efektem jest zmniejszenie populacji komórek z nadekspresją EGFR. Drugą grupą leków stosowanych w rakach skóry są inhibitory kinazy tyrozynowej. Na drodze wiązania z wewnątrzkomórkową domeną (o aktywności kinazy tyrozynowej) nie dopuszczają do procesu autofosforylacji receptora czynnika wzrostu naskórka, przez co dochodzi do znacznego osłabienia jego szlaku sygnałowego. Przykładem mogą być tzw. drobnocząsteczkowe inhibitory kinaz – erlotynib i gefitynib. Opisano jednakże przypadki wrodzonej lub też nabytej oporności na powyższe inhibitory, co jest przeszkodą stosowania ich w opisanych przypadkach [5,27,28]. Najnowsze badania wykazały skuteczność skojarzonego zastosowania gefitynibu z worinostatem – inhibitorem deacetylazy histonów (HDAC). Stwarza to możliwość zastosowania w terapii raków skóry oraz innych nowotworów złośliwych czynników terapeutycznych bazujących na mechanizmach epigenetycznych w skojarzeniu z lekami hamującymi aktywność receptora EGFR [13].

#### **Zastosowanie przeciwciał monoklonalnych anti-EGFR w leczeniu glejaków wielopostaciowych**

Rola EGFR jest w sposób szczególny związana z rozwojem glejaków mózgu. W większości przypadków glejaka wielopostaciowego obserwuje się występowanie niezmięnionej formy EGFR, natomiast w 30% mamy do czynienia z występowaniem zarówno wersji niezmięnionej, jak i zmutowanej [29]. W komórkach glejaka linii U87MG zauważono, że występowanie mutacji typu III EGFR jest związane ze wzrostem poziomu Bcl-X<sub>1</sub> (białko antyapoptotyczne z rodziny BCL), a także zwiększeniem oporności komórek na apoptozę indukowaną przez chemioterapię [29]. Zaobserwowano, że jednoczesna nadekspresja receptora EGFR i jego liganda – TGF $\alpha$  – powoduje silną transformację nowotworową komórek. Neutralizacja TGF $\alpha$  prowadzi w efekcie do zahamowania wzrostu guza nowotworowego. W przypadku glejaka zastosowanie przeciwciał przeciwko HB-EGF dowiodło zahamowania zależnej od zmutowanej formy EGFR proliferacji nowotworowo zmienionych komórek. [18]

W antynowotworowej terapii złośliwych glejaków wielopostaciowych najczęściej zastosowanie mają inhibitory kinazy tyrozynowej gefitynib i erlotynib. Pierwszy z nich jest odpowiedzialny za hamowanie aktywności wyłącznie formy niezmutowanej EGFR, zaś erlotynib obu jego form, tj. zmutowanej oraz niezmutowanej; dodatkowo obniża ekspresję receptora

z występującą mutacją typu trzeciego w transformowanych komórkach nowotworowych glejaka wielopostaciowego, a także zatrzymuje indukcję sporej części genów kodujących białka związane ze stopniem inwazyjności glejaka [30,31].

Przeciwciała monoklonalne anti-EGFR zapobiegają wiązaniu liganda, gdyż są skierowane przeciw zewnątrzkomórkowej domenie receptora. Niestety, w przypadku terapii glejaków istotnym problemem pozostaje bariera krew-mózg, poprzez którą przeciwciała monoklonalne z trudnością przenikają, nawet przy założeniu, że guzy te charakteryzują się zwiększoną przepuszczalnością. Wiele przeprowadzonych badań, głównie wykorzystujących cetuksymab, wykazało, że przeciwciała anti-EGFR są skutecznym czynnikiem w terapii glejaka wielopostaciowego. W przypadku zastosowania modeli zwierzęcych, przy guzach zarówno wzrastających wewnątrz-, jak i pozaczaszkowo, stosowanie tego przeciwciała doprowadziło do inhibicji wzrostu nowotworu oraz silnie indukowało procesy apoptozy komórek glejaków wielopostaciowych [32]. Innym przeciwciałem hamującym aktywność EGFR jest nimotuzumab. Wykorzystany w leczeniu skojarzonym z radioterapią u chorych ze zdiagnozowaną chorobą *de novo*, przyczynił się do całkowitej remisji glejaka u 67% pacjentów. Ponadto w wielu przypadkach odnotowano przynajmniej stabilizację choroby bądź częściową regresję [18].

#### **Przeciwciała anti-EGFR w leczeniu raka trzustki**

Przeciwciała monoklonalne anti-EGFR mają też zastosowanie w leczeniu raka trzustki. Obecnie rak trzustki jest jednym z najczęściej wykrywanych nowotworów, niestety diagnozowanym zazwyczaj w bardzo późnej fazie rozwoju. W związku z tym rokowania nie są dobre – pacjent w zaawansowanym stadium rozwojowym średnio przeżywa około 4 miesiące, natomiast do 5 lat dożywa niespełna 4% chorych [6]. To skłoniło naukowców do prowadzenia intensywnych badań zarówno nad molekularnym podłożem tej choroby, jej wczesnym diagnozowaniem, jak i – co wydaje się najważniejsze – znalezieniem skutecznego modelu leczenia. W wyniku badań wyłoniono główne cele molekularne, na które skierowano nowo wprowadzane czynniki terapeutyczne. Jednym z najważniejszych celów terapeutycznych w raku trzustki stał się szlak aktywacji EGFR, ale zwrócono także uwagę na dużą rolę metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej, cyklooksygenazę 2, naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (*Vascular Endothelial Growth Factor* – VEGF) i inne [6,33,34,35]. Jak w przypadku pozostałych, opisanych powyżej nowotworów, również i w raku trzustki zauważono podwyższoną ekspresję EGFR [34]. U pacjentów z wysoką ekspresją odnotowuje się krótszy czas przeżycia w porównaniu z chorymi ze stwierdzonym niższym poziomem ekspresji.

Nowe terapie raka trzustki zakładają użycie inhibitorów kinaz tyrozynowych oraz przeciwciał monoklonalnych niezależnie lub w połączeniu z cytostatykami, toksyną *Pseudomonas sp.* bądź promieniowaniem jonizującym [6,34,36].

W leczeniu raka trzustki zarejestrowano *erlotynib* i stał się on powszechnie stosowanym środkiem wspomagającym terapię tego nowotworu [34,36]. Przeciwciała anti-EGFR, łącząc się z receptorem, powodują unieczynnienie kaskady transdukcji sygnału wewnątrzkomórkowego oraz dimeryzacji receptora, ale wywołują w efekcie odpowiedź humoralną układu immunologicznego, co stanowi poważne działanie uboczne terapii [37]. Pomimo tego, do leczenia raka trzustki włączono cetuksymab [36]. Uzyskane wyniki terapeutyczne okazały się bardzo obiecujące, zwłaszcza w zestawieniu z konwencjonalną chemioterapią.

Przeciwciała monoklonalne (cetuksymab) zastosowano również w skojarzeniu z gemcytabiną [38], oksaliplatyną [39] oraz innymi chemioterapeutykami [40]. Analogiczne rezultaty przyniosło skojarzone zastosowanie cetuksymabu z radioterapią [41,42]. Istotnym atutem stosowania przeciwciał monoklonalnych anti-EGFR jest ich dość przewidywalna farmakokinetyka, a także możliwość modulowania czasu działania w organizmie. Co ważne, stosowanie cetuksymabu nie wykazało silnych efektów toksycznych u pacjentów: zaobserwowano głównie niewielką toksyczność skórą i nudności oraz bóle brzucha [38]. Leczenie prowadzone w grupie osób z nadekspresją EGFR przyniosło pozytywny efekt w postaci dłuższego przeżycia u znacznej części pacjentów. Większą przeżywalność zauważono w grupie osób, u których wystąpiły silniejsze skutki uboczne. Podjęto także próby połączenia terapii cetuksymabem z erlotynibem, lecz wyniki takich badań nie zostały jeszcze w pełni udokumentowane [35,38,43], a także terapię skojarzoną z innymi przeciwciałami monoklonalnymi – trastuzumabem [44] oraz bewacyzumabem [45].

### **Przeciwciała stosowane w innych typach nowotworów złośliwych**

Cetuksymab jest przeciwciałem, które w terapii przejawia szerokie spektrum działania przeciwnowotworowego. Jest to immunoglobulina klasy IgG<sub>1</sub> o charakterze białka chimerycznego. Głównym efektem jego działania jest zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>, a także zwiększenie ekspresji białek indukujących apoptozę przy równoczesnej dezaktywacji białek antyapoptotycznych. Wykazuje większe powinowactwo do receptora naskórkowego czynnika wzrostu aniżeli takie ligandy, jak TGF- $\alpha$  czy EGF. Redukuje również procesy powstawania naczyń krwionośnych w guzach. Wiele badań potwierdziło bezpieczeństwo jego stosowania [8,11]. Oprócz wyżej przytoczonych przypadków (raki skóry, glejaki), cetuksy-

mab znajduje zastosowanie między innymi w terapii niedrobnokomórkowego raka płuca (*non-small cell lung carcinoma* – NSCLC). Najważniejszym czynnikiem prognostycznym w ocenie skuteczności stosowania cetuksymabu w leczeniu NSCLC okazała się ekspresja receptorów EGFR – im wyższa, tym większa skuteczność terapii [46] (innym czynnikiem prognostycznym w raku płuca jest ekspresja genu supresorowego PTEN (*phosphatase and tensin homolog*) [47]. Zaobserwowano także istotny statystycznie wzrost skuteczności terapii niedrobnokomórkowego raka płuca cetuksymabem w skojarzeniu z cisplatyną, w porównaniu z monoterapią opartą wyłącznie na cisplatynie [46]. Badania Son i współpracowników potwierdziły synergistyczne działanie cetuksymabu w skojarzeniu z cisplatyną także w liniach komórkowych raka okrężnicy [48]. Udowodniono również skuteczność cetuksymabu w skojarzeniu z innymi chemioterapeutykami [49]. Badania kliniczne III fazy wskazują na możliwość zastosowania w niedrobnokomórkowym raku płuca także innych przeciwciał blokujących receptor EGF – matuzumab, panitumumab oraz necitumumab [4,46]. Dowiedziono także skuteczności stosowania cetuksymabu w skojarzeniu z radioterapią w nowotworach głowy i szyi (badania II fazy) [50] oraz z terapią neoadjuwantową i radioterapią raka krtani [51].

Panitumumab jest ludzkim, ukierunkowanym wprost przeciwko EGFR, monoklonalnym przeciwciałem klasy IgG<sub>2</sub>, które wykazuje swoje działanie poprzez niekwalencyjne wiązanie z podjednostką wiążącą ligand białka EGFR. Za pośrednictwem wiązania z receptorem EGFR uniemożliwia działanie TGF- $\alpha$  oraz EGF, przez co hamuje wzrost komórek nowotworowych. Przejawia podobne do cetuksymabu działanie na cykl komórkowy. Zahamowanie wewnątrzkomórkowych szlaków sygnalizacyjnych receptora czynnika wzrostu naskórka, wykazujących w przypadku komórek nowotworowych nadmierną aktywność oraz niekorzystnie wpływających na rokowania, powoduje przywrócenie właściwej, fizjologicznej aktywności i zapobiega działaniu promitogennemu. W lecznictwie panitumumab jest stosowany głównie w terapii raka jelita grubego. Zwiększoną ekspresję EGFR wykryto w większości, nawet w 80%, komórek raka jelita grubego [20,50,52]. Toksyczność ogólna panitumumabu nie odbiega znacznie od toksyczności cetuksymabu. Zwraca się uwagę na toksyczność skórą (wysypki) oraz śluzówkową (głównie biegunki), a także hipomagnezemię. W większości przypadków niektóre działania niepożądane ustają samoistnie już w ciągu niespełna kilku dni od zaprzestania terapii. Toksyczność panitumumabu nie jest aż tak wysoka, jak reszty terapeutyków mających zastosowanie w leczeniu raka jelita grubego. Panitumumab dopuszczono w monoterapii raka jelita grubego w przypadkach postaci przerzutującej oraz postaci z niezmutowanym genem

KRAS, dzięki formie raka, w przypadku nieefektywności konwencjonalnych środków (chemioterapia np. oksaliplatyna) [5,53]. W terapii raka jelita grubego stosowany jest także cetuksymab [54,55]. Ostatnie badania wykazały także skuteczność obu leków, tj. cetuksymabu i panitumumabu, m.in. w raku okrężnicy [20], piersi, prostaty, trzustki oraz mięsach [56]. Badania *in vitro* oraz *in vivo* (w modelu mysim) dowiodły, że w przypadku stosowania przeciwciał anti-EGFR w raku okrężnicy (co wykazano zarówno dla cetuksymabu, jak i panitumumabu) można skutecznie zapobiegać rozwojowi oporności na te preparaty poprzez użycie ich w skojarzeniu z modulatorami szlaku kinaz Ras/Raf/MEK, gdyż pobudzenie tego szlaku stanowi główny mechanizm oporności w trakcie terapii opartej na modulacji EGFR [52]. Innym ważnym szlakiem, którego aktywność często wzrasta podczas terapii raka okrężnicy przeciwciałami anti-EGFR, jest szlak kinaz PI3/Akt/mTOR [20], co potwierdzono także w przypadku innych typów nowotworów [24]. Zastosowanie inhibitorów tego szlaku opóźnia lub całkowicie eliminuje problem rozwoju oporności na terapię przeciwciałami anti-EGFR [14]. Podobny efekt można uzyskać stosując przeciwciała anti-EGFR w skojarzeniu z niskocząsteczkowymi inhibitorami szlaku EGFR, w tym gefitynibem i erlotynibem [10,13].

Pozostałe preparaty zawierające przeciwciała monoklonalne anti-EGFR, matuzumab oraz nimotuzumab, są stosunkowo nowymi lekami, dla których badania kliniczne przeprowadzono w wybranych typach nowotworów złośliwych. Badania kliniczne I fazy wykazały skuteczność matuzumabu w terapii skojarzonej z 5-fluorouracylem, leukoworyną i cisplatyną w gruczolakoraku żołądka [57]. Natomiast nimotuzumab w połączeniu z terapią neoadjuwantową oraz w skojarzeniu z radioterapią i cisplatyną wykazał skuteczność, przy stosunkowo niskiej toksyczności, w leczeniu raka krtani [58,59]. Ponadto w fazie badań przedklinicznych i klinicznych jest kilkanaście nowych preparatów zawierających przeciwciała anti-EGFR oraz wiele nowych postaci, np. immunokoniugaty zawierające liposomalną formę do-ksorubicyny liposomy [4].

### Terapia skojarzona

Oprócz klasycznej formy terapii skojarzonej, czyli stosowania preparatów zawierających przeciwciała monoklonalne anti-EGFR w połączeniu z chemio- czy radioterapią, aktywność przeciwciał monoklonalnych można wzbogacać przez łączenie ich z różnymi toksynami czy radioizotopami. W terapii glejaków wykorzystano między innymi przeciwciało <sup>125</sup>J-Mab skierowane przeciw receptorowi czynnika wzrostu naskórka w terapii skojarzonej z promieniowaniem jonizującym. Wykazano dużo wyższy poziom radio-

aktywności w komórkach nowotworowych, w porównaniu z komórkami prawidłowymi, co wiązało się ze zwiększoną ekspresją receptorów naskórkowego czynnika wzrostu w komórkach guza. Wynikiem terapii skojarzonej było znaczne wydłużenie czasu życia chorych, w porównaniu z leczeniem wykorzystującym tylko radioterapię [23,62]. Innym przykładem wykorzystania koniugatów przeciwciał anti-EGFR z radioizotopami jest preparat zawierający izotop bizmutu <sup>213</sup>Bi. Badania jego skuteczności w modelu *in vitro* wykazały wysoką skuteczność niezależną od stanu redoks komórek – lek wykazuje silne działanie cytotoksyczne także w komórkach poddanych hipoksji, co jest często przeszkodą w skutecznej chemio- i radioterapii guzów nowotworowych [60]. Także endotoksyny pozyskiwane z *Pseudomonas sp.* połączone z przeciwciałami przyniosły zadowalające rezultaty. Bardzo często w badaniach wykorzystuje się ETA (egzotoksyna A pozyskiwana z *Pseudomonas*), ponadto używa się toksyn grzybiczych oraz roślinnych. Egzotoksyna ETA w skojarzeniu z przeciwciałem monoklonalnym specyficznie łączy się z receptorem EGF hamując jego aktywność oraz wywołując bezpośredni efekt cytotoksyczny w stosunku do komórek nowotworowych [61,62,63]. Po połączeniu z EGFR, ETA zostaje wprowadzona do komórki docelowej, wykorzystując mechanizmy endocytozy, gdzie oddziałując na siateczkę śródplazmatyczną, hamuje syntezę białek w nieodwracalny sposób. Konstruowane są również inne koniugaty przeciwciał anti-EGFR, które na razie w znacznej części pozostają w fazie badań przedklinicznych [7,18,56,62].

### PODSUMOWANIE

Jak wskazują powyższe informacje, w opracowywaniu terapii przeciwnowotworowych coraz większe znaczenie mają przeciwciała monoklonalne. Stosowanie ich w leczeniu daje dużo lepszą skuteczność, a także, co bardzo istotne, ogranicza wystąpienie skutków ubocznych związanych z terapią. Wykorzystanie receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR) ma swoje uzasadnienie, gdyż receptor ten jest odpowiedzialny za proliferację komórek nowotworowych, ich adhezję czy przerzutowanie, zatem zablokowanie jego ścieżki sygnałowej przynosi oczekiwane efekty w postaci znacznego ograniczenia wzrostu komórek zmienionych nowotworowo. Ponadto, skojarzenie przeciwciał monoklonalnych z chemioterapią czy radioizotopami wzmacnia efekt terapeutyczny. Warto zauważyć, że prowadzi się ciągle wiele badań w celu udoskonalenia terapii z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych w regulacji transdukcji sygnału receptora EGFR w komórkach nowotworowych.

## PIŚMIENNICTWO:

1. Zhang J., Saba N.F., Chen G., Shin D.M. Targeting HER (ERBB) signaling in head and neck cancer: An essential update. *Mol. Aspects. Med.* 2015; 45: 74–86.
2. Tomas A., Futter C.E., Eden E.R. EGR receptor trafficking: consequences for signaling and cancer. *Trends Cell Biol.* 2014; 24(1): 26–34.
3. Wieduwilt M.J., Moasser M.M. The epidermal growth factor receptor family: biology driving targeted therapeutics. *Cell. Mol. Life Sci.* 2008; 65(10): 1566–1584.
4. Goffin J.R., Zbuk K. Epidermal Growth Factor Receptor: Pathway, Therapies, and Pipeline. *Clin. Ther.* 2013; 35(9): 1282–1303.
5. Włodarkiewicz A., Sobjanek M., Michajłowski I., Nałęcz D., Niekra M., Michajłowski D. Strategie molekularne w leczeniu raków skóry. *Prz. Dermatol.* 2012; 99(2): 120–124.
6. Akinleye A., Iragavarapu C., Furqan M., Cang S., Liu D. Novel agents for advanced pancreatic cancer. *Oncotarget.* 2015; 6(37): 39521–39537.
7. Daniel P., Małecka-Panas E. Podstawy teoretyczne leczenia nowotworów ukierunkowane na drogi sygnałowe receptora czynników wzrostowych rodziny naskórkowego czynnika wzrostu. *Prz. Lek.* 2005; 62(8): 804–809.
8. Khelwatty S.A., Essapen S., Seddon A.M., Fan Z., Modjtahedi H. Acquired resistance to anti-EGFR mAb ICR62 in cancer cells is accompanied by an increased EGFR expression, HER-2/HER-3 signalling and sensitivity to pan HER blockers. *Brit. J. Cancer.* 2015; 113(7): 1010–1019.
9. Wang S., Song Y., Liu D. EAI045: The fourth-generation EGFR inhibitor overcoming T790M and C797S resistance. *Cancer. Lett.* 2017; 385: 51–54.
10. Yewale C., Baradia D., Vhora I., Patil S., Misra A. Epidermal growth factor receptor targeting in cancer: A review of trends and strategies. *Bio-materials.* 2013; 34(34): 8690–8707.
11. Bozec A., Ebran M., Radovevic-Robin N., Sudaka A., Monteverde M., Toussan N., Etienne-Grimaldi M.C., Nigro C.L., Merlano M., Penault-Llorca F., Milano G. Combination of mTOR and EGFR targeting in an orthotopic xenograft model of head and neck cancer. *Laryngoscope* 2016; 126(4): E156–E163.
12. El Guerrab A., Bamdad M., Kwiatkowski F., Bignon Y.J., Penault-Llorca F., Aubel C. Anti-EGFR monoclonal antibodies and EGFR tyrosine kinase inhibitors as combination therapy for triple-negative breast cancer. *Oncotarget.* 2016; 7(45): 73618–73637.
13. Jeannot V., Busser B., Vanwonderghem L., Michallet S., Ferroudj S., Cokol M., Coll J.L., Ozturk M., Hurbini A. Synergistic activity of vorinostat combined with gefitinib but not with sorafenib in mutant KRAS human non-small cell lung cancers and hepatocarcinoma. *Oncotargets Ther.* 2016; 9: 6843–6855.
14. Vacas E., Munoz-Moreno L., Valenzuela P.L., Prieto J.C., Schally A.V., Carmena M.J., Bajo A.M. Growth hormone-releasing hormone induced transactivation of epidermal growth factor receptor in human triple-negative breast cancer cells. *Peptides.* 2016; 86: 153–161.
15. Birkman E.M., Algars A., Lintunen M., Ristamäki R., Sundstrom J., Carpén O. EGFR gene amplification is relatively common and associates with outcome in intestinal adenocarcinoma of the stomach, gastro-oesophageal junction and distal oesophagus. *BMC Cancer* 2016; 16: 406.
16. Kowalski D.M., Krzakowski M., Janowicz-Żebrowska A. Hamowanie osi receptora naskórkowego czynnika wzrostu w leczeniu niedrobnokomórkowego raka płuca. *Onkol. Prakt. Klin.* 2011; 7(4): 177–182.
17. Xu W., Bi Y., Zhang J., Kong J., Jiang H., Tian M., Li K., Wang B., Chen C., Song F., Pan X., Shi B., Kong X., Gu J., Cai X., Li Z. Synergistic antitumor efficacy against the EGFRvIII<sup>HER</sup> breast cancers by combining trastuzumab with anti-EGFRvIII antibody CH12. *Oncotarget* 2015; 6(36): 38840–38853.
18. Sierko E., Wojtukiewicz M. Interferowanie z funkcją EGFR – nowe możliwości leczenia chorych na glejaki mózgu? *Onkol. Prakt. Klin.* 2011; 7(4): 215–223.
19. Artemov A., Aliper A., Korzinkin M., Lezhnina K., Jellen L., Zhukov N., Roumiantsev S., Gaifullin N., Zhavoronkov A., Borisov N., Buzdin A. A method for predicting target drug efficiency in cancer based on the analysis of signaling pathway activation. *Oncotarget* 2015; 6(30): 29347–29356.
20. Seow H.F., Yip W.K., Fifis T. Advances in targeted and immunobased therapies for colorectal cancer in the genomic era. *Oncotargets Ther.* 2016; 9: 1899–1920.
21. Matsunaga Y., Adachi Y., Sasaki Y., Koide H., Motoya M., Noshio K., Takagi H., Yamamoto H., Sasaki S., Arimura Y., Tokino T., Carbone D.P., Imai K., Shinomura Y. The effect of forced expression of mutated K-RAS on gastrointestinal cancer cell lines and the IGF-1R targeting therapy. *Mol. Carcinog.* 2016; 56(2): 515–526. DOI: 10.1002/mc.22513.
22. Wyrwicz L.S., Nowecki Z.I. Panitumumab i hamowanie sygnalizacji osi receptora naskórkowego czynnika wzrostu w leczeniu przerzutowego raka jelita grubego. *Onkol. Prakt. Klin.* 2010; 6(6): 290–300.
23. Liccardi G., Hartley J.A., Hochhauser D. EGFR nuclear translocation modulates DNA repair following cisplatin and ionizing radiation treatment. *Cancer. Res.* 2011; 71(3): 1103–1114.
24. Ohnishi Y., Yasui H., Kakudo K., Nozaki M. Cetuximab-resistant oral squamous cell carcinoma cells become sensitive in anchorage-independent culture conditions through the activation of the EGFR/AKT pathway. *Int. J. Oncol.* 2015; 47(6): 2165–2172.
25. Gracia-Cazaña T., Gonzalez S., Gilaberte Y. Resistance of nonmelanoma skin cancer to nonsurgical treatments. Part I: Topical treatments. *Actas Dermosifiliogr.* 2016; 107(9): 730–739.
26. Gracia-Cazaña T., Salazar N., Zamarron A., Mascaraque M., Lucena S.R., Juarranz A. Resistance of nonmelanoma skin cancer to nonsurgical treatments. Part II: Photodynamic therapy, vismodegib, cetuximab, intravesical methotrexate, and radiotherapy. *Actas Dermosifiliogr.* 2016; 107(9): 740–750.
27. Amaro A., Mirisola V., Angelini G., Musso A., Tosetti F., Esposito A.I., Perri P., Lanza F., Nasciuti F., Mosci C., Puzone R., Salvi S., Truini M., Poggi A., Pfeffer U. Evidence of epidermal growth factor receptor expression in uveal melanoma: inhibition of epidermal growth factor-mediated signalling by Gefitinib and Cetuximab triggered antibody-dependent cellular cytotoxicity. *Eur. J. Cancer.* 2013; 49(15): 3353–3365.
28. Wollina U. Cetuximab in non-melanoma skin cancer. *Expert. Opin. Biol. Ther.* 2012; 12(7): 949–956.
29. Szopa W., Burley T.A., Kramer-Marek G., Kaspera W. Diagnostic and therapeutic biomarkers in glioblastoma: Current status and future perspectives. *Biomed. Res. Int.* 2017; 8013575. DOI: 10.1155/2017/8013575.
30. Miller J.J., Wen P.Y. Emerging targeted therapies for glioma. *Expert Opin. Emerg. Dr.* 2016; <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14728214.2016.1257609> [dostęp: 12.12.2016].
31. D'Alessandris Q.G., Montano N., Cenci T., Martini M., Lauretti L., Bianchi F., Larocca L.M., Maira G., Fernandez E., Pallini R. Targeted therapy with bevacizumab and erlotinib tailored to the molecular profile of patients with recurrent glioblastoma. Preliminary experience. *Acta Neurochir.* 2013; 155(1): 33–40.
32. Hicks M.J., Chiuchio M.J., Ballon D., Dyke J.P., Aronowitz E., Funato K., Tabar V., Havlicek D., Fan F., Sondhi D., Kaminsky S.M., Crystal R.G. Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Gene Therapy for Glioblastoma. *PLoS. One.* 2016; 11(10): e0162978.
33. Durko Ł., Małecka-Panas E. Nowe strategie leczenia raka trzustki ukierunkowane na szczyt sygnałowej receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu. *Gastroenterol. Pol.* 2008; 15(1): 57–61.
34. Philip P.A., Lutz M.P. Targeting epidermal growth factor receptor-related signaling pathways in pancreatic cancer. *Pancreas* 2015; 44(7): 1046–1052.
35. Silvestris N., Gnani A., Brunetti A.E., Vincenti L., Santini D., Tonini G., Merchionne F., Maiello E., Lorusso V., Nardulli P., Azzariti A., Reni M. Target therapies in pancreatic carcinoma. *Curr. Med. Chem.* 2014; 21(8): 948–965.
36. Saif M.W. Advanced stage pancreatic cancer: novel therapeutic options. *Expert Rev. Clin. Pharmacol.* 2014; 7(4): 487–498.
37. Sasada T., Azuma K., Ohtake J., Fujimoto Y. Immune responses to epidermal growth factor receptor (EGFR) and their application for cancer treatment. *Front. Pharmacol.* 2016; 7(405): eCollection 2016.
38. Nedaeinia R., Avan A., Manian M., Salehi R., Ghayour-Mobarhan M. EGFR as a potential target for the treatment of pancreatic cancer: dilemma and controversies. *Curr. Drug Targets* 2014; 15(14): 1293–1301.
39. Esnaola N.F., Chaudhary U.B., O'Brien P., Garrett-Mayer E., Camp E.R., Thomas M.B., Cole D.J., Montero A.J., Hoffman B.J., Romagnuolo J., Orwat K.P., Marshall D.T. Phase 2 trial of induction gemcitabine, oxaliplatin, and cetuximab followed by selective capecitabine-based chemoradiation in patients with borderline resectable or unresectable locally advanced pancreatic cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2014; 88(4): 837–844.
40. Burtress B., Powell M., Catalano P., Berlin J., Liles D.K., Chapman A.E., Mitchell E., Benson A.B. Randomized phase II trial of irinotecan/docetaxel or irinotecan/docetaxel plus cetuximab for metastatic pancreatic cancer: An eastern cooperative oncology group study. *Am. J. Clin. Oncol.* 2016; 39(4): 340–345.
41. Rembielak A.I., Jain P., Jackson A.S., Green M.M., Santorelli G.R., Whitfield G.A., Crellin A., Garcia-Alonso A., Radhakrishna G., Cullen J., Taylor M.A., Swindell R., West C.M., Valle J., Saleem A., Price P.M. Phase II trial of cetuximab and conformal radiotherapy only in locally advanced pancreatic cancer with concurrent tissue sampling feasibility study. *Transl. Oncol.* 2014; 7(1): 55–64.
42. Fiore M., Trodella L., Valeri S., Borzomati D., Floreno B., Ippolito E., Trecca P., Trodella L.E., D'Angelillo R.M., Ramella S., Coppola R. Prospective study of cetuximab and gemcitabine in combination with radiation therapy: feasibility and efficacy in locally advanced pancreatic head cancer. *Radiat. Oncol.* 2015; 10: 255. Doi: 10.1186/s13014-015-0564-8.



43. Gaborit N., Lindzen M., Yarden Y. Emerging anti-cancer antibodies and combination therapies targeting HER3/ERBB3. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2016; 12(3): 576–592.
44. Assenat E., Azria D., Mollevi C., Guimbaud R., Tubiana-Mathieu N., Smith D., Delord J.P., Samalin E., Portales F., Larbouret C., Robert B., Bibeau F., Bleuse J.P., Crapez E., Ychou M., Pelegrin A. Dual targeting of HER1/EGFR and HER2 with cetuximab and trastuzumab in patients with metastatic pancreatic cancer after gemcitabine failure: results of the 'THER-APY' phase 1–2 trial. *Oncotarget* 2015; 6(14): 12796–12808.
45. Tai C.J., Huang M.T., Wu C.H., Wang C.K., Tai C.J., Chang C.C., Hsieh C.I., Chang Y.J., Wu C.J., Kuo L.J., Wei P.L., Chen R.J., Chiou H.Y. Combination of two targeted medications (bevacizumab plus cetuximab) improve the therapeutic response of pancreatic carcinoma. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95(15): e3259. Doi: 10.1097/MD.0000000000003259.
46. Pirker R. EGFR-directed monoclonal antibodies in non-small cell lung cancer. *Target Oncol.* 2013; 8(1): 47–53.
47. Chang H., Oh J., Zhang X., Kim Y.J., Lee J.H., Lee C.T., Chung J.H., Lee J.S. EGFR protein expression using a specific intracellular domain antibody and PTEN and clinical outcomes in squamous cell lung cancer patients with EGFR-tyrosine kinase inhibitor therapy. *Onco Targets Ther* 2016; 9: 5153–5162.
48. Son D.J., Hong J.E., Ban J.O., Park J.H., Lee H.L., Gu S.M., Hwang J.Y., Jung M.H., Lee D.W., Han S.B., Hong J.T. Synergistic Inhibitory effects of Cetuximab and Cisplatin on Human Colon Cancer Cell Growth *via* Inhibition of the ERK-Dependent EGF Receptor Signaling Pathway. *Biomed. Res. Int.* 2015; 397563.
49. Yang Z.Y., Liu L., Mao C., Wu X.Y., Huang Y.F., Hu X.F., Tang J.L. Chemotherapy with cetuximab versus chemotherapy alone for chemotherapy-naive advanced non-small cell lung cancer. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2014; 17(11): CD009948. Doi:10.1002/14651858.pub2.
50. Magrini S.M., Buglione M., Corvo R., Pirtoli L., Paiar F., Ponticelli P., Petrucci A., Bacigalupo A., Crociani M., Lastrucci L., Vecchio S., Bonomo P., Pasinetti N., Triggiani L., Cavagnini R., Costa L., Tonoli S., Maddalo M., Grisanti S. Cetuximab and radiotherapy versus cisplatin and radiotherapy for locally advanced head and neck cancer: a randomized phase II trial. *J. Clin. Oncol.* 2016; 34(5): 427–435.
51. Bonetta A., Bandera L., Roviello G., Cafaro I., Bottini A., Generali D. Neoadjuvant chemotherapy and radical radiotherapy associated with cetuximab for laryngeal cancer in a pancreas and renal recipient. *Anticancer Drugs* 2016; 27(5): 470–473.
52. Misale S., Bozic I., Tong J., Peraza-Penton A., Lallo A., Baldi F., Lin K.H., Truini M., Trusolino L., Bertotti A., Di Nicolantonio F., Nowak M.A., Zhang L., Wood K.C., Bardelli A. Vertical suppression of the EGFR pathway prevents onset of resistance in colorectal cancers. *Nat. Commun.* 2015; 6(8305): 1–9.
53. Wyrwicz L.S., Nowecki Z.I. Panitumumab i hamowanie sygnalizacji osi receptora naskórkowego czynnika wzrostu w leczeniu przerzutowego raka jelita grubego. *Onkol. Prakt. Klin.* 2010; 6(6): 290–300.
54. Garcia-Foncillas J., Diaz-Rubio E. Progress in metastatic colorectal cancer: growing role of cetuximab to optimize clinical outcome. *Clin. Transl. Oncol.* 2010; 12(8): 533–542.
55. Schimanski C.C., Staib F., Gohler T., Hebart H., Heike M., Neise M., Rudi J., Geer T., Dingeldein G., Lang C., Ehscheidt P., Flohr T., Josten K.M., Karthaus M., Schmittle A., Wierecky J., Boller E., Indorf M., Worms M.A., Galle P.R., Moehler M. Dermatix: phase IV trial of cetuximab plus FOLFIRI in first-line metastatic colorectal cancer receiving a pre-defined skin care. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2017; 143(6): 1023–1034.
56. Niesen J., Stein C., Brehm H., Hehmann-Titt G., Fendel R., Melmer G., Fischer R., Barth S. Novel EGFR-specific immunotoxins based on panitumumab and cetuximab show *in vitro* and *ex vivo* activity against different tumor entities. *J. Cancer. Res. Clin. Oncol.* 2015; 141(12): 2079–2095.
57. Trarbach T., Przyborek M., Schleucher N., Heeger S., Lupfert C., Vanhoef U. Phase I study of matuzumab in combination with 5-fluorouracil, leucovorin and cisplatin (PLF) in patients with advanced gastric and esophago-gastric adenocarcinomas. *Invest. New Drugs* 2013; 31(3): 642–652.
58. Wang F., Jiang C., Ye Z., Sun Q., Liu T., Xu M., Wu P., Shi K., Long B., Rihito A., Masoto S., Fu Z. Efficacy and safety of nimotuzumab with neoadjuvant chemotherapy followed by concurrent chemoradiotherapy for locoregionally advanced nasopharyngeal carcinoma. *Oncotarget* 2017; 8(43): 75544–75556. DOI: 10.18632/oncotarget.17357.
59. Li H.M., Li P., Qian Y.J., Wu X., Xie L., Wang F., Zhang H., Liu L. A retrospective paired study: efficacy and toxicity of nimotuzumab versus cisplatin concurrent with radiotherapy in nasopharyngeal carcinoma. *BMC Cancer* 2016; 16(1): 946.
60. Wulbrand C., Seidl C., Gaertner F.C., Bruchertseifer F., Morgenstern A., Essler M., Senekowitsch-Schmidtke R. Alpha-particle emitting <sup>213</sup>Bi-anti-EGFR immunoconjugates eradicate tumor cells independent of oxygenation. *PLoS One* 2013; 8(5): e64730. DOI: 10.1371/journal.pone.0064730.
61. Shapira A., Benhar I. Toxin-based therapeutic approaches. *Toxins (Basel)* 2010; 2(11): 2519–2583.
62. Karpel-Massler G., Schmidt U., Unterberg A., Halatsch M. Therapeutic inhibition of the epidermal growth factor receptor in high-grade gliomas: Where do we stand? *Mol. Cancer Res.* 2009; 7(7): 1000–1012.
63. Michaelis M., Bliss J., Arnold S.C., Hinsch S., Rothweiler F., Deubzer H.E., Witt O., Langer K., Doerr H.W., Wels W.S., Cinatl J. Cisplatin-resistant neuroblastoma cells express enhanced levels of epidermal growth factor receptor (EGFR) and are sensitive to treatment with EGFR-specific toxins. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14(20): 6531–6537.