

Kemoterapeutikumok, terápiás válasz és rezisztencia-mechanizmusok a colorectalis carcinoma kezelésében

Tegze Bálint^{1,2}, Tulassay Zsolt^{1,3}, Gyórfy Balázs^{1,2}

Semmelweis Egyetem, ¹II. sz. Belgyógyászati Klinika, ²Szentágotthai János Tudásközpont, ³MTA-Semmelweis Egyetem, Gasztroenterológiai és Endokrinológiai Kutató Csoport, Budapest

A vastagbélrák Magyarországon a második leggyakoribb daganat. Kemoterápiás kezelése során első vonalban az 5-fluorouracil, az oxaliplatin és az irinotecan szerepelnek. A leggyakrabban használt vegyület, az 5-fluorouracil, a betegek 90%-ánál nem hatásos. Leukovorinnal vagy 5-etil-2'-deoxiuridinnel fokozni lehet a hatékonyságát. A rezisztencia fő okai a dihidropirimidin-dehidrogenáz, az MRP8, a timidilátszintáz és az NFκB p65 expressziójának növekedése lehetnek. Az oxaliplatin hatását reaktív platina-komplexek, DNS-keresztkötések és DNS-törések képzése révén fejt ki. Az oxaliplatin-5-fluorouracil-leukovorin kombináció az első olyan kezelési protokoll, amellyel 20 hónapos átlagos túlélés érhető el. Az oxaliplatinnal szembeni rezisztencia fő okai a csökkent akkumuláció, a megnövekedett detoxifikáció és a DNS-repair. Az irinotecan a topoizomeráz I enzimét gátolja, ezáltal megakadályozza a DNS másolása során bekövetkező törések kijávitását. Szekvenciális 5-fluorouracil, oxaliplatin, irinotecan kombinációval akár 26 hónapos átlagos túlélés is elérhető. Az irinotecannal szembeni legfontosabb rezisztencia-mechanizmusok a csökkent akkumuláció, a megnövekedett enzimatiszta átalakulás, az ABC transzporterek, a DNS-repair rendszer, az apoptotikus utak és a topoizomeráz I változása. A túlélés biológiai terápia (cetuximab, bevacizumab) használatával tovább javítható. A közeljövőben várható, hogy az ilyen monoklonális antitestek egyre jobban elterjednek. Magyar Onkológia 50:315–323, 2006

Colorectal carcinoma is one of the most common cancers in Hungary, responsible for about 5000 deaths each year. In the first line treatment the most commonly used drugs are 5-fluorouracil, oxaliplatin and irinotecan. The most frequently used drug is 5-fluorouracil, which has no effect in 90% of the cases. The combination with leukovorin or with 5-ethyl-2'-deoxyuridine 5-fluorouracil has an increased effect. The main mechanisms of the resistance against 5-fluorouracil are due to the overexpression of dihydropyrimidine dehydrogenase, MRP8, thymidylate synthase, and NFκB p65. Oxaliplatin forms reactive platinum complexes, which are believed to inhibit DNA synthesis by forming interstrand and intrastrand cross-linking of DNA molecules. The oxaliplatin-5-fluorouracil-leucovorin combination was the first to reach more than 20 months median survival. The main mechanisms of resistance are decreased accumulation, increased detoxification and increased DNA repair. Irinotecan inhibits the topoisomerase I enzyme, resulting in the inhibition of the repair of DNA breaks occurring during DNA synthesis. With sequential 5-fluorouracil, oxaliplatin, irinotecan combination 26 months median survival was reached. Mechanisms resulting in resistance are decreased accumulation, increased enzymatic detoxification, alterations of ABC transporters, DNA repair system, apoptotic pathways and topoisomerase I. Survival can be elongated using biological therapy (cetuximab, bevacizumab). In the near future biological therapy is expected to spread. Tegze B, Tulassay Z, Gyórfy B. *Chemotherapy agents, response rates and mechanisms of resistance in the therapy of the colorectal carcinoma. Hungarian Oncology 50:315–323, 2006*



Bevezetés

Hazánkban férfiakban és nőkben a vastagbélrák (colorectalis carcinoma, CRC) a második leggyakoribb daganat, évente kb. 5000 halálesetet okoz (42). A CRC patogenezeise nem tisztázott, de létre-

jöttében a környezeti tényezőknek, főként a csökkent rosttartalmú, magas energiatartalmú táplálkozásnak is szerepet tulajdonítanak. Gyakorisága 40 év fölött nő és évtizedenként megkettőződik. A vastagbél-nyálkahártya fokozott sejtpusztulásával járó betegségek, elsősorban a colitis ulcerosa és a familiáris polyposis-szindrómák növelhetik a rizikót. Genetikai tényezők, onkogének és tumor-suppresszor gének szerepét is igazolták. A CRC-k több mint 90%-a adenocarcinoma.

A vastagbélrák korai felismerése végleges sebészi ellátásra nyújt lehetőséget. A két éven belüli helyi recidíva a megfelelő sebészeti techniká-

Közlésre érkezett: 2006. július 24.
Elfogadva: 2006. november 17.

Levelezési cím: Dr. Gyórfy Balázs,
Semmelweis Egyetem Szentágotthai János Tudásközpont,
1085 Budapest, Bókay u. 53/54., Telefon: 1-266-0926/2725,
Fax: 1-303-6077, E-mail: gyorffy@szjt.hu

val 6,5% alá csökkenthető (23). A IIB stádiumig a sebészi eltávolítás önmagában elegendő, a IIB stádium egyes eseteiben már a radioterápia és a fluorouracil-alapú kezelés is ajánlott. A III. stádiumú betegek kezelésében a sebészi eltávolítás mellett az adjuváns kemoterápia bizonyítottan csökkenti a recidíva esélyét. IV. stádiumban, illetve recidíva esetén szintén lehetőség lehet a sebészi ellátásra, a daganat és az áttét elhelyezkedésétől függően. A májjátét eltávolításával a túlélés nő, azonban a műtét nem mindig végezhető el. Ebben az esetben neoadjuváns kemoterápia segíthet abban, hogy a daganat sebészileg eltávolítható legyen (25). Az áttétes, műtéttel nem kezelhető betegek várható túlélése csak szupportív terápia esetén 5-6 hónap, a legújabb kombinációs kemoterápiás protokollokkal azonban ez ma a 20 hónapot is elérheti (50).

Évtizedekig a fluoropirimidinek alkották az első vonalbeli kezelést. Az elmúlt években az irinotecan, az oxaliplatin, és két monoklonális antitest bevezetésével a kezelés lehetőségei bővültek. Az egyes szereket monoterápiában és kombinációban alkalmazzák. A következőkben áttekintjük az egyes szerek alkalmazásának lehetőségeit, a várható választ és a kialakuló rezisztencia eddig ismert okait.

5-fluorouracil

Az 5-fluorouracil jelenleg a legelterjedtebb és legolcsóbb gyógyszer a colorectalis rák kezelésében, bár hatékonysága csekély. Az 5-fluorouracil pirimidinvegyület, az 5-ös pozícióban fluoratomot tartalmaz. Gátolja a timidilátszintáz, hatásában az RNS-be történő beépülés fontos szerepet játszik. Farmakológiai hatásainak létrehozásához azonban nélkülözhetetlen a metabolikus aktivitás: a timidilátszintáz gátlásához 5-dUMP-vé, az RNS-be épüléséhez pedig 5-FUTP-vé kell alakulnia. Nagyobb, de még terápiás dózisban a timidinkináz is gátolja. Az 5-dUMP kiszorítja a dUMP fiziológias szubsztrátot a timidilátszintázról, amelyet metilén-tetrahidrofolát jelenlétében tartósan gátol.

A fluorouracil önmagában csekély hatású, a betegek 90%-ában nem mérhető objektív válasz. Jobb a kezelés hatása, ha infúzióban alkalmazzuk (41), illetve ha leukovorinnal adjuk együtt. A leukovorin folsavanalóg, a folsav aktív formája. A leukovorin olyan metabolikus folyamatokban vesz részt, mint a purin- és pirimidinszintézis és az aminosav-anyagcsere. Nincs szükség dihidrofolát-reduktáz enzimre ahhoz, hogy aktív metabolit keletkezzen. A leukovorin hatására megnő az 5-fluorouracil hatékonysága, malignus tumorsejtekben ugyanis gyakran csökkent a metilén-tetrahidrofolát-szint, így az 5-dUMP nem képez komplexet a timidilátszintázal. A leukovorin a timidilátszintáz enzimmel történő interakciója révén stabil komplexet képez, amely az enzim 5-fluorouracil okozta gátlását meghosszabbítja. Az összetett kezelés kétszer hatékonyabb (válaszadási arány: 23% versus 12%), és az egyéves túlélés növekedését is leírták (48 versus 43%). Ez a

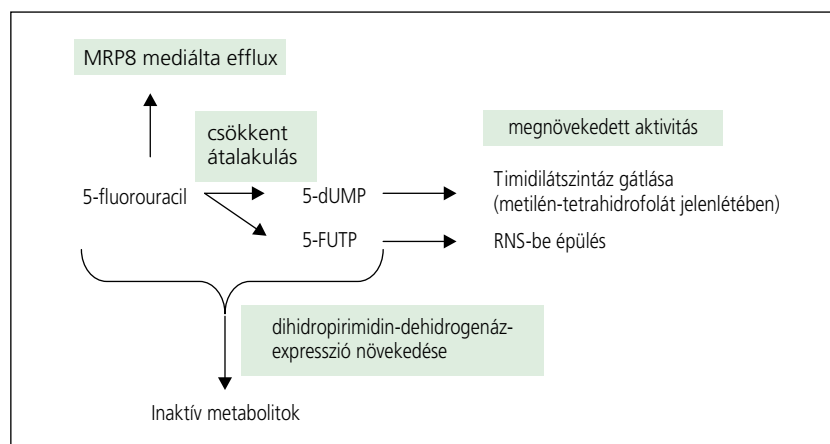
leukovorin-5-fluorouracil együttes adásának elvi alapja. Leukovorin nagy dózisú methotrexat-kezelés után, csökkent methotrexat-elimináció, methotrexat- vagy folsav-antagonista szer intoxikációja esetén is használható (44).

További farmakológiai modulátor, az 5-etil-2'-dezoxiuridin (EUDR) dózisfüggő módon befolyásolja az 5-fluorouracil citotoxicitását CRC sejtvonalakban. Az EUDR két komplementer mechanizmussal is növeli az 5-fluorouracil hatékonyságát: szelektíven modulálja a timidilátszintáz-gátlást és fokozza a p53 fehérje expresszióját, ezáltal növelve az apoptózisráát (30-32).

A kronomoduláció az 5-fluorouracil-kezelés esetén is alkalmazható módszer, amelyben az adott szert 24 órás perióduson belül meghatározott időpontokban alkalmazzák. A módszer kihasználja azt, hogy a szer felszívódása, szállítása, metabolizmusa, vagy eliminációja diurnálisan változik, amelyet rágszálókban és emberekben egyaránt kimutattak. Ezek a variációk befolyásolhatják a szer farmakológiai tulajdonságait. Az 5-fluorouracil-alapú kronomoduláció alapja, hogy a timidilátszintáz aktivitása diurnálisan ingadozik normális szövetekben, amely összefüggésben van a szer toxicitási profiljával. Diurnális aktivitásváltozás a dihidropirimidin-dehidrogenáz esetén is fennállhat. A kronoterápia alkalmazásával a válaszadási arány növekedhet, miközben a toxicitás csökken (37).

Az 5-fluorouracillal szembeni rezisztenciának eddig számos tényezőjét azonosították (1. ábra). Több mint 60 humán sejtvonal vizsgálata során jelentős inverz korrelációt igazoltak a dihidropirimidin-dehidrogenáz (DPD) mRNS expressziója és az 5-fluorouracilra adott válasz között. A csökkent DPD-expresszióval és -aktivitással jellemezhető humán xenograftok szignifikánsan jobb terápiás választ adtak az 5-fluorouracil-kezelésre, mint a nagy DPD-expresszióval és -aktivitással jellemezhetőek. A DPD-expresszió növekedése egyes sejtvonalakban rezisztenciát okozott 5-fluorouracillal szemben. A DPD-expresszió és -aktivitás megváltozása tehát az 5-fluorouracillal szemben létrejött in vitro rezisztencia egyik legfontosabb lépése (58). A teljes vagy közel teljes enzimhiányok (melyek gyakorisága 1:10000) halálos toxikus ártalmakhoz vezetnek a fluorouracillal végzett kezelés során. Kimutatták, hogy ezek a

1. ábra.
Az 5-fluorouracillal szemben kialakuló rezisztencia lehetséges mechanizmusai



betegek mutáns allélekkel rendelkeznek. Eddig 17 mutáns allélt azonosítottak, amelyek hordozóinál fokozott a kockázata az 5-fluorouracil-kezelés hatására az életet veszélyeztető myelosuppressio létrejöttének, még heterozigóta formában is (57). A mutációk kimutatásával előre lehet becsülni a szer toxicitását (33).

Az 5-fluorouracillal szemben kialakuló rezisztenciának számos további oka is lehet. A kemoterápiás szerekkel szembeni rezisztencia „klasszikus” oka, az ABC transzporter mediálta efflux (5-fluorouracil esetén az MRP8 fehérje segítségével megvalósuló) mechanizmus is jelentős in vitro (27).

Sejtvonalakon igazolták azt is, hogy számos, az 5-fluorouracil metabolizmusában szereplő gén expressziója rezisztenciában csökken. A timidinkináz, az oroát-foszforibozil-transzferáz, a pirimidinnukleozid-foszforiláz, az uridinmonofoszfát-kináz közvetlenül vagy közvetve részt vesznek az 5-fluorouracil citotoxikus metabolitá történő alakításában.

A timidinkináz az FUdR-t fluorodezoxiuridinmonofoszfáttá alakítja, amely az 5-fluorouracil citotoxikus metabolitja. A fluorodezoxiuridinmonofoszfát gátolja a timidilátszintáz, de fluorodezoxiuridin-trifoszfáttá is alakulhat, amely a DNS-t károsítja. Colontumor-sejtvonalakban a timidinkináz expressziója csökkent, ezáltal kevesebb citotoxikus metabolit keletkezik, ami rezisztenciát eredményez (60).

A dUMP-t dTMP-vé alakító kulcsenzim, a timidilátszintáz jelentős szerepet tölt be a DNS-szintézisben és -repairben. A timidilátszintáz expressziójának növekedését szintén megfigyelték colorectalis daganatokból származó sejtvonalakon. A timidilátszintáz expressziójának növekedésekor azonos szöveti gyógyszer-koncentráció kisebb farmakológiai hatású, ezáltal rezisztencia jön létre 5-fluorouracillal szemben (60).

Az NFκB egy transzkripció faktor, amely több hatása mellett antagonizálja a specifikus ci-

tokinek és a daganatellenes szerek által indukált apoptózist. Az NFκB p65 mRNS-szint másfélszeres volt a rezisztens sejtvonalakban a szenzitív sejtekhez képest, ezáltal a rezisztens sejtvonalakban hatékony apoptózisgátlás jött létre. A különbség az összes sejtvonalban megfigyelhető. Az NFκB p50 expressziójának növekedését csak a colorectalis tumorsejtvonalak vizsgálatakor találták. Az MCF-7 emlőtumor-sejtvonal NFκB p65 és NFκB p50 transzfekciója által a sejtvonal rezisztensebb lett, így joggal tételezhető fel, hogy az NFκB-expresszió változása antiapoptotikus hatása révén rezisztenciát okoz (60).

A C-FLIP egy további antiapoptotikus protein, amelynek két, egy 28 kilodaltonos rövid és egy 55 kilodaltonos hosszú izoformája létezik. A hosszú izoforma expressziójának növekedését szintén megfigyelték, a rezisztenciát az NFκB-hez hasonló módon hozhatja létre.

Az 5-fluorouracil-rezisztens sejtekben megfigyelték a sejtciklus szabályozásában szereplő egyes gének expressziójának csökkenését is. A ciklin A, ciklin D3, Cdc2 fehérjék expressziója csökkent a rezisztens sejtekben (60). Ezek a gének a G1 és S fázisban játszanak fontos szerepet. A dereguláció eredményeképpen a sejtek nem, vagy lassabban kerülnek az S fázisba, az S fázis is hosszabb lesz, ami a sejtek lassabb növekedéséhez vezet.

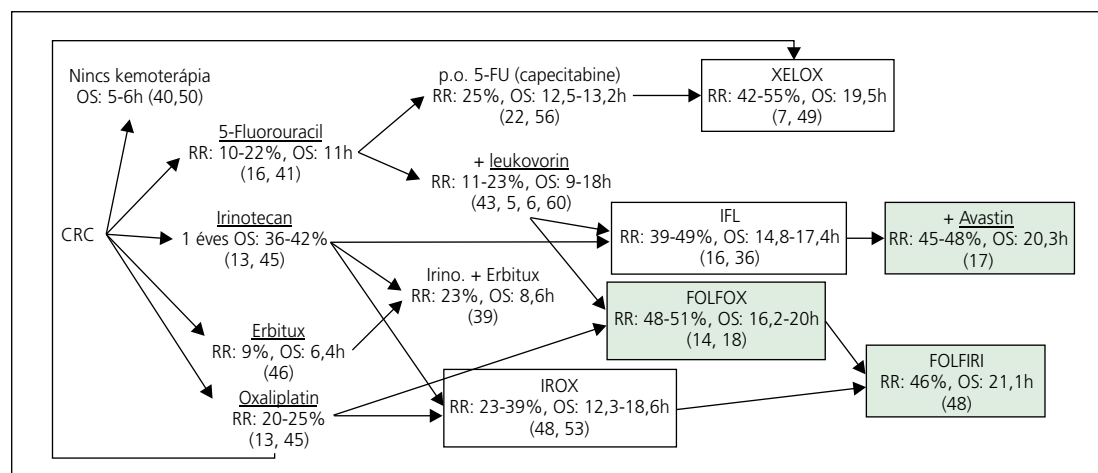
Oxaliplatin

Az oxaliplatin (transz-l-1,2-diaminociklohexán-oxalato platinum II) harmadik generációs platinakomplex, amely metasztatikus colorectalis rákban, ováriumdaganatokban használható. Az oxaliplatin hatását reaktív platinakomplexek, DNS-keresztkötések (főleg 1,2-GG szálon belüli keresztkötések) és DNS-törések képzése révén fejti ki, ezáltal gátolja a transzkripciót és a translációt. Lényegesen kevesebb adduktot képez, mint a cisplatin, hatását az apoptotikus utak haté-

2. ábra. Monoterápiás és egymásra épülő kombinációs kezelések és hatásaik a CRC kezelésében.

Az ábrán jobbra elhelyezkedő származtatott kombinációk minden korábbi forráselemet tartalmazznak.

Például az IROX = Irinotecan + Oxaliplatin. RR: reagálók aránya százalékban, OS: teljes túlélés hónapban vagy százalékban. A 33% feletti RR-rel rendelkező kombinációkat kereteltük, a 20 hónapos OS-t elérő kombinációkat pedig sötétítettük.



konyabb aktiválásával magyarázzák. A dózist leginkább a neurotoxikus hatása befolyásolja. A reverzibilis szenzoros neuropathia disztális érzésvésztes formájában jelentkezik. Súlyosabb az akut neuroszenzoros komplex kialakulása, amely a kézen, a lábon és a száj körül hirtelen jelentkező paraesthesiát és disaesthesiát, és szokatlan pharyngo-laryngo-disaesthesiát jelent.

II. fázisban lévő vizsgálatok eredményei alapján az oxaliplatin-monoterápiára a betegek mindössze 20-25%-a reagál, így önmagában első vonalbeli kezelésként nem jön szóba (3). Fluoropirimidinekkel való szinergizmusa miatt azonban a leghatékonyabb kombinációs kezelési módok része. A 2. ábra összefoglalja az egyes kemoterápiás szerekre, illetve a kombinációs protokollokra adott terápiás választ, illetve a várható túlélést.

Az oxaliplatinnal szemben kialakuló rezisztencia hátterében több mechanizmust is leírtak (1. táblázat) (8). A cisplatin-rezisztencia multifaktoriális folyamatában rész vesz a csökkent akkumuláció, megnövekedett detoxifikáció glutation vagy metallothionein által, és a megnövekedett DNS-repair. Preklinikai és klinikai vizsgálatok kapcsolatot mutattak ki a cisplatin szembeni rezisztencia és egyes nukleotidok kivágásos javításában szereplő gének expresszióváltozása között (ERCC-1 és XPA). Jelentős lehet a megnövekedett replikatív bypass is, amely a replikációs komplex megnövekedett áthidaló képessége, amellyel a sérülést kikerüli a DNS-szintézis során. Más tanulmányok szerint a DNS-polimeráz, a mismatch repair rendszer, és a károsodást felismerő proteinek is befolyásolják a replikatív bypassot, ezáltal hatást gyakorolnak a platinavegyületek iránti rezisztenciára is.

A mismatch repair elvesztése a cisplatin esetében rezisztenciát hoz létre, oxaliplatin esetében azonban ez nem figyelhető meg. A funkcionális mismatch repair komplex felismeri a cisplatin-DNS adduktokat, de az oxaliplatin-DNS adduktokat nem. Molekuláris modellezés segítségével bebizonyították, hogy határozott szerkezeti különbségek vannak a cisplatin és az oxaliplatin adduktok között, amelyek ezt a különbséget megmagyarázhatják.

Oxaliplatin-rezisztens sejtvonalakon igazolták a glutation szerepét a rezisztencia kialakulásában. E sejtvonalakban növekedett a γ -glutamil-transzpeptidáz mRNS szintje, amely a glutation salvage utat aktiválja (21).

A CTR1 és az ATP7B réztranszporterek, amelyek platinavegyületeket is képesek szállítani, befolyásolják a sejten belüli eloszlást és a szer hatékonyságát. A CTR1 influx mechanizmussal, az ATP7B efflux mechanizmussal módosítja a platinavegyületek koncentrációját. Az ATP7A a citoplazma és a transz-Golgi hálózat közötti réztranszportért felelős, ahol réztartalmú enzimek részére rezet transzportál a Golgiba. Normális körülmények között, ha az extracelluláris rézkoncentráció csökken, az ATP7A és az ATP7B a transz-Golgiban helyezkedik el. Megnövekedett rézszint esetén az ATP7A a plazmamembránba, míg az ATP7B intracelluláris vezikuláris kompartmentekbe helyeződik át. Először prostatacarcinoma sejteken mutatták ki azt, hogy a réztranszporterek szerepet játszanak a platinavegyületek transzportjában. Ebben az esetben a megnövekedett ATP7B-expresszió cisplatin-rezisztenciával társult. Később ováriumcarcinoma sejtvonalakon igazolták az ATP7A és ATP7B szerepét a rezisztencia kialakulásában is. Az ATP7B megnövekedett expresszióját számos cisplatin-rezisztens tumor esetén is leírták.

Bár a rezisztencia továbbra is rontja a kezelés hatását, az oxaliplatinnal jelentős javulás érhető el. Az oxaliplatint 5-fluoruracillal és leukovorinnal kombináló FOLFOX az első olyan kombináció, amellyel áttétes CRC esetén 20 hónapot elérő átlagos túlélést írtak le (14).

Irinotecan

Az irinotecan (CPT-11) a Camptotheca acuminata nevű növényből kivont alkaloida felszintetikus vízdoldékony származéka, amely topoizomeráz I-gátló tulajdonságú. Colorectalis-, ovárium-, tüdő-, pancreasdaganatok, lymphomák, malignus gliomák kezelésében használatos. 5-fluorouracillal, leukovorinnal együtt alkalmazható. Jó eredmények érhetők el irinotecan és orális fluoropirimidinek kombinációjával is (34). 189 beteg részvételével végzett vizsgálat igazolta az irinotecan hatékonyságát az 5-fluorouracilra nem javuló betegekben: az egy éves túlélés az irinotecannal kezelt csoportban 36%, míg a csak szupportív kezelésben részesült kontroll csoportban 14% volt (13). Egy másik vizsgálatban az irinotecan/5-fluorouracil/leukovorin kombinációt hasonlították össze az 5-fluorouracil/leukovorin együttes adásával. A hármas kombináció esetén a betegek 49%-a reagált a kezelésre, a fluorouracil/leukovorin együttes adásakor ez az érték 31% volt. Az átlagos túlélés az első esetben 17,4 hónap, az utóbbi esetben pedig 14,1 hónap volt. Szekvenciális FOLFIRI kombináció (2. ábra), FOLFOX előtt vagy után alkalmazva jelentősen növeli az elérhető átlagos túlélést. 5-fluorouracil, oxaliplatin és irinotecan szekvenciális kombinációjával sikerült IV. stádiumú CRC esetén az eddigi leghosszabb túlélést elérni (26 hónap) (36).

1. táblázat.
Az oxaliplatinnal és irinotecannal szemben kialakuló rezisztencia főbb okainak összefoglalása

Oxaliplatinnal szemben kialakuló rezisztencia főbb okai

Csökkent akkumuláció a CTR1 és az ATP7B transzporterek által
Megnövekedett detoxifikáció glutation v. metallothionein által
Megnövekedett DNS-repair

Irinotecannal szemben kialakuló rezisztencia főbb okai

Csökkent átalakulás
Megnövekedett inaktiváció glükuronidáció által
Megnövekedett efflux ABC transzporterek által
Topoizomeráz I-mutációk, csökkent expresszió
Aktívabb DNS-repair
 γ -glutamilcisztein-szintáz és MRP-koindukció

Az irinotecan aktív metabolitja az SN-38 (3-etil-10-hidroxycamptothecin), amivé karboxilészteráz segítségével alakul át. Az irinotecan vagy az SN-38 a topoizomeráz I-DNS komplexhez kötődik. A DNS akkor károsodik, ha a replikációs villa találkozik az irinotecan/SN-38-topoizomeráz I-DNS-komplexszel. Ekkor megakadályozza a DNS egyik szálát érintő törés religációját, a DNS mindkét szálában törés keletkezik. Ebből vezethető le az irinotecan S-fázis-specifitása (11).

Aktív laktan formában és inaktív hidroxisavanion formában ismert, ebből következően a pH meghatározza a hatékonyságát. Ez a kezelés során ki is használható: savas pH-ra beállított irinotecan tartalmazó oldatban az aktív forma felé tolódik az egyensúly. A plazmafehérjék kötik az irinotecant (30-68%-ban) és az SN-38-at is (95%-ban). A karboxilészteráz felelős az irinotecan SN-38-cá történő átalakulásáért. A hepatikus CYP 3A4 aminopentán-karboxilsavvá alakítja, ezáltal inaktíválja. A CYP 3A4 indukció szerepét valószínűsítik a rezisztencia kialakulásában. Az SN-38 konjugáció útján is inaktíválódhat. Elsősorban az epébe választódik, kis mértékben a vesén át ürül. Az SN-38 enterohepatikus recirkuláción megy keresztül. Az irinotecan-rezisztenciában feltételezések szerint a csökkent irinotecan-SN-38 átalakulás, a topoizomeráz pontmutációi, és a csökkent topoizomeráz I-aktivitás játszhatnak szerepet (63). Az irinotecannal szembeni rezisztenciának az egyik oka a csökkent átalakulás lehet. Az irinotecan ugyanis prodrug, a karboxilészteráz alakítja át SN-38-cá, ami az irinotecannál 100-1000x hatékonyabban gátolja a topoizomeráz I-et. Az SN-38 molekula inaktíválásának egyik módja a glükuronidáció. Ez magyarázza azt, hogy növekedett UGT-aktivitást és -expressziót mutattak ki humán rezisztens tüdődaganatokban (54).

A topotecan-rezisztencia kialakulásában a csökkent akkumuláció szerepét több tanulmány is leírja (38, 64). A csökkent topotecan-akkumulációt lézer konfokális mikroszkóp segítségével demonstrálták MCF-7 mellrák- és S1-M1-80, S1-B1-20 colonrák-sejtvonalakon. A szenzitív sejtvonalakat leginkább, de nem kizárólag citoplazmatikus lokalizáció jellemezte. Emellett perinukleáris elhelyezkedés is megfigyelhető volt az összes sejtvonalon, amely lizoszomális vagy Golgi-beli akkumulációt feltételez. A rezisztens sejtvonalak (S1-M1-80, MCF-7) keresztrezisztensek az összes camptothecin-származékkal szemben. Energiahiányos feltételek között a rezisztens sejtvonalakban nőtt az akkumuláció, leginkább a citoplazma és a mag területén, amely energiaigényes rezisztenciamechanizmusok jelenlétét feltételezi. A rezisztens S1-M-80 sejtekben az UDP-glükuroniltranszferáz (UGT) aktivitása nem növekedett, de a szenzitív sejtekben intrinsíc módon magas a szintje, így a rezisztencia létrejöttében részt vehet. A MCF-7 AdVp3000 sejtekben az UGT aktivitása és expressziója megnövekedett, amely a rezisztencia szempontjából lényeges (4).

Az ABC22 kanalikuláris elhelyezkedésű multispecifikus organikus aniontranszporter, amely az irinotecant és metabolitjait is szállítja. Szerepe

az epébe és a vesén át történő kiválasztásban van (9). Az irinotecannal szembeni rezisztenciában egyéb ABC transzporterek is fontosak. Az ABCB1, ABCG2 és az ABCC1 transzporterek szerepét is leírták már a camptothecin-rezisztencia kialakításában (4). Az ABC22-overexpresszióknak a rezisztencia kialakulásának kezdeti lépéseiben lehet szerepe. A topoizomeráz I változásai vélhetően ezután következnek be. A PGP-felülexpressziót a camptothecin-származékok iránti rezisztencia kialakulásában csak a topotecan esetén igazolták, amely összhangban van azzal a ténnyel, hogy a camptothecinek közül csak a topotecan szubsztátja a PGP-nek (24).

A topoizomeráz mennyisége meghatározó lehet az irinotecannal szemben kialakuló rezisztenciában. Élesztősejteken és humán emlőráksejteken folyamatos irinotecan-kezeléskor csökkent a TOP I aktivitása. Megnövekedett mennyiségben találtak TOP I-et colon- és prostatadaganatokban, míg vesedaganatokban fordított a helyzet. Ha a TOP I-szint megnövekedett a colorectalis rákban az egészséges mucosához viszonyítva, az előnyös terápiás indexet sejtet (28). Feltételezhető, hogy a tumorsejtek az irinotecan citotoxikus hatását a TOP I-aktivitás csökkentésével kerülhetik el (29). Több mechanizmus segítheti a TOP I-szint regulációját. A megnövekedett TOP I-aktivitás eléréseben a megnövekedett transzkripciónak vagy a megnövekedett RNS-stabilitásnak van szerepe. A csökkent expresszió hátterében a TOP I gén nemproduktív átrendeződése is állhat, amely csökkent transzkripcióhoz, translációhoz, enzimmennyiséghez vezet. Bizonyos camptothecin-rezisztens sejtvonalak TOP I-mutációkkal rendelkeznek, amelyek megváltoztathatják a topoizomeráz-DNS-, és a topoizomeráz-DNS-irinotecan interakciót olyan módon, hogy a camptothecin nem kapcsolódik a komplexhez. Azok a mutációk, amelyek a katalitikus tirozin közelében elhelyezkedő aminosavakat érintik, az enzim katalitikus aktivitását befolyásolják, megváltozik a DNS-relaxáció (29).

Az irinotecannal szembeni rezisztencia további mechanizmusa a megnövekedett DNS-repair. A modell szerint az RNS-polimeráz és a topoizomeráz I ütközésének eredménye a transzkripció megszakadása. Az ütközés a topoizomeráz I proteozómában történő degradációjának vezérlőjele. A topoizomeráz I-destrukció után az egy láncot érintő töréseket a repair rendszer kijavítja (29). A topoizomeráz I csökkent expresszióját, mutációit más tanulmányok is leírták, mint a rezisztencia kialakulásában fontos tényezőket (51).

Járulékos mechanizmusok is szerepet játszanak az irinotecannal szemben kialakuló rezisztenciában. Fontos változások történtek a glutation metabolizmusában szereplő enzimeken. A γ -glutamilsztein-szintáz (GCS) felülregulálódott a rezisztens sejtvonalakban. További érdekesség az is, hogy ez az MRP upregulációjával együttesen történhet, ami hatékonyabb méregtelenítést eredményez. A koindukció hátterében a citotoxikus stressz állhat. A GCS-upreguláció az alacsony glutationszintre adott adaptív válaszként is felfogható (1).

Biológiai kezelés

A biológiai útvonalak megismerésével lehetővé vált a túlélés és proliferáció szelektív modulálása. Biológiai kezelésnek azoknak a kiegészítő vegyületeknek az alkalmazását tartjuk, amelyek a szervezet szignáltranszdukciós útvonalaira hatva olyan változásokat okoznak, amelyek az elsődleges gyógyszer hatékonyságát növelik. Az eddigi legsikeresebb példája a mellrák kezelésében alkalmazott trastuzumab.

A cetuximab (Erbix) humán-egér monoklonális IgG antitest. Egér eredetű az antitest Fv variábilis része, humán eredetű a nehéz- és a kappa lánc. Az antitest az EGF-receptor külső doménjéhez kötődik, receptordimerizációt és -downregulációt indít el, így kompetitív módon gátolja az EGF kötődését. Emiatt a receptor-asszociált kinázok inaktívak maradhatnak, amely a sejtnövekedés gátlását, apoptózist, csökkent mátrix-metalloproteáz és VEGF-termelést okozhat. E tumorelles hatást azonban kísérletesen eddig nem sikerült igazolni. Az antitest kötődik a TGF α -receptorhoz is. Irinotecannal, irinotecannal és 5-fluorouracillal, radioterápiával kombinálva vagy monoterápiaként alkalmazzák metasztatikus colon- és rectumcarcinomák kezelésére (12). A kezelt betegek 5%-ában nem neutralizáló cetuximabellenes antitestet sikerült kimutatni, de a vizsgálati módszerek érzékenysége nem megfelelő. A CRC-k 80%-a EGFR-pozitív, ezekben az esetekben a cetuximabbal kiegészített kezelés eredményesebb lehet (10). A cetuximab jelenleg a legjobb másod- és harmadvonali kezelés, különösen azokban az esetekben, ahol az irinotecan eredménytelen volt (34). A jól reagáló és a rezisztens betegek azonosítása és elkülönítése azonban továbbra is megoldatlan. Pancrreasrák-sejtvonalon (BxPC-3) a cetuximabbal szembeni rezisztencia kialakulhat az EGF-receptor csökkent internalizálódása révén. Valószínűleg ez az ErbB3 protein expressziójának növekedése révén jön létre, ami az EGF-receptor homodimerizációját okozza. Ez az EGF-receptor mediálta szignáltranszdukciós utat aktiválja, perzisztens MAPK-aktivációt eredményez, amely a cetuximabbal szembeni rezisztenciához vezet (2).

A cetuximab-kezelés indikációja a nemzetközi irodalomban a mai napig vita tárgya. A cetuximab hatásos lehet egyes EGFR-negatív colon- és rectumdaganatokban is, ami felveti egy, az EGF-receptortól független hatásmechanizmus létezését (VEGF szerepe) (59). Szintén nincs egységes álláspont arra vonatkozóan, hogy milyen mértékű EGFR-pozitivitás indikálja a cetuximab-kezelést, ugyanis az immunhisztokémiai EGFR-expresszió meghatározása rossz predikciós marker a kezelésre adott válasz tekintetében (65).

A tumor növekedéséhez tápanyagellátásra van szükség, amit egy bizonyos méreten túl a környező erek nem biztosítanak. A daganatok általában képesek mégis a növekedést biztosítani, hogy olyan faktorokat termeljenek (pl. VEGF), amelyek az érképződést elősegítik, ezáltal erek nőnek a tumorba. E faktorok biológiai terápia számára kínálnak támadáspontot.

A bevacizumab (Avastin) a VEGF-hez kötődik, a VEGF csökkent biológiai aktivitását okozva. A bevacizumab rekombináns monoklonális IgG1 antitest, a komplementaritást meghatározó régió egérből származik, a konstans régió humán eredetű. Az antitestet kínai hörcsög ovariális sejtekben termeltetik. 5-fluorouracillal, leukovorinnal, irinotecannal kombinálva használják metasztatikus colon- és rectalis daganatok kezelésére (52). Több mint 800 beteg vizsgálatánál az IFL-t kiegészítő bevacizumab-kezelés 15,6 hónapról 20,3 hónapra növelte az átlagos túlélést (26). Nem találtak a kezeltékben magas titerben anti-Avastin ellenanyag-koncentrációt. Az angiogenezis elleni szerekekkel szemben valószínűleg nehezebben alakul ki rezisztencia, így a bevacizumabbal szemben is, de ezzel kapcsolatban nincs adat. A bevacizumab-kezelést jelenleg leginkább befolyásoló tényező az artériás thromboemboliás szövődmény, amelynek valószínűsége a kezelés során két-háromszorosára nő, és csökken a sebgyógyulás is (47), amely miatt a műtét és a bevacizumab-kezelés között legalább 1 hónap szünet javasolt. A kezelés hatékonyságát a szérumban VEGF-szintje nem jelzi előre, és jelenleg nincs olyan marker, amely alapján megbízhatóan lehet a kezelést indikálni (62).

Több további monoklonális antitest is jelenleg kísérletes fázisban van, így a VEGF-receptor tirozinkináz-inhibitor vatalanib (39), és az EGFR extracelluláris doménjéhez kötődő teljesen humán eredetű IgG2 antitest panitumumab.

Jövőbeli kilátások

Az áttétes CRC kezelésében az immunterápiának lehet még jelentős szerepe a közeljövőben: számos vakcinát fejlesztenek jelenleg a CRC patogenezisében bizonyított szerepű Ras, a p53, a CEA és a CD44 ellen. Eddig azonban csak a megváltozott MUC1-expressziójú tumorsejtek ellen sikerült szignifikánsan fokozott immunválaszt kiváltani (55).

A hatékonyság további javításában a DNS-chipek segítségével individualizált kezelés nyújthat további segítséget. DNS-chipek segítségével a rezisztencia létrejöttében szerepet játszó individuális gének vizsgálata helyett egy komplex génlista egyidejű változását mérjük. A módszerrel a hagyományos egyedi markerek hatékonyságának többszörösét lehet elérni. Munkacsoportunkban elsősorban sejtvonalakon végzett kísérletek során 11 rákellenes gyógyszerrel (köztük az 5-fluorouracillal és a cisplatinnal) szembeni rezisztencia előrejelzésére határoztuk meg a releváns génexpressziós mintázatokat (20). E gyógyszerek közül az emlőrák kezelésében alkalmazott doxorubicinnal szembeni rezisztencia-mintázat hatékonyságát klinikai mintákon is teszteltük: 44, doxorubicin-monoterápiával kezelt beteget klasszifikáltunk a génexpressziós profiljuk alapján. A doxorubicin-szenzitív sejtvonalakhoz hasonlóan klasszifikált betegek több mint 50%-kal tovább éltek, mint a rezisztens csoport (19). A közeljövőben a CRC kezelésében is hasonló vizsgálatok el-

végzését tervezzük. Az ilyen vizsgálatok nemcsak további információt nyújthatnak a rezisztenciában szerepet játszó mechanizmusról, de a jövőbeli személyre szabott kemoterápiás kezelés alapját is lefektetik.

Irodalom

- Annereau JP, Szakacs G, Tucker CJ, et al. Analysis of ATP-binding cassette transporter expression in drug-selected cell lines by a microarray dedicated to multi-drug resistance. *Mol Pharmacol* 66:1397-1405, 2004
- Arnoletti P, Buchsbaum DJ, Huang Z, et al. Mechanisms of resistance to Erbitux (anti-epidermal growth factor receptor) combination therapy in pancreatic adenocarcinoma cells. *J Gastrointest Surg* 8:960-969, 2004
- Becouarn Y, Ychou M, Ducreux M, et al. Phase II trial of oxaliplatin as first-line chemotherapy in metastatic colorectal cancer patients. Digestive Group of French Federation of Cancer Centers. *J Clin Oncol* 16:2739-2744, 1998
- Brangi M, Litman T, Ciotti M, et al. Camptothecin resistance: role of the ATP-binding cassette (ABC), mitoxantrone-resistance half-transporter (MXR), and potential for glucuronidation in MXR-expressing cells. *Cancer Res* 59:5938-5946, 1999
- Buroker TR, O'Connell MJ, Wieand HS, et al. Randomized comparison of two schedules of fluorouracil and leucovorin in the treatment of advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 12:14-20, 1994
- Buyse M, Thirion P, Carlson RW, et al. Relation between tumour response to first-line chemotherapy and survival in advanced colorectal cancer: a meta-analysis. Meta-Analysis Group in Cancer. *Lancet* 356:373-378, 2000
- Cassidy J, Tabernero J, Twelves C, et al. XELOX (capecitabine plus oxaliplatin): active first-line therapy for patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 22:2084-2091, 2004
- Chau I, Cunningham D. Chemotherapy in colorectal cancer: new options and new challenges. *Br Med Bull* 64:159-180, 2002
- Chu XY, Kato Y, Niinuma K, et al. Multispecific organic anion transporter is responsible for the biliary excretion of the camptothecin derivative irinotecan and its metabolites in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 281:304-314, 1997
- Chung KY, Shia J, Kemeny NE, et al. Cetuximab shows activity in colorectal cancer patients with tumors that do not express the epidermal growth factor receptor by immunohistochemistry. *J Clin Oncol* 23:1803-1810, 2005
- Clinical Practice Committee. Cancer Chemotherapy Guidelines and Recommendations for Practice. Oncology Nursing Society, Pittsburgh, PA, 1999, pp. 32-41
- Cunningham D, Humblet Y, Siena S, et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 351:337-345, 2004
- Cunningham D, Pyrhonen S, James RD, et al. Randomised trial of irinotecan plus supportive care versus supportive care alone after fluorouracil failure for patients with metastatic colorectal cancer. *Lancet* 352:1413-1418, 1998
- de Gramont A, Figuer A, Seymour M, et al. Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 18:2938-2947, 2000
- Douillard JY, Cunningham D, Roth AD, et al. Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicentre randomised trial. *Lancet* 355:1041-1047, 2000
- Efficacy of intravenous continuous infusion of fluorouracil compared with bolus administration in advanced colorectal cancer. Meta-analysis Group In Cancer. *J Clin Oncol* 16:301-308, 1998
- Giantonio BJ, Levy D, O'Dwyer PJ, et al. Bevacizumab (anti-VEGF) plus IFL (irinotecan, fluorouracil, leucovorin) as front-line therapy for advanced colorectal cancer: results from the Eastern Cooperative Oncology Group (abstract). *Proc Am Soc Clin Oncol* 22:255a, 2003
- Grothey A, Deschler B, Kroening H, et al. Phase III study of bolus 5-fluorouracil (5-FU)/folinic acid (FA) (Mayo) vs weekly high-dose 24h 5-FU infusion/FA + oxaliplatin in advanced colorectal cancer (abstract). *Proc Am Soc Clin Oncol* 21:129a, 2002
- Gyorffy B, Serra V, Jurchott K, et al. Prediction of doxorubicin sensitivity in breast tumors based on gene expression profiles of drug-resistant cell lines correlates with patient survival. *Oncogene* 24:7542-7551, 2005
- Gyorffy B, Suroviak P, Kiesslich O, et al. Gene expression profiling of 30 cancer cell lines predicts resistance towards 11 anticancer drugs at clinically achieved concentrations. *Int J Cancer* 118:1699-1712, 2006
- Hector S, Bolanowska-Higdon W, Zdanowicz J, et al. In vitro studies on the mechanisms of oxaliplatin resistance. *Cancer Chemother Pharmacol* 48:398-406, 2001
- Hoff PM, Ansari R, Batist G, et al. Comparison of oral capecitabine versus intravenous fluorouracil plus leucovorin as first-line treatment in 605 patients with metastatic colorectal cancer: results of a randomized phase III study. *J Clin Oncol* 19:2282-2292, 2001
- Hóhn J, Varga L, Baradnay G, et al. A lokális recidívákai végbélrák radikális műtétei után. *Magyar Onkológia* 47:355-359, 2003
- Hoki Y, Fujimori A, Pommier Y. Differential cytotoxicity of clinically important camptothecin derivatives in P-glycoprotein-overexpressing cell lines. *Cancer Chemother Pharmacol* 40:433-438, 1997
- Horvát-Karajz K. A colorectalis rák gyógyszeres kezelése. *Magy Belorv Arch* 59:7-11, 2006
- Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 350:2335-2342, 2004
- Hooijberg JH, de Vries NA, Kaspers GJ, et al. Multidrug resistance proteins and folate supplementation: therapeutic implications for antifolates and other classes of drugs in cancer treatment. *Cancer Chemother Pharmacol* 15:1-12, 2005
- Husain I, Mohler JL, Seigler HF, et al. Elevation of topoisomerase I messenger RNA, protein, and catalytic activity in human tumors: demonstration of tumor-type specificity and implications for cancer chemotherapy. *Cancer Res* 54:539-546, 1994
- Jacob S, Aguado M, Fallik D, et al. The role of the DNA mismatch repair system in the cytotoxicity of the topoisomerase inhibitors camptothecin and etoposide to human colorectal cancer cells. *Cancer Res* 61:6555-6562, 2001
- Jeney A, Barrie SE, Taylor GA, et al. 5-Ethyl-2'-deoxyuridine: an explanation for its lack of cytotoxic action in vivo. *Eur J Cancer Clin Oncol* 22:557-562, 1986
- Katona C, Timar F, Olah J, et al. Az 5-fluorouracil (5-FU) hatékonyságának fokozása. Az 5-FU és 5-etil-2'-deoxiuridin (EUDR) kombináció hatásában szerepet játszó molekuláris tényezők. *Magyar Onkológia* 48:243-251, 2004
- Katona C, Timar F, Jeney A, et al. Modulation of 5-fluorouracil by 5-ethyl-2'-deoxyuridine on cell lines expressing different dihydropyrimidine dehydrogenase activities. *Anticancer Drugs* 10:561-567, 1999
- Katona C, Kralovanszky J, Rosta A, et al. Putative role of dihydropyrimidine dehydrogenase in the toxic side effect of 5-fluorouracil in colorectal cancer patients. *Oncology* 55:468-474, 1998
- Kohne CH. Palliative therapy of colorectal cancer. *Onkologie* 26(Suppl 7):41-47, 2003
- Kohne CH, van Cutsem E, Wils J, et al. Phase III study of weekly high-dose infusional fluorouracil plus folinic acid with or without irinotecan in patients with metastatic colorectal cancer: European Organisation for Research and Treatment of Cancer Gastrointestinal Group Study 40986. *J Clin Oncol* 23:4856-4865, 2005
- Láng I, Hitre E. A colorectalis carcinoma irinotecan kezelésének legújabb eredményei. *Magyar Onkológia* 48:281-288, 2004

37. Lincoln DW 2nd, Hrushesky WJ, Wood PA. Circadian organization of thymidylate synthase activity in normal tissues: a possible basis for 5-fluorouracil chronotherapeutic advantage. *Int J Cancer* 88:479-485, 2000
38. Ma J, Maliepaard M, Nooter K, et al. Reduced cellular accumulation of topotecan: a novel mechanism of resistance in a human ovarian cancer cell line. *Br J Cancer* 77:1645-1652, 1998
39. Morgan B, Thomas AL, Dreves J, et al. Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging as a biomarker for the pharmacological response of PTK787/ZK 222584, an inhibitor of the vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinases, in patients with advanced colorectal cancer and liver metastases: results from two phase I studies. *J Clin Oncol* 21:3955-3964, 2003
40. Nordic Gastrointestinal Tumor Adjuvant Therapy Group. Expectancy or primary chemotherapy in patients with advanced asymptomatic colorectal cancer: a randomized trial. *J Clin Oncol* 10:904-911, 1992
41. O'Dwyer PJ, Manola J, Valone FH, et al. Fluorouracil modulation in colorectal cancer: lack of improvement with N-phosphonoacetyl-L-aspartic acid or oral leucovorin or interferon, but enhanced therapeutic index with weekly 24-hour infusion schedule - An Eastern Cooperative Oncology Group/Cancer and Leukemia Group B Study. *J Clin Oncol* 19:2413-2421, 2001
42. Ottó Sz, Kásler M. A hazai és nemzetközi daganatos halálozási és megbetegedési mutatók alakulása. *Magyar Onkológia* 49:99-107, 2005
43. Piedbois P, Michiels S. for the Meta-analysis Group in Cancer. Survival benefit of 5FU/LV over 5FU bolus in patients with advanced colorectal cancer: An updated meta-analysis based on 2751 patients (abstract). *Proc Am Soc Clin Oncol* 22:294a, 2003
44. Poon MA, O'Connell MJ, Moertel CG, et al. Biochemical modulation of fluorouracil: Evidence of significant improvement of survival and quality of life in patients with advanced colorectal carcinoma. *J Clin Oncol* 7:1407-1418, 1989
45. Rougier P, Van Cutsem E, Bajetta E, et al. Randomised trial of irinotecan versus fluorouracil by continuous infusion after fluorouracil failure in patients with metastatic colorectal cancer. *Lancet* 352:1407-1412, 1998
46. Saltz LB, Meropol NJ, Loehrer PJ Sr, et al. Phase II trial of cetuximab in patients with refractory colorectal cancer that expresses the epidermal growth factor receptor. *J Clin Oncol* 22:1201-1208, 2004
47. Scappaticci FA, Fehrenbacher L, Cartwright T, et al. Surgical wound healing complications in metastatic colorectal cancer patients treated with bevacizumab. *J Surg Oncol* 91:173-180, 2005
48. Schalhorn A, Ludwig F, Quietzsch D, et al. Phase III trial of irinotecan plus oxaliplatin (IROX) versus irinotecan plus 5-FU/folinic acid (FOLFIRI) as first-line treatment of metastatic colorectal cancer (CRC): The FIRE-Trial (abstract). *J Clin Oncol* 23:250, 2005
49. Scheithauer W, Kornek, GV Raderer M, et al. Randomized multicenter phase II trial of two different schedules of capecitabine plus oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 21:1307-1312, 2003
50. Simmonds PC. Palliative chemotherapy for advanced colorectal cancer: systematic review and meta-analysis. *Colorectal Cancer Collaborative Group. BMJ* 321:531-535, 2000
51. Slichenmyer WJ, Rowinsky EK, Donehower RC, et al. The current status of camptothecin analogues as anti-tumor agents. *J Natl Cancer Inst* 85:271-291, 1993
52. Sparano JA, Gray R, Giantonio B, et al. Evaluating antiangiogenesis agents in the clinic: the Eastern Cooperative Oncology Group Portfolio of Clinical Trials. *Clin Cancer Res* 10:1206-1211, 2004
53. Stathopoulos GP, Rigatos SK, Stathopoulos JG, et al. Efficacy and tolerability of oxaliplatin plus irinotecan 5-fluorouracil and leucovorin regimen in advanced stage colorectal cancer patients pretreated with irinotecan 5-fluorouracil and leucovorin. *Am J Clin Oncol* 28:565-569, 2005
54. Takahashi T, Fujiwara Y, Yamakido M, et al. The role of glucuronidation in 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin resistance in vitro. *Jpn J Cancer Res* 88:1211-1217, 1997
55. Tanimoto T, Tanaka S, Haruma K, et al. MUC1 expression in intramucosal colorectal neoplasms. Possible involvement in histogenesis and progression. *Oncology* 56:223-231, 1999
56. van Cutsem E, Twelves C, Cassidy J, et al. Oral capecitabine compared with intravenous fluorouracil plus leucovorin in patients with metastatic colorectal cancer: results of a large phase III study. *J Clin Oncol* 19:4093-4106, 2001
57. van Kuilenburg AB. Screening for dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency: to do or not to do, that's the question. *Cancer Invest* 24:215-217, 2006
58. van Kuilenburg AB. Dihydropyrimidine dehydrogenase and the efficacy and toxicity of 5-fluorouracil. *Eur J Cancer* 40:939-950, 2004
59. Vincenzi B, Santini D, Tonini G. New issues on cetuximab mechanism of action in epidermal growth factor receptor-negative colorectal cancer: the role of vascular endothelial growth factor. *J Clin Oncol* 24:1957-1958, 2006
60. Wang W, Cassidy J, O'Brien V, et al. Mechanistic and predictive profiling of 5-Fluorouracil resistance in human cancer cells. *Cancer Res* 64:8167-8176, 2004
61. Wang WS, Lin JK, Chiou TJ, et al. Randomized trial comparing weekly bolus 5-fluorouracil plus leucovorin versus monthly 5-day 5-fluorouracil plus leucovorin in metastatic colorectal cancer. *Hepatogastroenterology* 47:1599-1603, 2000
62. Whisenant J, Bergsland E. Anti-angiogenic strategies in gastrointestinal malignancies. *Curr Treat Options Oncol* 6:411-421, 2005
63. Xu Y, Villalona-Calero MA. Irinotecan: mechanisms of tumor resistance and novel strategies for modulating its activity. *Ann Oncol* 13:1841-1851, 2002
64. Yang CJ, Horton JK, Cowan KH, et al. Cross resistance to camptothecin analogues in mitoxantron-resistant human breast carcinoma cell line is not due to DNA topoisomerase I alterations. *Cancer Res* 55:4004-4009, 1995
65. Younes M. Is immunohistochemistry for epidermal growth factor receptor expression a poor predictor of response to epidermal growth factor receptor-targeted therapy? *J Clin Oncol* 23:923-924, 2005