

Ali imajo tarčna zdravila svoje mesto v radiokemoterapiji tumorjev prebavil?

Vaneja Velenik

Povzetek

V zadnjem desetletju smo pričali hitremu napredku v razumevanju tumorske biologije in imunologije rakov prebavil. Sočasno je prišlo do izboljšav v tehnikah obsevanja, zaradi katerih je lokalna kontrola bolezni boljša, saj je lahko doza na tumor večja, toksičnost na zdrava tkiva pa manjša. Skrb zbujač pa ostaja visok delež pojava oddaljenih zasevkov, kar nakazuje na potrebo po še agresivnejšem multimodalnem zdravljenju. Pričakovana dobrobit tarčnih zdravil pri nemetastatskih rakih prebavil je še vedno stvar kliničnih raziskav. Nujna je prepoznavna prave populacije bolnikov in vključitev v raziskave ne glede na histologijo ali lokalizacijo tumorjev, pač pa glede na specifične molekularne in genetske nenormalnosti, torej glede na njihov specifični genetski profil.

Uvod

Prebavila so pogosta lokalizacija raka. Med vsemi raki je namreč rak debelega črevesa in danke (RDČD) po pogostnosti obolenja v svetu na drugem mestu, rak želodca je na četrtem mestu in rak požiralnika na osmem mestu (1). Ostali raki prebavil so redkejši. Radiokemoterapija (CRT) je v kombinaciji z operacijo uveljavljena metoda zdravljenja rakov teh lokalizacij, kot samostojni način zdravljenja pa tudi raka analnega kanala in analnega roba. Z multimodalnim zdravljenjem smo sicer dosegli boljši lokalni nadzor bolezni kot s samo operacijo, delež bolnikov s kasnejšim pojavom oddaljenih zasevkov pa ostaja visok. Ta znaša pri raku danke 30 do 40 %, pri raku želodca in požiralnika pa je še veliko višji. Z namenom izboljšanja lokalne kontrole, zmanjšanja deleža pojava oddaljenih zasevkov in izboljšanja preživetja bolnikov se v kombiniranem zdravljenju preizkuša uporaba novih kemoterapevtskih shem in vključitev tarčnih zdravil.

Rak danke

Predoperativna CRT je standardno zdravljenje lokalno ali področno napredovalega raka danke. Njen namen je čim bolj zmanjšati tumor in omogočiti radikalno resekcijo, pri že resektabilnih tumorjih pa izboljšati lokalno kontrolo. S tovrstnim zdravljenjem je delež lokalnih ponovitev le približno 6 %, dobra lokalna kontrola pa lahko vpliva na manjšo pogostnost pojava oddaljenih zasevkov (2). V zadnjih desetih letih je bila objavljena le ena evropska raziskava, ki je dokazala tudi boljše preživetje brez bolezni, nobena pa ni poročala o boljšem celokupnem preživetju (3). Visok, 30 do 40 % delež pojava oddaljenih zasevkov je sedaj največja ovira pri uspešnosti zdravljenja raka danke (4).

Bolniki z boljšim odgovorom na predoperativno zdravljenje imajo manjše tveganje za ponovitev bolezni in boljše prognozo. Z namenom izboljšanja odgovora na zdravljenje so raziskovalci vključevali dodatni kemoterapevtik (oksalipatin,

irinotekan) v klasično CRT na osnovi 5-fluorouracila. Z dodatnim oksalipatinom enkrat na teden med klasično CRT je bil odgovor tako tumorja kot področnih bezgavk statistično značilno boljši, prav tako je bil nižji delež pojava mikrometastaz v perioperativnem obdobju. Toksičnost stopnje 3/4 je bila sicer bistveno večja, kirurških zapletov ali perioperativne smrtnosti pa ni bilo nič več kot brez oksalipatina (5). Zato koncept integracije oksalipatina v predoperativno CRT ostaja še vedno zanimiv, bodisi v prirejeni shemi ali kot indukcijsko (tj. pred CRT) ali konsolidacijsko zdravljenje (tj. pred operacijo).

Na osnovi dobre učinkovitosti tarčnih zdravil v zdravljenju metastatskega RDČD se je porodila ideja o njihovi vključitvi v predoperativno zdravljenje, z namenom boljšega odgovora tumorja na zdravljenje in s tem izboljšanja lokalne kontrole kot tudi morebitnega zmanjšanja pojava oddaljenih zasevkov. Novejša tarčna zdravila delujejo na signalne poti poprave DNA, celično apoptozo in angiogenezo, ki so različno izražene tako v tumorskih kot v normalnih tkivih. V kombinaciji z obsevanjem bi lahko povzročila smrt večjega števila tumorskih celic ob enaki ali celo manjši toksičnosti na normalne celice. Receptor za epidermalni rastni dejavnik (EGFR) je transmembranski glikoprotein. Ligand, ki se veže na zunajcelično domeno receptorja, sproži aktivacijo EGFR, homodimerizacijo, posledično fosforilacijo intracelularnih tirozin kinaz in sproženje intracelularnih kaskadnih signalnih poti, ki regulirajo znotrajcelične ter zunajcelične procese, kot so napredovanje celičnega cikla, apoptozo, preživetje celic, proliferacijo, angiogenezo in metastaziranje.

EGFR je prekomerno izražen pri 60 do 80 % tumorjev (6). Ti tumorji imajo agresivnejši fenotip, odgovor na konvencionalno zdravljenje je slabši in preživetje nižje. To so razlogi, da se je pred leti pričel pospešen razvoj zdravil, ki bi bila sposobna zavreti aktivacijo EGFR.

Predklinične raziskave so pokazale, da inhibicija EGFR signalne poti upočasni celično proliferacijo (7). Opazili so tudi aditivni učinek v kombinaciji z obsevanjem z višjim deležem ozdravljenih bolnikov (8). Nadalje, hipoksične celice naj bi izražale več EGFR in so bolj občutljive na EGFR inhibicijo (9). Pot EGFR lahko prekinjamo z monoklonskimi protitelesi, z malimi molekulami - tirozin kinaznimi inhibitorji (TKIs), »anti-sense« nukleotidi ipd. Predstavnika monoklonskih protiteles sta cetuximab in panitumumab. Cetuksimab je protitelo proti ekstracelularnemu delu EGFR, kar vodi v inhibicijo vezave liganda in zato prepreči dimerizacijo ter aktivacijo receptorja in s tem inhibira signalno pot v celico. Cetuksimab in panitumumab učinkovito zvišujeta odgovor na zdravljenje, ko ju dodamo standardni KT pri metastatskem CRC. Pogoj za učinkovitost je, da je tumor KRAS nemutiran. Pri bolnikih z nemutiranimi KRAS tumorji je bilo celokupno preživetje in preživetje brez progressa bolezni statistično značilno višje z

dodatkom cetuximaba k FOLFIRI (5-FU in irinotekan) kot s samim FOLFIRI (10).

Rezultati objavljenih raziskav zdravljenja raka danke s predoperativno CRT in cetuksimabom so bili razočarajoči. Kažejo na večinoma nizek delež popolnih patohistoloških odgovorov (11), slabše preživetje brez bolezni (12) in večje tveganje za lokoregionalno ponovitev bolezni kot s klasičnim zdravljenjem (tabela 1) (13).

Tabela 1. Nekateri objavljeni raziskave uporabe cetuximaba v predoperativni CRT raka danke

	Leto	Št. bolnikov	Kemoterapija	pCR (v %)
Chung	2006	20	FOLFOX	12
Machiels	2007	40	CAP	5
Rodel	2007	48	FOLFOX	8
Hofheinz	2006	50	CAPIRI	25
Eisterer	2009	28	CAP	0
Velenik	2010	37	CAP	8
Kim	2011	40	CAPIRI	23
Dewdney	2012	83	CAPOX	18

Vloga KRAS statusa v odgovoru na zdravljenje je pri raku danke manj jasna. V raziskavah KRAS statusa pred zdravljenjem niso določali, tako da so podatke o tem pridobili z retrospektivno analizo. Ugotovili so, da je delež bolnikov z rakom danke in KRAS mutacijo za razliko od raka debelega črevesa precej nižji, 12 do 30 % (14). V nekaterih raziskavah so imeli bolniki s KRAS nemutiranim tumorjem boljši patohistološki odgovor na zdravljenje kot z mutiranim, v drugih pa te razlike niso opazili. V mednarodni randomizirani raziskavi faze II EXPERT-C so pri 164 bolnikih primerjali neoadjuvantno KT CAPOX z ali brez cetuksimama, ki ji je sledila CRT s kapecitabinom z ali brez cetuksimama. Retrospektivna molekularna analiza 148 bolnikov v raziskavi je pokazala, da jih je 60 % imelo nemutiran KRAS gen. Bolniki, ki so v tej skupini prejeli tudi cetuksimab, so imeli preživetje brez bolezni statistično značilno višje kot bolniki z mutiranim KRAS genom (15).

Nekateri raziskovalci menijo, da je ključ za uspešnost zdravljenja s cetuksimabom v pravilnem redosledu biološkega zdravila, citostatika in obsevanja, sicer je lahko slabši izid posledica antagonističnega učinka med modalitetami. Rezultati predkliničnih raziskav kažejo, da je zdravljenje učinkovitejše, če je predhodnik cetuksimaboma oksaliplatin in ne obratno (16).

Panitumumab je humanizirano IgG2 protitelo proti EGFR. Njegov učinek ni povezan s stopnjo izraženosti EGFR (17). V dveh raziskavah faze II zdravljenja raka danke so predoperativni CRT s 5-FU z/brez oksaliplatinom dodali panitumumab. V raziskavi STAR-02 (18) je bil delež pCR 20 %, v SAKK 41/07 pa 10 % (19). V slednji je bil delež pCR (stopnja regresa po Dvoraku 3) skoraj 43 %. Rezultati nakazujejo, da je panitumumab učinkovitejši kot cetuksimab ob enaki CRT. Czito in sodelavci so objavili rezultate raziskave faze I, v kateri so predoperativni CRT s kapecitabinom dodali tirozinkinazni inhibitor gefitinib. Opažali so visoko stopnjo toksičnosti in zaključili, da kombinacija ni primerna za preizkušanje v fazi

II (20). Podobno visoko toksičnost so ugotavljali v majhni italijanski raziskavi, v kateri so namesto kapecitabina uporabili podaljšano infuzijo 5-FU. Pri kar 61 % so morali zmanjšati dozo zdravljenja. Delež pCR pa je bil kljub temu relativno visok, 30 % (21).

Vaskularni endotelni rastni dejavnik (VEGF) je cirkulirajoči glikoprotein, ki z vezavo na VEGF receptor sproži angiogenezo. Tako tumorska rast, kot njegova invazija in pojav oddaljenih zasevkov, so odvisni od procesa angiogeneze. Na angiogenezo lahko vplivamo z antiangiogenimi zdravili. Ta spremenijo in normalizirajo obstoječe krvne žile in inhibirajo formacijo novih žil. Bevacizumab je humanizirano monokloško protitelo proti VEGF. Zmanjša vaskularno gostoto, tumorsko perfuzijo, pritisk v tumorski intersticijski tekočini in število cirkulirajočih endotelnih celic, kar ima za posledico večjo apoptozo rakavih celic (22). Številne raziskave poročajo o obetavni stopnji pCR, ko je bil bevacizumab dodan predoperativni CRT pri zdravljenju raka danke (tabela 2).

Tabela 2. Nekateri objavljeni raziskave uporabe bevacizumaba v predoperativni CRT raka danke

	Leto	Št. bolnikov	Kemoterapija	pCR (v %)
Crane	2010	25	5-FU	32
Liang	2011	28	FOLFOX	25
Velenik	2011	61	CAP	13
Martinez	2012	43	CAP	8
Gasparini	2012	28	CAP	14
Landry	2013	54	CAPOX	17
Dellas	2013	40	CAPOX	17

Nedavno je bila objavljena analiza 15 raziskav, potekajočih in zaključenih v zadnjih desetih letih, ki so v predoperativni CRT vključevale tudi bevacizumab ali cetuksimab (23). Skupni pCR v raziskavah z bevacizumabom je bil sicer statistično značilno višji kot s cetuksimabom, vendar le 21 %, kar ni več kot pri CRT s 5-FU brez biološkega zdravila. V večini raziskav z dodatnim bevacizumabom pa so opazili visoko stopnjo infekcij ran po operaciji (24-26). Prihodnje raziskave bodo morale bodisi dovoljevati daljši čas od zadnje aplikacije bevacizumaba do operacije, ali pa izpustiti tarčno zdravilo ob CRT.

Raki požiralnika, gastroezofagealnega prehoda in želodca

Raki želodca, gastroezofagealnega (GE) prehoda in distalnega požiralnika so drugi najpogostejši vzrok smrti zaradi raka (1). V Vzhodni Evropi, Aziji in Južni Ameriki prevladuje adenokarcinom distalnega želodca, rak proksimalnega želodca in GE prehoda pa v Zahodni Evropi in Severni Ameriki. Incidenca raka distalnega želodca pada, v deželah z «zahodnjaškim načinom življenja» pa narašča pojavnost raka GE prehoda in raka požiralnika. Pri raku zgornje tretjine požiralnika je standardno zdravljenje definitivna CRT, pri nižje ležečih adenokarcinomih predoperativna kemoterapija ali CRT, pri ploščatoceličnih rakih pa predoperativna CRT. Operacija ima sicer osrednjo vlogo tudi v zdravljenju raka želodca, vendar se pri večini le operiranih bolnikov rak ponovi bodisi regionalno ali kot oddaljeni zasevki, zato je 5-letno preživetje le 20 do 25 % (27). Vključitev kombiniranega zdravljenja, kot je predoperativna CRT, perioperativna CT ali pooperativna CRT, je izboljšala preživetje na 30 do 35 % (28).

Receptor 2 za humani epidermalni rastni faktor je član družine HER receptorjev. Za pričetek signalizacije potrebuje heterodimerizacijo z drugimi HER receptorji. Prekomerno izražanje HER2, ki ga opažamo pri 20 % bolnic z rakom dojke, pomeni slabšo prognozo bolezni. Prekomerno izražen HER2 ima tudi 20 % bolnikov z adenokarcinomom GE prehoda in želodca. Trastuzumab je humanizirano monoklonsko protitelo proti p185HER2 glikoproteinu. Pri metastatskem HER2 pozitivnem raku želodca je kombinacija cisplatina, 5-FU ali kapecitabina in trastuzumaba v primerjavi s CT brez trastuzumaba izboljšala mediano preživetje iz 11,1 meseca na 13,5 meseca ($p = 0,0048$; HR = 074), odgovor na zdravljenje je bil boljši za 12,8 % ($p = 0,0017$) (29). V pilotski raziskavi so k CRT lokalno napredovelega HER2 pozitivnega adenokarcinoma požiralnika dodali trastuzumab (30). Bolniki so bili obsevani s TD 50,4 Gy, sočasno pa so prejeli tedensko cisplatin in paklitaksel. Preživetje je bilo 47 %, čeprav veliko bolnikov ni bilo operiranih zaradi obširne lokalne bolezni ali komorbiditete. Toksičnost zaradi intenzivnejše kombinacije sistemskega zdravljenja ni bila nič večja, zato so kmalu za to pilotno raziskavo pričeli s podobno, a randomizirano raziskavo RTOG (Radiation Therapy Oncology Group) 1010. Rezultati še potekajoče študije naj bi razjasnili vlogo in uporabo trastuzumaba pri lokaliziranem HER2 pozitivnem karcinomu požiralnika in GE prehoda.

V raziskavi faze II so bili bolniki z adenokarcinomom in ploščatoceličnim rakom požiralnika in GE prehoda stadija I–III zdravljeni z bevacizumabom, erlotinibom in neoadjuvantno CRT (karboplatin, paklitaksel, kontinuirana infuzija 5-FU, RT 45 Gy). Od 57 evaluabilnih bolnikov je imelo 30 % pCR (31). V drugi raziskavi faze II so Ilson in sodelavci bolnike s Sievert I/II adenokarcinomom požiralnika zdravili z indukcijsko CT s cisplatinom, irinotekanom in bevacizumabom. Sledilo je obsevanje s TD 50,4 Gy, z istimi citostatiki in bevacizumabom. Po operaciji so bolniki prejeli bevacizumab. Vključenih je bilo 33 bolnikov. Delež pCR je bil 12 %, preživetje brez progressa bolezni 14 mesecev in celokupno preživetje 30 mesecev (32). Relativno nizek delež pCR v omenjenih raziskavah in negativni rezultati raziskave AVAGAST (bevacizumab, kapecitabin, cisplatin) pri metastatskem raku želodca, ko primarni cilj izboljšati mediano preživetje ni bil dosežen, so vzrok, da je navdušenje nad preizkušanjem bevacizumaba pri CRT požiralnika uplahnilo, tako da trenutno ni raziskav faze III.

Izražanje EGFR je pri ezofagogastričnih tumorjih različno, med 30 % in 90 %. Ekspresija pomeni slabšo prognozo. Raziskovalci v Marylandu so objavili rezultate raziskave faze II, v kateri je bilo zajetih 60 bolnikov z inoperabilnim rakom požiralnika, zdravljenih s cetuksimabom, cisplatinom, paklitakselom in RT (33). Špomladi 2012 so objavili delne rezultate. V kombinaciji s cetuksimabom delež pCR ni bil nič večji kot v kombinaciji brez njega. Švicarji pa so v raziskavi SAKK 75/06 28 bolnikov z adenokarcinomom ali ploščatoceličnim karcinomom zdravili indukcijsko s cisplatinom, docetakselom in cetuksimabom. Sledila je CRT s cisplatinom in cetuksimabom. Zabeležili so 32 % pCR (34). Britanska raziskava faze II/III SCOPE1 je bila podobno zasnovana. Dvestooseminpetdeset bolnikov je bilo zdravljenih s cisplatinom, kapecitabinom in radikalno RT z/ brez cetuksimaba. V kombinaciji s cetuksimabom je bilo manj

bolnikov brez bolezni kot s CRT (66,4 % proti 76,9 %), krajše je bilo tudi mediano celokupno preživetje (22,1 meseca proti 25,4 meseca). Avtorji so odsvetovali priključevanje cetuksimaba k definitivni CRT in tirozin kinaznega inhibitorja

erlotiniba se je izkazala za učinkovito ter varno v zdravljenju raka požiralnika. Štiriindvajset bolnikov je med CRT s paklitakselom in cisplatinom prejelo še erlotinib. Dveletno preživetje je bilo 70,1 %, lokalna kontrola 87,5 % in preživetje brez ponovitve bolezni 57,4 % (36).

Predčasno pa je bila zaključena raziskava ECOG 2205, v kateri so preizkušali kombinacijo cetuksimaba, oksaliplatin, 5-FU in RT. Od 18 bolnikov so 4 umrli po operaciji, zaradi ARDS (acute respiratory death syndrome) (37). Ker tega niso opisovale druge raziskave s 5-FU, oksaliplatinom in RT domnevajo, da cetuksimab vpliva na pulmonalne pooperativne zaplete.

Iskanje uspešnejšega zdravljenja narekuje iskanje novih tarč. Pri raku požiralnika se preizkuša Crizotinib, mala molekula, usmerjena proti receptorju na celični površini C-MET (mezenhimski epiteljski tranzicijski faktor). Nadalje, inhibicija Heat Shock Proteina 90 s 7-allylamino-17-demetoxigeldanamycin (17-AAG) naj bi senzibilizirala celice na obsevanje (38). Hedgehog pot ima pomembno vlogo pri raku prek prekomerne izraženosti Sonic hedgehog liganda (SHH). Ta prekomerna izraženost SHH se je izkazala kot napovednik kliničnega popolnega odgovora po CRT raka požiralnika. Kombinacija CRT in hedgehog inhibitorja predstavlja eno od atraktivnih strategij raziskav (39).

Adenokarcinomi želodca in GEJ so zelo heterogeni v izražanju genov ter abnormalnosti signalnih poti. Npr., izražanje HER2 je različno pri različnih histoloških tipih in lokalizacijah tumorja. Bolj je izražena pri intestinalnem tipu in GE rakih kot pri difuznem tipu ter pri raku želodca. Zato je nujna prepoznavna prave populacije bolnikov in vključitev v raziskave, ne glede na histologijo ali lokalizacijo tumorja, temveč glede na specifične molekularne in genetske nenormalnosti, torej glede na njihov specifični genetski profil.

Zaključek

Boljšo poznavanje biologije tumorjev in celičnih ter molekularnih mehanizmov, odgovornih za maligno proliferacijo, je privedlo do razvoja zdravil, katerih tarča so agensi, vpleteni v te mehanizme. Danes velja prepričanje, da lahko le razumevanje in izkoriščanje molekularne biologije tumorjev vodi v napredek v boju proti raku. Monoklonska protitelesa, usmerjena na antigene na celični površini ali njihove ligande, predstavljajo najbolj uporabljano in najučinkovitejšo "tarčno terapijo" v zdravljenju različnih tumorjev. Številna tarčna zdravila se preizkušajo tudi v zdravljenju rakov prebavil, s ciljem izboljšati standardne strategije. Visoka cena teh zdravil in skromno izboljšanje izida bolezni v primerjavi s standardnim zdravljenjem omejuje njihovo preizkušanje v velikih raziskavah ter ne opravičuje njihove uporabe v rutinski klinični praksi.

Literatura:

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127 (12): 2893-917.
2. Bernstein TE, Endreseth BE, Romundstad P, Wibe A. Improved local control of rectal cancer reduces distant metastases. *Colorectal Dis* 2012; 14: e668-78.
3. Braendengen M, Tveit KM, Berglund A, Birkemeyer E, Frykholm G, Pahlman L, et al. Randomised phase III study comparing preoperative radiotherapy with chemoradiotherapy in nonresectable rectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26: 3687-94.
4. Engelen SM, Maas M, Lahaye MJ, Leijtens JW, van Berlo CL, Jansen RL, et al. Modern multidisciplinary treatment of rectal cancer based on staging with magnetic resonance imaging leads to excellent local control, but distant control remains a challenge. *Eur J Cancer* 2013; 49: 2311-20.
5. Xin An, Xi Lin, Feng-Hua Wang, Karyn Goodman, Pei-Qiang Cai, Ling-Heng Kong, Yu-Jing Fang, et al. Short term results of neoadjuvant chemoradiotherapy with fluoropyrimidine alone or in combination with oxaliplatin in locally advanced rectal cancer: A meta analysis. *Eur J Cancer* 2013; 49: 843-51.
6. Giralt J, de las Heras M, Cerezo L, Eraso A, Hermsilla E, Velez D, et al. The expression of epidermal growth factor results in a worse prognosis for patients with rectal cancer treated with preoperative radiotherapy. *Radiother Oncol* 2005; 74: 101-8.
7. Huang SM, Harari PM. Modulation of radiation response after epidermal growth factor receptor blockade in squamous cell carcinomas: inhibition of damage repair, cell cycle kinetics, and tumor angiogenesis. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 2166-74.
8. Nasu S, Ang KK, Fan Z, Milas L. C225 anti-epidermal growth factor receptor antibody enhances tumor radiocurability. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001; 51: 474-7.
9. Zips D, Krause M, Yaromina A, Dörfler A, Eicheler W, Schütze C, et al. Epidermal growth factor receptor inhibitors for radiotherapy: biological rationale and preclinical results. *J Pharmacol* 2008; 60: 1019-28.
10. Van Cutsem E, Köhne CH, Lang I, Zaluski J, Chang Chien CR, Makhson A, et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009; 360: 1408-17.
11. Velenik V, Ocvirk J, Oblak I, Anderluh F. Cetuximab in preoperative treatment of rectal cancer. Long-term outcome of the XERT trial. *Radiol Oncol*. 2012 September; 46(3): 252-257.
12. Kim JS, Kim JM, Li S, Yoon WH, Song KS, Kim KH, et al. Epidermal Growth Factor Receptor as a predictor of tumor downstaging in locally advanced rectal cancer patients treated with preoperative radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 66: 195-200.
13. Azria D, Bibeau F, Barbier N, Zouhair A, Lemanski C, Rouanet P, et al. Prognostic impact of epidermal growth factor receptor (EGFR) expression on locoregional recurrence after preoperative radiotherapy in rectal cancer. *BMC Cancer* 2005; 5: 62.
14. Luna -Perez P, Segura J, Alvarado I, Labastida S, Santiago-Payán H, Quintero A, et al. Specific c-K-ras gen mutations as a tumor-response marker in locally advanced rectal cancer treated with preoperative chemoradiotherapy. *Ann Surg Oncol* 2000; 7: 727-31.
15. Dewdney A, Cunningham D, Tabernero J, Capdevila J, Glimelius B, Cervantes A, et al. Multicenter randomized phase II clinical trial comparing neoadjuvant oxaliplatin, capecitabine, and preoperative radiotherapy with or without cetuximab followed by total mesorectal excision in patients with high-risk rectal cancer (EXPERT-C). *J Clin Oncol* 2012; 30: 1620-7.
16. Morelli MP, Cascone T, Troiani T, De Vita F, Orditura M, Laus G, et al. Sequence-dependent antiproliferative effects of cytotoxic drugs and epidermal growth receptor inhibitors. *Ann Oncol* 2005; 16 Suppl 4: iv61-8.
17. Hecht JR, Mitchell E, Neubauer MA, Burris HA, Swanson P, Lopez T, et al. Lack of correlation between epidermal growth factor receptor status and response to Panitumumab monotherapy in metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 2205-13.
18. Pinto C, Di Fabio F, Maiello F, Pini S, Latiano T, Aschele C, et al. Phase II study of panitumumab, oxaliplatin, 5-fluorouracil and concurrent radiotherapy as preoperative treatment in high-risk locally advanced rectal cancer patients (StarPan/STAR-02 study). *Ann Oncol* 2011; 22: 2424-30.
19. Helbling D, Bodoky G, Gauschi O, Sun H, Bosman F, Gloor B, et al. Neoadjuvant chemoradiotherapy with or without panitumumab in patients with wild-type KRAS, locally advanced rectal cancer (LARC): a randomized, multicenter, phase II trial SAKK 41/07. *Ann Oncol* 2013; 24: 718-25.
20. Czito BG, Willett CG, Bendell JC, Morse MA, Tyler DS, Fernando NH, et al. Increased toxicity with Gefitinib, Capecitabine and radiation therapy in pancreatic and rectal cancer. Phase I trial results. *J Clin Oncol* 2006; 24: 656-62.
21. Valentini V, De Paoli A, Gambacorta MA, Mantini G, Ratto C, Vecchio FM, et al. Infusional 5-fluorouracil and ZD1839 (Gefitinib-Iressa) in combination with preoperative radiotherapy in patients with locally advanced rectal cancer: a phase I and II trial (1839IL/0092). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 72: 644-9.
22. Willett CG, Boucher Y, di Tomaso E, Duda DG, Munn LL, Tong RT, et al. Direct evidence that the VEGF-specific antibody bevacizumab has antivascular effects in human rectal cancer. *Nat Med* 2004; 10: 145-7.
23. Beg S, Meyer JJ, Xie XJ, Sigal AG. Pathologic complete response rates after neoadjuvant chemoradiation (CRT) for rectal cancer: do novel agents have a role? *J Clin Oncol* 2012; 30: abstr 597.
24. Villacampa MM, Santos C, Garcia M, Navarro V, Tuelo A, Lasa F, et al. Phase II of preoperative bevacizumab, capecitabine and radiotherapy in locally advanced rectal cancer. *J Clin Oncol* 2011; 177: abstr. 516.
25. Liang JT, Lai H, Chen K. Technical feasibility of laparoscopic total mesorectal excision for patients with low rectal cancer after concurrent radiation and chemotherapy with bevacizumab plus FOLFOX. *Surg Endosc* 2011; 25: 305-8.
26. Velenik V, Ocvirk J, Music M, Bracko M, Anderluh F, Oblak I, et al. Neoadjuvant capecitabine, radiotherapy, and bevacizumab (CRAB) in locally advanced rectal cancer: results of an open-label phase II study. *Radiat Oncol* 2011; 6: 105.
27. Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, Thompson JN, Van der Velde CJ, Nicolson M, et al. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *N Engl J Med* 2006; 355: 11-20.
28. Macdonald JS, Smalley SR, Benedetti J, Hundahl SA, Estes NC, Stemmermann GN, et al. Chemoradiotherapy after surgery compared with surgery alone for adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction. *N Engl J Med* 2001; 345: 725-30.
29. Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): A phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 376: 687-697.

30. Safran H, Dipetrillo T, Akerman P, Ng T, Evans D, Steinhoff M, et al: Phase I/II study of trastuzumab, paclitaxel, cisplatin and radiation for locally advanced, HER2 overexpressing, esophageal adenocarcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007; 67: 405-409.
31. Meluch AA, Bendell JC, Peyton JD, Rudolph P, Rubin MS, Webb CD, et al: A phase II study of preoperative chemoradiation therapy plus bevacizumab and erlotinib in the treatment of localized esophageal cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28 (suppl 15): Abstract 4108.
32. Ilson D, Goodman KA, Janjiigian YY, Shah MA, Kelsen DP, Rizk NP, et al: Phase II trial of bevacizumab, irinotecan, cisplatin, and radiation as preoperative therapy in esophageal adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 2012; 20 (suppl 4): Abstract 67.
33. Safran H, Suntharalingam M, Dipetrillo T, Ng T, Doyle LA, Krasna M, et al: Cetuximab with concurrent chemoradiation for esophagogastric cancer: Assessment of toxicity. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 70: 391-395.
34. 29. Ruhstaller T, Pless M, Dietrich D, Kranzbuchler H, von Moos R, Moosmann P, et al: Cetuximab in combination with chemoradiotherapy before surgery in patients with resectable, locally advanced esophageal carcinoma: A prospective, multicenter phase IB/II trial (SAKK 75/06). *J Clin Oncol* 2011; 29: 626-631.
35. Crosby T, Hurt CN, Falk S, Gollins S, Mukherjee S, Staffurth J, et al: Chemoradiotherapy with or without cetuximab in patients with oesophageal cancer (SCOPE1): a multicentre, phase 2/3 randomised trial. *Lancet Oncol*. 2013; 14: 627-37.
36. Li G, Hu W, Wang I, Deng X, Zhang P, Zhang X et al. Phase II study of concurrent chemoradiation in combination with erlotinib for locally advanced esophageal carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010, 78: 1407-12.
37. Kleinberg LR, Catalano PJ, Gibson MK, Staley CA, Montgomery EA, Song W, et al: ECOG 2205: A phase II study to measure response rate and toxicity of neo-adjuvant chemoradiotherapy (CRT) (IMRT permitted) with oxaliplatin and infusional 5-fluorouracil plus cetuximab in patients with operable adenocarcinoma of the esophagus: High risk of post-op adult respiratory distress syndrome. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010; 78: S72.
38. Wu X, Wanders A, Wardega P, et al: Hsp90 is expressed and represents a therapeutic target in human oesophageal cancer using the inhibitor 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin. *Br J Cancer* 2009; 100: 334-343.
39. Ajani JA, Wang X, Maru D, Welsh J, Hofstetter WL, et al: Validated biomarker signatures that predict pathologic response to preoperative chemoradiation therapy with high specificity and desirable sensitivity levels in patients with esophageal cancer. *J Clin Oncol* 2011; 29S: 4027.