

T.C.
İSTANBUL BİLİM ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI
TIBBİ ONKOLOJİ BİLİM DALI

**METASTATİK MİDE KANSERİNDE EGFR,
MTOR, HER-2 DURUMUNUN PROGNOSTİK VE
PREDİKTİF ÖNEMİ**

Dr. Kübra AYDIN

Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı:
Prof.Dr. Osman Gökhan DEMİR

İstanbul 2011

TEŞEKKÜR

Yandal asistanlığım süresince her zaman engin bilgisinden faydalandığım, özellikle hastalarla olan iletişim konusunda tecrübesinden çok Őey öğrendiğim değerli hocam Prof. Dr. Osman Gökhan DEMİR başta olmak üzere, eğitimime büyük katkı sağlayan değerli hocalarım Prof. Dr. CoŐkun TECİMER' e, Prof. Dr. Reyhan DİZ KÜÇÜKKAYA' ya, Prof. Dr. Levent ERDEM' e, Prof. Dr. Mutlu ARAT' a, Prof. Dr. Süheyla APAYDIN' a, Doç. Dr. Őefik İĞDEM' e, Prof. Dr. Gülen BÜLBÜL DOĞUSOY' a, Rektörümüz Prof. Dr. Hakan BERKKAN' a ve Dekanımız Prof. Dr. Çavlan ÇİFTÇİ' ye teşekkür ederim.

Tezimin yapım aŐamasında büyük yardımlarını gördüğüm Prof. Dr. Zafer AKÇALI ve Yrd. Doç. Dr. İlknur TÜRKMEN'e teşekkür ederim.

Yandal asistanlığım boyunca birlikte çalıştığım değerli arkadaşlarım Dr.Kerem OKUTUR, Dr.Mustafa BOZKURT, Dr.Esat NAMAL, Dr.Akın ÖZTÜRK ve İç Hastalıkları Anabilimdalı asistan doktorlarıma, Tijen HemŐire'ye ayrıca Gayrettepe Florence Nightingale Hastanesi ve İstanbul Bilim Üniversitesi Onkoloji Bilimdalı' nın çok değerli hemŐirelerine ve personeline teşekkür ederim.

Bugünlere ulaşmamda desteklerini esirgemeyen anneme, babama ve eŐim Uğur'a çok teşekkür ederim.

KISALTMALAR

ALL	: Akut Lenfositik Lösemi
AMM	: Agnogenik Myeloid Metaplasia
AML	: Akut Myeloid Lösemi
CFUFA	: Sisplatin+ 5-FU+LV
CFU	: Sisplatin+ 5-FU
DCF	: Doseetaksel+ 5-FU
EAP	: Etoposid+ Doksorubisin+Sisplatin
ECF	: Epirubsin+Sisplatin +5-FU
EGFR	: Epiteyal Büyüme Faktörü Reseptörü
ELF	: Etoposid+Lökoverin+ 5-FU
EORTC	: The European Organisation for Research and Treatment of Cancer
FAMTX	: 5-FU+ Doksorubisin+ Mitomisin C
FUDR	: Fluorodeoksiuridine
5-FU	: 5-Fluorouracil
HE	: Hemotoksilen Eosin
IGF-1	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
IGFR-1	: İnsülin Benzeri Büyüme Reseptörü-1
IHK	: İmmünohistokimya
IFN	: İnterferon alfa
KLL	: Kronik Lenfositik Lösemi
KML	: Kronik Myeloid Lösemi
KT	: Kemoterapi
KHDAK	: Küçük hücre dışı Akciğer Karsinomu
LV	: Lökoverin

MCL	: Mantle Hücreli Lenfoma
MDS	: Miyelodisplastik Sendrom
MMP-9	: Matriks Metalloproteinaz-9
mRCC	: Metastatik Renal Hücreli Karsinom
mTOR	: Mammalian Target Of Rapamycin
NCI	: National Cancer Institute
PBS	: Tamponlu Fosfat Buffer
PI3K	: Phosphatidil Inositol 3 Kinaz
PTEN	: Phosphatase and Tension Homologue
RT	: Radyoterapi
SCC	: Skuamöz Hücreli Karsinom
TSC	: Tuberoskleroz Kompleks
VEGFR	: Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü Reseptörü

İÇİNDEKİLER

GENEL BİLGİLER.....	1
Mide kanseri.....	1
Etiyoloji Patogenez.....	1
Risk Faktörleri.....	2
Patoloji.....	5
Klinik Belirtiler.....	7
Tanı.....	7
Evreleme.....	8
Prognostik Faktörleri.....	12
Tedavi.....	13
Epitelyal Büyüme Faktörü Reseptörü.....	17
mTOR.....	24
GEREÇ VE YÖNTEM.....	43
BULGULAR.....	46
TARTIŞMA.....	62
ÖZET.....	69
İNGİLİZCE ÖZET.....	70
KAYNAKLAR.....	71

GENEL BİLGİLER

Mide Kanseri

Etiyoloji ve patogenezi

Mide kanserleri, tüm dünyada sık görülen ve toplum sağlığını tehdit eden önemli bir hastalıktır. Dünyada yıllık 750000 yeni vaka ve 500000'den fazla ölümlerle sonuçlanan en yaygın ikinci malignitedir. Amerika Birleşik Devletleri(ABD)'inde 2001 yılında 21000 yeni mide kanseri saptanmış, 13700 kişi de bu hastalık nedeniyle ölmüştür. Mide kanseri, ABD'de kansere bağlı ölümlerin sekizinci, Japonya'da ise birinci nedenidir. (1). Her 100000 kişide kansere bağlı ölüm sıklığı açısından kıyaslandığında; Japonya 78/100000 ile ilk sırada yer almaktadır. İngiltere'de 22/100000, ABD'de ise 13/100000'tür. (2). Türkiye'de Paykoç, Aktan ve arkadaşlarının bildirdiği kansere bağlı ölüm sıklığı 28/100000'dir (3). Mide kanserinin son yıllarda batı ülkelerinde sıklığının azaldığı bildirilmiştir (2,4). Mungan ve arkadaşlarının 1999 yılında yaptığı bir çalışmada 1978'den 1998'e kadar olan dönemde ülkemizde mide kanserinin sıklığında azalma tespit edilmiştir.(5) Japonya'da tüm kanser vakalarının yarısını oluşturan mide tümörleri, Türkiye'de akciğer ve meme tümörlerinin ardından en sık gastrointestinal sistem tümörü olarak yerini almaktadır (3). Mide kanseri görülme sıklığının yüksek olduğu ülkelere, düşük olduğu ülkelere göç eden insanlarda bu kanserin insidansında dikkate değer azalma tespit edilmektedir. Bunda yaşanan ülkenin çevresel faktörlerinin rol oynadığı gibi, göç eden popülasyonunda zamanla diyet alışkanlığını değiştirmesinin ve yeni toplumlarının yemek kültürlerine uymalarının da önemli rolü vardır (6,7). Mide karsinomunun etyopatogenezi multifaktoriyeldir (7). Bu konudaki çalışmalar epidemiyoloji, beslenme

alışkanlıkları, mide mikro çevresindeki değişiklikler temelinde yoğunlaşmaktadır. Mide kanseri için risk faktörleri özetlenmiştir (8,9).

Risk Faktörleri

Helikobakter pilori

Geçirilmiş mide operasyonları

Hereditör nonpolipozis kolon kanseri

Mide adenomatöz polipleri

Diyet (tuzlu gıdalar, konserveleler)

Kronik atrofik gastrit

Ebstain-Bar virüs enfeksiyonu

Pernisiyöz anemi

Genetik faktörler

A kan grubu

Sosyo ekonomik durum

Nitrit ve nitratlar

Sigara-alkol

Asbestoz (mesleki mazruziyet)

Mide kanseri 40 yas altındaki insanlarda seyrek görülür. Kırk yaşının üstündeki bireylerde insidans giderek artar ve 70'li yaslarda zirve oluşturur. Kadın/erkek oranı 1/2 gibidir. Kursun, nikel, lastik ve asbest işçilerinde insidansın yüksek olduğu gösterilmiştir. Ayrıca beyaz ırkta, A kan grubunda daha sık görülür (4,10). İntestinal tip mide karsinomunun epidemik, diffüz tip karsinomun ise endemik olduğu saptanmıştır (8). Diyetle hayvansal yağ ve proteinlerin düşük oranda, kompleks karbonhidratların özellikle tahıllardan elde edilen proteinlerin yüksek oranda olması; taze yeşil ve lifli bitkilerin az olması, çok tuzlu ve çok nitrat alımı midede karsinom gelişimini kolaylaştıran faktörler olarak sıralanmaktadır (7,10). Bir çalışmada İzlanda'da mide kanserinin tütülenmiş balık tüketilen bölgelerde daha fazla olduğu ortaya konmuştur (8). Mide mikroçevre değişiklikleri temelinde en çok aşırı tuzlu gıda alınması, mide pH'sının yükselmesi, midedeki nitrit ve metabolitlerinin konsantrasyonunda artış üzerinde durulmaktadır. Çevresel faktörlerin ve otoimmüitenin (pernisyöz anemi) etkisi ile oluşan atrofik gastrit ya da parsiyel gastrektomi gibi girişimler sonucu hipoklorhidri oluşmakta bu durum mide içi anaerobik bakterilerin aşırı üremesine yol açmaktadır. Bu bakterilerin birçoğu nitratları nitritlere çeviren indirgeyiciler üretmektedir. Böylece, mide içi nitrit, N-nitrozo bileşikleri ve safra asitlerinin konsantrasyonunda artışa neden olmakta ve kronik gastrit zemininde metaplazi, displazi ve karsinom gelişmektedir (7,10).

Yüksek riskli toplumlarda en sık görülen mide karsinomu tipi intestinal tip karsinomdur. Bu tip mide karsinomlarının kronik gastrit, atrofik gastrit, intestinal metaplazi ve displazi gibi mide patolojilerine sekonder olarak geliştiği genel olarak kabul edilen bir durumdur. Mide karsinomu riskinin yüksek olduğu toplumlarda H. pilori infeksiyonu çok sık görülmektedir (7,9,10). Yukarıda anlatılan çevresel diyet faktörlerinin karsinogenezdeki etkilerinin Helikobakter pilori ile arttığı düşünülmektedir. H. pilori sadece mide yüzey epitelinin yüzeyindeki mukus içinde bulunmakta ve intestinal tip

karsinom için prekürsör durum olarak kabul edilen metaplastik epitel yüzeyinde saptanmakla birlikte, ya bakteri tarafından üretilen çözünür ürünlerin ve/veya bakterinin oluşturduğu iltihabi infiltrasyonun karsinogenez basamaklarında rolü olduğuna inanılmaktadır. H. pilori ürettiği üreaz ile mide lümeninde bulunan üreden serbest amonyak dönüşümüne neden olmaktadır. Amonyak etkisi ile hücre çoğalmasının uyarıldığı gösterilmiştir (7,10). H. Piloni infeksiyonu olan bireylerde mide sıvısında askorbik asit düzeyinin infekte olmayan bireylere göre anlamlı oranda düşük olduğu, H. pilori eradikasyonundan sonra ise askorbik asit düzeyinin yükseldiği gösterilmiştir (7,10). Askorbik asit başlıca antioksidan maddelerden biri olup DNA'yı oksidatif zararlardan korur ve böylece antikanserojenik bir rol üstlenir. Onkogenik potansiyeli olan nitrik oksit ve diğer radikaller amino asitleri deamine ederek DNA'da, p53 gibi supressör onkogenlerde mutasyona yol açabilirler. Bu etki ile epitel hücrelerinde neoplastik transformasyon, transforme olmuş hücrelerde de invazyon ve metastaz potansiyelini sağlayacak mutasyonlar gelişebilir. Mide kanseri için zemin oluşturan durumlar ve prekanseröz lezyonlar bildirilmiştir. Bunlar arasında kronik atrofik gastrit, pernisiyöz anemi, Menetrier hastalığı, intestinal metaplazi, kronik peptik ülser, parsiyel mide rezeksiyonu sonrası geriye kalan mide kısmı, neoplastik olmayan mide polipleri, mide adenomları, ağır epitelyal displazi sayılabilir (7,10).

Mide karsinomunda genetik eğilim ve genetik geçiş az da olsa tanımlanmıştır. Kan grubu A olan kişilerde normal popülasyona göre mide kanseri riskinin yedi kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (7). Ailevi kanser sendromu ve herediter nonpolipozis kolorektal karsinom sendromu olan aile bireylerinde mide karsinomu görülmektedir. Mide karsinomlarının %60'ında p53 geninde mutasyon ve allel kaybı vardır (7,10).

Patoloji

Mide neoplazmlarının çoğunluğunu adenokarsinomlar oluşturur (%95). Geri kalan %5'in yarısını mide lenfomaları, diğer yarısını ise yassı hücreli karsinom, leiomyosarkom, karsinoid tümör, adenoakantom gibi nadir tümörler oluşturur (6-8,10-11). Adenokarsinomlar genellikle ülserle bir lezyon (%75), polipoid kitle (%10), diffüz skirö lezyon (%10) veya superfisiyal mukozal lezyon (%5) şeklinde ortaya çıkabilir. Midedeki lezyonların 2 cm'den büyük olması, kenarlarının yüzeyden kalkık olması gibi özellikler malignite ihtimalini düşündürür (6,7,10) Mide karsinomları genel anlamda mide duvarındaki yayılım derinliğine göre erken ve ilerlemiş mide karsinomu olarak ayrılmaktadır (7). Erken mide karsinomu; lenf nodu tutulumu ve hematojen yayılımı göz önüne alınmaksızın karsinomun mukoza ve/veya submukoza içinde sınırlı kaldığı vakalardır.

Mide tümörlerinin biyolojik özelliklerini aydınlatmaya yönelik araştırmalar devam etmektedir. Bu amaçla kullanılan 'flow sitometri' yöntemi ile tümör dokusundaki anoploidi oranı ve DNA indeksi saptanabilmekte, tümör agresivitesini değerlendirmek amacı ile sentez fazı ve tümör yarılanma ömrü belirlenebilmektedir(10).

Mide kanserleri midenin herhangi bir bölgesinde gelişebildiği gibi en sık görüldüğü alanlar antrum ve küçük kurvatur bölgesidir. Mide karsinomları aynı anda birden çok odakta gelişebilirler (%2), bu durum erken mide karsinomlarında daha sık görülmektedir (6,7,10).

Mide adenokarsinomları tek bir tümör içinde bile homojen olmayıp çok farklı histolojik paternleri bir arada içermektedir. Bu durum histolojik sınıflandırma ve tanımlamada karışıklığa neden olmaktadır. Mide adenokarsinomlarının 3/4'ünde birden fazla paternin bulunduğu bildirilmektedir . Lauren sınıflamasına göre mide karsinomları;

intestinal tip, diffüz tip ve sınıflandırılmayan (miks tip) olarak üçe ayrılır. Ayrıca Ming sınıflaması, Jass sınıflaması, Mulligan sınıflaması, WHO sınıflaması ve Japon mide kanseri araştırma grubu sınıflaması yapılmıştır. Taşlı yüzük hücreli karsinomlarda çeşitli sınıflamalar arasında fark olmasına rağmen kabul gören genel kanı indiferansiye grup içerisinde yer alması yönündedir (7,10). Mide adenokarsinomlarında tümör hücrelerinde immünohistokimyasal olarak anti-CEA, anti-epitelyal membran antijen ve anti-keratin antikoları ile pozitif reaksiyon görülmesi koşuldur. Bir adenokarsinomun midenin primer tümörü olduğunu destekleyen immünohistokimyasal destekleyiciler pepsinojen 1, pepsinojen 2 ve kimosin gibi mide proteazlarıdır (6,7,10). Erken ve ilerlemiş mide karsinomlarında tümörün yayılımı diğer organ karsinomları ile benzerdir. Tümör doğrudan invazyon ile mideden çevreye ve mide duvarı katlarında derinlemesine yayılırken bir yandan da komşu organları infiltre eder. Midede mukoza ve submukozada lenf damarları oldukça bol olduğu için hem erken mide karsinomlarında hem de ilerlemiş mide karsinomlarında lenf damarları yolu ile lenf düğümü metastazı sık görülmektedir. Uzak lenf düğümü metastazlarından sol supraklavikular lenf düğümü (Virchow düğümü), sol aksiller (Irish nodülü) ve umblikal lenf düğümleri (Sister Mary-Joseph nodülü) görülebilir. Venöz yolla olan hematojen yayılım erken mide karsinomlarında nadirken, ilerlemiş mide karsinomlarında hematojen yayılım daha sık olup en sık karaciğer metastazı ile karşılaşılmaktadır. Ayrıca akciğer, sürrenal bezler, kemik ve beyine hematojen yayılımlar görülebilir İlerlemiş mide karsinomlarında periton tutulumu sık görülmektedir, bu direkt invazyon, lenfatik veya hematojen yolla olabilmektedir. Mide karsinomları overlere (Krukenberg tümörü) ve Douglas boşluğuna (Blummer's Shelf = Rektal Raf) metastaz yapabilmektedir, bunun peritoneal boşluk aracılığı ile implantasyon şeklinde olduğuna inanılmaktadır. (6,7,10).

Klinik belirtiler

Erken evrelerde belirgin bir semptom vermez; bu dönemde dikkati çekecek tek belirti inatçı hazımsızlık olup vakaların yaklaşık %50'sinde görülür (12). İlk belirtilerin ortaya çıkması ile tanı konulması arasında ortalama 6-9 aylık bir süre geçer (6,12). Mide kanserlerinin en sık karşılaşılan belirtileri iştahsızlık, halsizlik ve kilo kaybıdır. Bulantı, mide yanması, yemeklerden sonra dolgunluk diğer yakınmalardır. Hastaların 1/3'ü ağrı ile başvurur. Kardia ve pilor çevresinde yerleşen tümörler tıkanmaya yol açarlar, bunlarda disfaji ve kusma görülebilir. Hastalarda gizli kanamaya bağlı olarak anemi görülebilir. İleri evre hastaların yarısında karında palpe edilebilen kitle ele gelir.

Tanı

Günümüzde tanı yöntemlerinin erişmiş olduğu düzeylere karşın mide kanserinin erken tanısında önemli bir aşama sağlanamamıştır. Mide kanseri teşhis edildiğinde %50 metastatik olmaktadır (13). Erken evredeki tümörlerin yakalanmasında tarama amaçlı endoskopi yapılması önemlidir. Gaitada gizli kan sıklıkla pozitiftir. Mide kanserinin sık görüldüğü Japonya başta olmak üzere bazı ülkelerde endoskopi ile kitle taramaları yapılmaktadır. Japonya'da erken tanı alan vakaların ameliyattan sonra beş yıllık sağkalım oranlarının %90'nın üzerinde olduğu bildirilmiştir. Üst gastrointestinal sistem endoskopisi %95 tanı duyarlılığına sahiptir. Endoskopi ve endoskopik biyopsi tanıda altın standarttır (12). Mide kanserinde tanı amacıyla ayrıca direkt grafiler, baryumlu incelemeler, bilgisayarlı tomografi, magnetik rezonans görüntüleme, endoskopik ultrasonografi kullanılabilir. Mide suyunda malign hücre aranması (sitoloji), yalnızca ilerlemiş mide kanserinde yararlı bir tanı yöntemidir. Pratikte yararı sınırlıdır. Bilgisayarlı tomografi, spiral tomografi gibi yöntemler tümör evrelemesi ve prognoz tayininde kullanılabilir (6,7).

Hastalık rutin tarama yapılmayan çoğu ülkede ve ülkemizde ileri evrelerde saptanabilmektedir. Konvansiyonel radyoloji ile %15 vakanın atlandığı bildirilmiştir (14). Üst gastrointestinal sistem endoskopisi %95 tanı duyarlılığına sahiptir. Günümüzde geliştirilen endoskopik ultrasonografi yöntemi ile saptanan mide duvarına invazyon derecesi (T evresi) ölçülerek operabilite şansı doğru değerlendirilebilmektedir (4,11,15). Hastalığın takibinde kullanılan diğer bir yöntem tümör belirteçleridir. Vakaların ortalama %30'unda saptanan karsinoembriyonik antijen (CEA) yüksekliği hastalığın ileri evrede olduğunun belirtisidir (12). CEA düzeyinin erken hastalık döneminde nadiren arttığı, ileri hastalıkta ise %20-60 vakada yükseldiği bildirilmiştir (16). CA 19-9 ise karbonhidrat yapısında bir antijen olup ilerlemiş mide kanserlerinde yüksek bulunabilir. CA 72-4 gibi başka karbonhidrat antijeni yapısında olan tümör belirleyicilerinde de artma bildirilmiştir (17).

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Enstitüsünde yapılan bir çalışmada CEA ve CA 19-9 düzeyleri 126 mide kanserinde retrospektif değerlendirilmiş ve metastatik mide kanserlerinde CA 19-9 sensitivitesi yüksek, remisyondaki mide kanserlerinde CA 19-9 spesifitesi yüksek bulunmuştur. Mide kanseri takibinde CA 19-9 daha önemli bulunmuştur (8).

Evreleme

Mide kanserlerinde, diğer tüm kanserlerde olduğu gibi yeni ve kombine tedavi modellerinin geliştirilmiş olması, evrelemeyi daha önemli kılmıştır. Hastanın evresinin tam olarak yapılabilmesiyle, en uygun tedavinin seçilebilmesi mümkün olmaktadır.

Hastalığın evrelemesi ile ilgili halen kullanılan sema 1988 yılında AJCC(American Joint Committee on Cancer) tarafından eski evreleme sisteminin yenilenmesi ile elde

edinilen TNM evreleme sistemidir. Bu sistemin kullanılabilirliği, prognoz ve sağkalım ile korelasyonu birçok çalışma ile açıkça gsterilmiştir (10). Mide kanserlerinde makroskopik, morfolojik sınıflama ilk kez 1926'da Borrmann tarafından yapılmıştır .

Hastalığın histolojik sınıflamasında çeşitli öneriler olmasına rağmen sıklıkla sağkalım üzerine Lauren sınıflaması yeğlenmektedir . Lauren sınıflamasında intestinal tip karsinomda en belirgin özellik tümör hücrelerinin oluşturduğu bez yapıları olup, bu tipte mün sekresyonu az gürölür. Tümör evre dokudan belirgin ve düzgün sınırla ayrılan kitleler oluşturur. Diffüz tipte ise, tümör hücreleri daha küçük ve üniform olup küçük ya da büyük solid kitleler oluşturur. Mün daha sık gürölür veya taşlıyüzük hücreleri biçiminde hücre içi ya da mün gölleri şeklinde hücre dışındadır. Tümör infiltratif bir büyüme gösterir (7).

Mide Tümörlerinde TNM Evrelemesi (10)

PRİMER TÜMÖR (T)

Tx: Primer tümör saptanamıyor

To: Primer tümöre ait kanıt yok

Tis: ''Carcinoma in situ'': İntraepitelyal tümör, lamina propria invazyonu yok

T1: Tümör lamina propria, muskularis mukoza ya da submukozaya infiltre

T1a:Tümör lamina propria ya da muskularis mukozaya infiltre

T1b:Tümör submukozaya infiltre

T2: Tümör muscularis propria'ya infiltre

T3: Tümör viseral periton ya da çevresel yapıları infiltre etmeden, subserozal dokuya ulaşmış

T4: Tümör seroza(viseral periton) ve çevresel dokulara infiltre

T4a:Tümör serozayı infiltre etmiş(viseral periton)

T4b:Tümör komşu yapıları infiltre etmiş

BÖLGESEL LENF BEZLER_ (N)

Nx: Bölgesel lenf bezleri değerlendirilemiyor

No: Bölgesel lenf bezlerinde tutulum yok

N1: 1 - 2 bölgesel lenf nodu tutulumu

N2: 3 - 6 bölgesel lenf nodu tutulumu

N3: 7'den fazla bölgesel lenf nodu tutulumu

N3a: 7-15 bölgesel lenf nodu tutulumu

N3b:16 ve daha çok lenf nodu tutulumu

UZAK METASTAZ (M)

Mx: Uzak metastaz saptanamıyor

Mo: Uzak metastaz yok

M1: Uzak metastaz

EVRE 0 : Tis N0 M0

EVRE IA : T1 N0 M0

EVRE IB : T1N1M0, T2N0M0

EVRE IIA : T1N2M0, T2N1M0, T3N0M0

EVRE IIB : T4aN0M0, T3N1M0, T2N2M0, T1N3M0

EVRE IIIA : T2 N3 M0, T3 N2 M0, T4a N1 M0

EVRE IIIB : T4b N0 M0, T4b N1 M0, T4a N2 M0, T3N3M0

EVRE IIIC : T4b N2 M0, T4b N3 M0, T4a N3 M0

EVRE IV : Herhangi T ve N' de M1

Mide Tümörlerinde Borrmann Makroskopik Sınıflaması

Borrmann Tip 1: 2cm'den büyük polipoid, karnabahar şeklinde lezyon. Kitle üzerinde ülserasyon yok.

Borrmann Tip 2: Molar diş görüntüsünde mukozadan kabarık kitle üzerinde derin ülserasyon

Borrmann Tip 3: Benign ülser görüntüsünde, 2cm'den büyük, derin yanardağ krateri şeklinde kenarları kalkık tabanı infiltrate lezyon.

Borrmann Tip 4: Yaygın infiltran lezyon (linitis plastika)

Mide Tümörlerinde Lauren'in Histolojik Sınıflaması

1-İntestinal tip

2-Diffüz tip

3-Sınıflandırılmayanlar (miks tip)

Prognostik faktörler

Mide kanserlerinde genellikle sağkalım kısadır. Geniş bir seride 20000'i aşkın hasta incelenmiş ve beş yıllık sağkalım %8 bulunmuştur (9,19). Mide kanserinde prognozu belirleyen faktörlerin başında hastalığın evresi gelir (6,12). Erken evrelerde prognoz oldukça iyidir. Ancak olguların % 60'ı tanı konulduğunda cerrahi şansını yitirmiştir. Genellikle evre I hastalarda beş yıllık sağkalım %90-100 arasında olmakta iken, evre IV hastalar için bu oran %10'u asmamaktadır (19). Mide kanserleri erken evrede yayılım gösterdiğinden dolayı beş yıllık sağkalım oranı %10'dan azdır (2).

Prognostik faktörlerin en önemlisi lenf bezleri tutulumu ve seroza invazyonudur. Tümörün histopatolojik türü de bir prognostik faktördür. Lauren sınıflamasına göre intestinal gruba giren tümörlerde prognoz diffüz türe göre daha iyidir. Ayrıca anöploid tümörlerin prognozu daha kötüdür (6,10,12). İlerlemiş mide kanserli, küratif rezeksiyonun mümkün olmadığı hastalarda prognozu etkileyen bazı faktörler vardır. Bunlar primer tümörün büyüme hızı, tümör yaygınlığı, karaciğere metastaz varlığı, serum bilirubin seviyesi, asit varlığı, zayıflama, anemi gibi sistemik semptomların derecesi ve hastanın performans durumu gibi faktörlerdir (6,10).

Tedavi

Mide kanseri tedavisinde ana kural, yeterli mide rezeksiyonu ile birlikte etkin lenf nodu diseksiyonu yapılması, bu tedavilere gerektiğinde adjuvan tedavilerin eklenmesidir (12). Hastaların %80 kadarı opere edilmekle birlikte küratif rezeksiyon oranı %31–61 olarak bildirilmektedir. Küratif rezeksiyonu takiben beş yıllık sağkalım %30–40 kadardır (20). Palyatif rezeksiyonu takiben medyan sağkalım 5–6 ay olup, hastaların çok azı 2 yıl yaşar. Erken evre mide kanserinde küratif tedavi seçeneği total veya subtotal gastrektomidir. Lokal ileri evre veya metastatik hastalarda küratif cerrahi tedavi şansı yoktur. Kardia ve gastroözefagial bölgedeki proksimal lezyonlarda tutulmuş ösefagus bölgesi rezeksiyonu ile birlikte total gastrektomi önerilmektedir. Distal lezyonlarda distal subtotal rezeksiyon önerilir. Eğer tümör yaygın, diffüz infiltratif tip ise veya midgastrik bölgedeyse total gastrektomi yapılır (21).

Karaciğer, pankreas, dalak gibi organlara invazyon söz konusu ise gerek duyulduğunda bu organlardan da parsiyel rezeksiyon yapılabilir. Mide kanserlerinin çoğu tanı anında ilerlemiş olarak tespit edildiği için palyatif amaçlı cerrahi tedavi uygulanabilir. Radyoterapi (RT) sınırlı endikasyonlarda palyatif amaçlı kullanılmaktadır. Cerrahi sonrasında endikasyonu olan hastalara adjuvan olarak verilir. Burada amaç lokalrejonel rekürrensi azaltmaktır. Üst abdomen organlarının ışın hassasiyeti radyoterapiyi sınırlandıran en önemli faktördür. Ayrıca adenokanserler ışına orta derecede hassastır. Radyoterapiyi savunanların temel dayanağını ise otopsi serilerinde %80 vakada hastalığın lokal (submukozal, subserozal) yayılımının saptanması ve buna bağlı ölüm olmasıdır (6,10,11). Kemoterapi (KT) etkinliği düşük olmasına rağmen sıklıkla palyatif amaçlı, semptomların kontrolü için kullanılmaktadır. Hastaların yaşlı olması, ileri evre hastalığı olması, performans durumlarının düşük olması nedeni ile genellikle eş zamanlı tedaviler tolere edilememektedir. Bu nedenle ardışık tedavi modaliteleri tercih edilir. Bu hastalarda

ilk sırada tolere edilebilen en etkili tedavi seçeneği kullanılmaktadır. Adjuvan tedavi metastazı olmayan hastalara, tüm tümör dokusunun küratif rezeksiyonla çıkarılmasını takiben uygulanan tedavidir. Mide rezeksiyonlarından sonra sağ kalım oranlarının %5–30 arasında değişmesi adjuvan kemoterapi uygulamasını gündeme getirmiştir (22). 1957’lerde başlayan denemelerde ilk kez tiyotepa kullanılmış ancak başarı elde edilememiştir. İkinci deneme 1967 yılında fluorodeoksiuridine (FUDR) ile postoperatif ilk üç gün uygulanarak yapılmış, bu çalışma da anlamlı sonuç vermemiştir. İlk olumlu sonuçlar 5-fluorourasil+Metil CCNU (5-FUMe) kombinasyonu ile sağlanmıştır (11).

İngiliz MAGIC çalışmasında 503 rezeke edilebilir mide kanserli hastalarda tek basına cerrahi tedavi ile cerrahi öncesi ve sonrası ECF(Epirubisin, Cisplatin, 5-FU) verilen gruplar karşılaştırılmıştır. ECF kolunda ortanca sağkalım süresi yalnız cerrahi koluna göre anlamlı olarak daha uzun tespit edilmiştir. Bu çalışmayla ECF ‘nin hasta sağ kalımını artıran güvenilir bir neoadjuvan tedavi kombinasyonu olduğu gösterilmiştir (23). Radikal cerrahi sonrası T3-T4 veya lenf nodu pozitifliği ve/veya cerrahi sınır (+)/ yakın olan olgularda lokal nüks yüksektir. Tedavi başarısını artırmak üzere Adjuvant kemoradyoterapi uygulamalarının etkinliğini değerlendiren en geniş hasta serisine sahip olan intergrup 0116 çalışmasıdır. Intergrup 0116 çalışmasında küratif rezeksiyon uygulanmış Evre IB-IV 556 mide karsinomlu olgu randomize edilerek ameliyat sonrası kemoterapi+ kemoradyoterapi alan grup yalnızca cerrahi uygulanmış grupla karşılaştırılmıştır. Genel ve hastalısız sağkalım oranları kombine tedavi kolunda daha yüksektir (27 aya karşın 36 ay). Sağkalım avantajı nedeniyle adjuvant kemoradyoterapi tedavisi standart uygulama halini almıştır (24).

Metastatik mide kanserinde monokemoterapiler ve kombinasyon tedavileri kullanılmaktadır. Monokemoterapiler etkinlik açısından oldukça sınırlıdır. Sık olarak 5-FU monoterapide tek veya kalsiyum lökoverin (LV) ile kombine olarak kullanılmaktadır.

İrinotekanla yapılan monoterapide %25 yanıt oranı bildirilmiştir.(27). Tek ajan tedavileri içinde en etkili ajan mitomisin-C gözükmemektedir. İkinci ve üçüncü sırada 5-FU ve adriamisin gelmektedir (20). Ayrıca sisplatinin de etkili bir ajan olduğu ortaya konmuştur (25). Metastatik mide tümörlerinde, 5-FU'in tek ajan veya LV ile kombine kullanımı sık yapılan bir uygulamadır. 5-FU+LV kombinasyonunun metastatik hastalıkta %38 yanıt oranı bildirilmiştir(26) . Metastatik mide tümörlerinde tek ajan olarak ayrıca, trimetraksat, triazinat, etoposid denenmiş ancak hiçbirisiyle istenen yanıt düzeyine ulaşılamamıştır. Diğer solid tümörlerde olduğu gibi metastatik mide kanserlerinde de kombine kemoterapilerle daha başarılı olabileceği düşünülerek kombine rejimlere yönelinmiştir. Kombine rejimlerde sisplatin içeren tedavi şemalarının diğerlerine göre daha iyi cevap oranları olmaktadır. Sık olarak EAP (Etoposid+Doksorubisin+Sisplatin), FAMTX (5-FU+Doksorubisin+Metotreksat), ELF (Etoposide+Lökoverin+5-FU), 5-FU+FA ve FAM (5-FU+Doksorubisin+MitomisinC), CFUFA (Sisplatin+5-FU+LV) metastatik mide kanserinde kullanılmaktadır. FAMTX ile yapılan çalışmalarda %33–46 arasında değişen yanıt oranları bildirilmiştir. Alman araştırmacıların EAP kombinasyonları ile yaptıkları çalışmalarda %64'e varan yanıt oranları bildirmektedirler (27-31). FAMTX ve EAP rejimlerinin yüksek myelosupresif etkisi ve gastrointestinal toksisiteleri kullanımlarını sınırlamıştır. 1990'lı yıllarda kullanılan standart rejimlerin karşılaştırıldığı EORTC(The European Organisation for Reseach and Treatment of Cancer)' nin çalışmasında FAMTX, CFU, ve ELF kombinasyonların benzer düşük cevap oranları (%20) ve kısa genel sağkalım (<8ay) göstermişlerdir (32). Yeni kemoterapi ilaçları içeren kombinasyon tedavilerin çalışmaları devam etmektedir. Sisplatin + irinotekan uygulanan hastalarda %51'e varan cevap oranları bildirilmiştir. Myelosupresif etkisi ve gastrointestinal yan etkileri majör toksisitesidir (33). Dosetaksel, sisplatin içeren faz II bir çalışmada cevap oranı % 37 ve genel sağkalım süresini 9 ay olarak tespit edilmişler. Fakat %79 gibi yüksek oranda grade

3-4 nötropezi izlenmiştir (34). Doseetaksel+cisplatin+5-FU (DCF) ile cisplatin+5-FU'nun (CFU) karşılaştırıldığı faz III çalışmada cevap oranı DCF kolunda CFU ya göre anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir (%37 ye karşın %25). Fakat DCF kolunda %95 oranında kemik iliği toksitesi gözlenmiştir (35). Mide kanserlerinde mevcut KT semalarıyla %50-70'lere varan cevap oranları bildirilmesine rağmen, çoğunlukla parsiyel cevap söz konusudur ve yaşam sürelerinde belirgin uzama gözlenmemiştir. Randomize çalışmalarında sonuçları tartışmalıdır ve kullanılan protokollerin birbirine kesin üstünlüğü gösterilememiştir. Bu durumda yeni ilaçların denenmesi ve tedavinin bireyselleştirilmesi gündeme gelirken hedefe yönelik tedavi ajanlarının KT kombinasyonlarına eklenmesi ile etkinliğinin arttığını gösteren faz II çalışmaları vardır. Anjiogenez inhibitör olan bevasizumab (anti-vasküler endotel büyüme faktör) + irinotekan+ cisplatin kombinasyonu kullanılan faz II çalışmada cevap oranı %46 ve genel sağkalım 12 ay olarak bulunmuştur (36). Ayrıca her-2 pozitif metastatik mide karsinomunda TOGA çalışması ile ilk defa bir hedefli tedavinin(trastuzumab) faydalı olduğu gösterilmiştir. Ayrıca yakın zamanda bevasizumab ile de yapılan bir faz III çalışma yayınlanmıştır. 'AVAGAST' çalışmasında primer sonlanım noktasına ulaşılmasa da, ileri evre mide kanserinde kemoterapiye eklenen bevasizumab'ın progresyonsuz sağkalım süresi ve genel yanıt oranını anlamlı olarak arttırdığı gösterilmiştir.(37)

Diğer malignansilerde olduğu gibi mide kanserlerinde de normal ve tümörlü dokunun antijenik farklılıkları araştırılarak, bu farklılıklardan yararlanarak immünoterapi yöntemleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. İmmünolojik ajanlar, tek başlarına veya diğer KT ajanlarıyla birlikte hem ilerlemiş hastalığın tedavisinde, hem de kombine tedavinin bir parçası olarak adjuvan amaçlı mikroskobik rezidüel hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Bu amaçla BCG, BCG hücre duvarı süspansiyonları, rTNF alfa, OK-432,

interferon, IL-2, levamisol, bestatin gibi bir çok ajan kullanılmaktadır (38-39). Ancak bu çalışmaların çoğunda hasta sayısı azdır ve yeterince randomize kontrollü çalışma yoktur.

EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ RESEPTÖRÜ (EGFR)

EGFR, 170 kilodalton ağırlığında hücreSEL büyüme, diferansiyasyon ve proliferasyonu etkileyen çeşitli sinyal ileti sistemlerini içeren bir glikoproteindir. Epidermal büyüme faktörü reseptörü(EGFR) yapısal olarak birbirine benzeyen, ancak fonksiyonel olarak farklı erbB1(HER1:EGFR), erbB2(HER2/neu), erbB3(HER3) erbB4(HER4) adı verilen 4 adet reseptörden oluşan reseptör Tirozin Kinaz ailesinin ilk üyesidir. Tüm bu transmembran reseptörleri modifiye tirozin rezidüleri tarafından aktive edilen intrinsek kinaz aktivitesi içerirler. Büyüme faktörlerinin reseptöre bağlanmasıyla kinaz aktivitesi uyarılır. Farklı farklı ligandlar bu reseptörlerle etkileşebilmektedir. Bu ligandlardan TGF-alfa insanlarda en yaygın olarak eksprese edilendir. Ve TGF-alfa spesifik olarak EGFR ile etkileşmektedir. Ligandın indüklediği EGFR aktivasyonu, gen ekspresyonunu aktive eden, hücre siklusunun progresyonunu ve diferansiyasyonunu sağlayan hücreSEL cevabın indüklenmesine yol açan sinyal kaskadını başlatır. Mitojenik sinyal kaskadının aktivasyonu başlıca Ras-Raf-MAPK (Rat sarkom viral onkogeni, Murin sarkom viral onkogeni, Mitojen ile aktive protein kinaz), PI3K-Akt (Fosfotidil inozitol 3 fosfat-Protein Kinaz B) ve Fosfolipaz-c gama gibi çeşitli yollarla sağlanır (40). Sinyal yolağının aberran aktivasyonunun, artmış hücreSEL proliferasyon, apoptozisin engellenmesi, tümör hücre invazyonu ve metastaz gibi pek çok tümörojenik olaya katkıda bulunduğu inanılmaktadır.

A- EGFR yapısı ve fonksiyonu

EGFR 3 majör yapısal bölgeye ayrılmıştır.

Ekstrasellüler bölge: 2 adet sisteinden zengin bölge içerir ve çeşitli EGF ilişkili büyüme faktörlerinin bağlanma yeridir.

—Transmembran segment:

—İntrasellüler bölge: Tirozin kinaz aktivitesi içerir. Bu bölgede özgün tirozin içeren aminoasit dizilimleri vardır ve fosforile olduklarında, sülfhidril (SH₂) içeren sinyal proteinleri için bağlanma bölgeleri oluştururlar. EGFR sinyal iletimi normal hücrelerde reseptör ligand etkileşimi sonucu gelişen, çok evreli bir yolak ile meydana gelir. Ligand ekstrasellüler bölgeye bağlandığında reseptör dimerize olur. Dimerizasyon reseptör ailesinin değişik üyeleri arasında homodimerizasyon veya heterodimerizasyon şeklinde olabilir. Ligand bağlanmasının ardından, reseptörün intrasellüler kısmının otofosforilasyonu sonrası, tirozin kinaz aktive olur ve intrasellüler bir dizi olay zinciri başlar. Bu da nükleustaki genleri aktive ederek hücrel cevabı indükler. EGFR-TK, çeşitli farklı substratları fosforilleyebilir ve çok sayıda sinyal yolarını aktive edebilir. Normal hücrelerde bu sinyal hücrel bölünme, migrasyon ve diferansiyasyona yol açmaktadır. EGFR ile yönlendirilen sinyaller, hücre proliferasyonu dışında anjiyogenez, invazyon, metastaz ve apoptozisin inhibisyonu da dahil olmak üzere kanser progresyonunda önemli diğer olaylarda da rol almaktadırlar(41). EGFR sinyal yolları, 50k sayıda biyolojik cevaba katkıda bulunur. Örneğin; Ras-MAP kinaz sinyal ileti kaskadı hücre bölünmesi ve hücre göçünü stimule ederek, karsinogenezde önemli rol oynar. Ek olarak EGFR'ın, ligand olmaksızın çapraz etkileşim veya transaktivasyon aracılığıyla da kendiliğinden aktive olabildiği gösterilmiştir. Stres, membran depolarizasyonu ve radyasyon, oksidan ve alkilleyici ajanlar gibi çeşitli nonfizyolojik stimuluslara bağlı olarak ortaya çıkan

transaktivasyon EGFR tirozin rezidülerini fosforilleyebilmektedir. Yine G protein reseptörleri(GPCRs), sitokin reseptörleri ve integrinler de EGFR tirozin fosforilasyonunu indükleyerek sinyal ileti yollarını aktive edebilmektedir. Örneğin sitokin reseptörlerinin büyüme hormonu tarafından indüklenmesinin, Jak2 Kinaz tarafından EGFR tirozin rezidülerinin fosforilasyonuna yol açtığı gösterilmiştir. EGFR transaktivasyonunun, MAP kinaz kaskadının aktivasyonuna ve sonuç olarak gen transkripsiyonuna yol açtığı da saptanmıştır. EGFR'ı kodlayan c-erbB geni, nononkojenik fonksiyonu bilinen ilk protoonkogendir. Tümörde EGFR ekspresyonu, 50 sayıda farklı mekanizmanın EGFR ve ligandlarını etkilemesi ile oluşabilmektedir. İnsan kanserlerinde en sık görülen mekanizma, normal EGFR'ın overekspresyonu, buna bağlı olarak gen amplifikasyonu veya transkripsiyon anormallikleri ve otokrin aşırı EGF ve TGF-alfa üretimidir(43).

B- Artmış EGFR ekspresyonu:

Preklinik çalışmalarda artmış EGFR ekspresyonu ile tümörögenesis arasında güçlü bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. Bazı vakalarda tek başına EGFR düzeylerinin değişimi bile kanser gelişimini indüklemek için yeterli olabilmektedir. Deri, oral kavite, özofagus ve akciğerin skuamoz hücreli karsinomlarını da içeren çeşitli insan tümör hücre hatlarında artmış EGFR düzeyleri gösterilmiştir (41). Yine meme, mesane, serviks, renal, over, akciğer ve çeşitli skuamoz hücreli karsinomlarda da artmış EGFR ekspresyonu saptanmıştır. Skuamoz hücreli karsinomlarda (SCC) EGFR aşırı ekspresyonuna yol açan ana mekanizma EGFR gen amplifikasyonudur ve belli tümörlerde her hücrede 15 den fazla gen kopyası rapor edilmiştir. EGFR gen amplifikasyonu tüm SCC'lerin %60'ında saptanırken, SCC'lerin % 100'ünde üç kattan fazla artmış EGFR ekspresyonu saptanmıştır. (43)

C- Mutant EGFR'ın kendiliğinden aktivasyonu:

EGFR ekspresyonunda artışa yol açan bir diğer mekanizma da, mutasyonlar aracılığıyla EGFR aktivitesinde meydana gelen tümörojenik değişiklikler sonucunda ligand bağlanmaksızın reseptörün aktivasyonudur. İn vivo çalışmalarda ligand olmaksızın kendiliğinden EGFR aktivasyonunun transgenik hayvanlarda tümör oluşumuna yol açtığı gösterilmiştir. İnsan kanserlerinde çok sayıda EGFR delesyonu gösterilmiş olup, bu mutasyonlar reseptörün ekstrasellüler ligand bağlayan bölgesinin ekspresyonunu değiştirir.

En yaygın mutasyon genin yeniden düzenlenmesine veya alternatif mRNA bağlanmasına yol açan EGFR vIII mutasyonudur. Bu hem EGFR ekspresyon düzeyini hem de reseptör fonksiyonunu etkiler ve sonuç olarak reseptörün tirozin kinaz bölgesi kendiliğinden aktive olur. Bu özel EGFR mutasyonu gliomaların % 50'den fazlasında, over kanserlerinin %75'inde, meme kanserlerinin % 27'sinde ve KHDAK (Küçük hücreli Dışı Akciğer Kanseri)'lerinin %15'inde gösterilmiştir(44).

D- Otokrin Stimülasyon

EGFR aktivasyonunda bir diğer önemli mekanizma da, kanser hücrelerinde EGFR otokrin stimülasyonu ve artmış ekspresyonudur. Çeşitli gözlemlerden yola çıkarak EGF benzeri büyüme faktörlerinin tümör oluşumunda etkili olduğu gösterilmiştir. İn vitro çalışmalarda EGF veya TGF-alfa aşırı üretimi fare fibroblastlarında transformasyonu ve tümör gelişimini indüklemiş, sıçanlardaki meme tümörlerinde EGF bağımlı spontan büyüme gösterilmiştir. Baş-boyun, özofagus, mide, pankreas, over, serviks, meme tümörleri, KHDAK, böbrek ve mesane tümörleri gibi pek çok kanserde hem EGFR hem de

ligandlarının aşırı ekspresyonu gösterilmiştir. Bu artmış ekspresyonun, tümör hücrelerinin büyüme hızını arttırması, kanser hücreleri için sitosidal olaylara karşı koruyucu etkilere yol açması ve dolayısıyla klinik olarak daha agresif hastalıkla sonuçlanması olasıdır. İnsan kanserlerinde artmış TGF-alfa ve EGFR ekspresyonunun baş-boyun skuamoz hücreli karsinomları için kötü prognostik gösterge olduğu ve prostat karsinomunun ileri evre hastalığa progresyonuna yol açtığı gösterilmiştir. (45)

E- EGFR ve tümör progresyonu,

Gen amplifikasyonu, mutasyon, artmış EGFR ekspresyonu, otokrin stimülasyon veya bu mekanizmaların kombinasyonu ile ilişkili olarak EGFR aktivitesindeki değişiklikler tümör spesifik proseslere katkıda bulunmaktadır.

Apoptozis

Programlı hücre ölümü olan apoptozis her ne kadar intrensek hücre içi bir olay olsa da, hormonlar, büyüme faktörleri ve hücre yüzey reseptörleri gibi ekstrensek faktörler tarafından düzenlenebilmektedir. EGFR aktivasyonunun, hasara uğramış ya da malign özellik kazanmış hücrelerin sağkalımına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. İnvitro meme adenokanser ve embriyonal renal epitel hücre hatlarında ölüm reseptörleri olarak adlandırılan fas reseptörleri tarafından indüklenen apoptozis bloke edilebilmekte ve hücre sağkalımı sağlanabilmektedir. Benzer şekilde TGF-beta'nın sıçan hepatositlerinde ve

epitelyal hücrelerinde indüklediği apoptozis sıklığı, belirgin olarak azalmaktadır. EGFR ailesinin diğer bir üyesi olan her-2 aşırı ekspresyonu insan meme kanseri hücrelerinde paklitaksel tarafından indüklenen apoptozisi bloke ettiği gösterilmiş olup bu da hücre siklusunun progresyonu ile sonuçlanmaktadır. Buna karşılık Anti-EGFR monoklonal antikoları, ligand bağlanmasını ve reseptör aktivasyonunu engelleyerek belli kanser hücre hatlarında apoptozisi indükleyebilir. Yine EGFR tirozin kinaz inhibitörleri ile veya antisense EGFR tedavisi ile de EGFR sinyal ileti sistemi bloke edilerek apoptozis indüklenebilir. Anti-EGFR tedavi ile DNA hasarı yapan sitostatiklerin kombinasyonunun, hücre siklusunun progresyonunu inhibe edip apoptozisi indükleyerek sinerjistik antitümöral etkiye yol açtığı gösterilmiştir. Örneğin setuksimab ile irinotekan kombinasyonunun EGFR blokajını ve apoptozisi belirgin olarak arttırdığı gösterilmiştir.

Anjiogenez

Yeni damar oluşumu devam eden tümör gelişimi için esastır ve EGF ve TGF-alfa bu olaya katkıda bulunmaktadır. Bu EGFR ligandlarının sıçan hücre hatlarını invitro olarak etkilediği ve invivo olarak da hamsterlerde anjiogenezi indüklediği gösterilmiştir. Setuksimab ile VEGF gibi anjiogenik faktörlerin ekspresyonunun azaltılarak invitro ve invivo olarak anjiogenez inhibe edilebilmiştir. Bu tedavi ile aynı zamanda tümör büyümesi ve metastaz için önemli olan kan damarlarının involüsyonu ve azalması sağlanmıştır. Hücresel adezyon ve invazyon anjiogenez ile birlikte EGFR ligandları, tümör hücre motilitesi, adezyonu ve invazyonuna da etki eder. Bu ligandlarca arttırılan tümör hücre invazyonu anti-EGFR tedavi ile engellenebilmektedir. Tirozin kinaz inhibitörü meme kanseri hücre hatlarında EGF ile indüklenen invazyonu inhibe ettiği ve hücresel migrasyonda rolü olan Matriks Metalloproteinaz-9 (MMP-9) ekspresyonunu azalttığı

gösterilmiştir(46). Sonuç olarak bu bulgular artmış EGFR ekspresyonunun kötü prognozla ilişkili olduğunu destekler niteliktedir. EGFR ve ligandları, tümör büyümesi ve sağkalımda da kritik role sahiptir. Hücrel proliferasyon, apoptozisin engellenmesi, anjiogenez ve metastaz gibi tümör spesifik olayları etkiledikleri ve kanser tedavisinde ana hedefleri oluşturdukları gösterilmiştir.

F- EGFR ekspresyonunun prognostik etkileri

Çeşitli karsinomlarda artmış ekspresyonu ve tümör progresyonu ile ilgili olaylarla ilişkisi nedeniyle EGFR ekspresyonunun prognostik bir belirleyici olabileceği düşünülmektedir. Değişik çalışmalarda EGFR ekspresyonunun kemoterapi ve radyoterapi yanıtına etkisi araştırılmıştır. Çok sayıda çalışmada, birçok tümör tipinde EGFR durumunun bağımsız prognostik faktör olduğu gösterilmiştir. Mide kanserinde artmış EGFR düzeyleri genellikle ileri evre hastalığa progresyon ile ilişkili bulunmuş(47). Benzer şekilde over kanserinde başlangıçta EGFR negatif primer tümörün, metastaz durumunda EGFR pozitif hale geldiği gösterilmiştir. Servikal kanserde EGFR aşırı ekspresyonunun malign transformasyonun erken dönemde göstergesi olduğu görülmekte ve EGFR pozitifliği sıklıkla metaplazi displazi gibi hastalığın erken evresinde saptanmaktadır. EGFR ekspresyonunun meme kanserindeki prognostik ve prediktif değeri halen tartışmalıdır. Lenf nodu pozitif olgularda prognostik önemi olduğu belirtilmektedir. Bazı tümörlerde artmış EGFR düzeyleri sıklıkla agresif hastalık ile ilişkili bulunmuştur. KHDAK'de artmış EGFR ekspresyonu yüksek metastaz oranı, kötü tümör diferansiyasyonu ve tümör proliferasyon oranında artış ile ilişkili bulunmuştur(48). Benzer şekilde renal kanserlerde kötü diferansiye tümörde daha yüksek EGFR düzeyleri saptanmıştır. Baş boyun SCC'li olgularda yapılan çeşitli çalışmalarda, artmış EGFR ekspresyonu daha büyük tümör, daha

ileri evre hastalık, azalmış hastalısız sağkalım ve genel sağkalım oranları ile ilişkili bulunmuştur. Mide kanserlerinde EGFR pozitifliğinin, infiltratif özellikte kötü diferansiye adenokarsinom ile ilişkili olduğu ve tümör invazivliği ve metastaz ile iyi korele olduğu gösterilmiştir. KHDAK olgularında sağkalım parametreleri ile ilişkisi bulunmamıştır.(48) Metastaz potansiyeli yüksek kolon kanseri hücrelerinde daha düşük metastatik potansiyele sahip kolon kanseri hücrelerine oranla belirgin olarak daha yüksek EGFR düzeyleri saptanmıştır(49). EGFR ilişkili tümör gelişiminde otokrin aktivasyon yollarının önemli mekanizmalar olabileceği gösterilmiştir. EGFR ve ligandlarının(TGFalfa, EGF) birlikte ekspresyonunun prognostik anlamı ise tartışmalı kalmıştır. Prostat kanserli olgularda daha geç evre hastalık, daha sık metastaz gözlenmiştir. Mide kanserli vakalarda ise tümör invazyon derinliği ile korele bulunurken, koeksprese eden infiltratif tümörlerin daha büyük boyutta olduğu gözlenmiştir. Genel olarak çok sayıda alışma EGFR-TGF alfa birlikte ekspresyonunun kötü prognostik olduğunu göstermiştir.

mTOR ‘ Mammalian target of rapamycin’

mTOR(Mammalian target of rapamycin) mTOR rapamisin ‘in memelilerdeki hedefi olan serin/treonin kinaz dır ve memeli hücrelerinde eksprese edilir(50). Uygun olmayan mTOR aktivasyonu birçok tümörün patogenezinde rol oynamaktadır(51,52).

mTOR Yapı ve Fonksiyonu

İki fonksiyonel mTOR kompleksi, mTOR kompleks 1 ve 2 proteinlerinden oluşmaktadır. Kompleks 1 rapamisin üzerinden inhibitör etki ile hücresel işlevler gösterir. Kompleks 2 ise rapamisine yanıtli değildir ve tam olarak tanımlanamamıştır.

Fonksiyonunun hücre iskeletinin dinamiklerinde olduğu düşünülmektedir. Normal hücrelerde, mTOR 'un üstyolaklarının pozitif ve negatif düzenleyicilerinin aktivitelerini kontrol eder(51). Pozitif düzenleyiciler; IGF-1,IGFR-1,HER ailesi ve ligandları, VEGF ve ligandlarıdır ve bunlar PI3K-Akt ve Ras-Raf metabolik yolları ile sinyalleri mTOR a iletir. Negatif Düzenleyiciler: PTEN, TSC 1,TSC 2,LKB-1.(53)

mTOR çok işlevli sinyal ileten bir proteindir. Birçok üstakım yollardan sinyal olarak bu bilgileri birçok altakım yollara regüle ederek iletir. (54)

Rapamisin'in işlevi; immunofilin FKBP-12 ile etkileşerek mTOR aktivitesini bloke etmektedir.(54)

PI3K/PTEN/AKT sinyal yolları kanserde sıklıkla deregüle olur. Bu yolak hücre büyümesi, sağkalımı ve bölünmesinde hayati rol oynamaktadır. Bu nedenle bu yolların içerikleri son dönemlerde kanser tedavisinde ilgi çekici hedefler olarak ortaya çıkmıştır. Klinik öncesi ve klinik bir çok çalışmada PI3K nin kendisi ya da onun downstream efektörleri örneğin AKT1, PDK1 ve mTOR u inhibe eden birçok ilaç araştırılmaktadır. Birçok yeni ajan arasından rapamisin türevi olan temsirolimus ve everolimus son faz klinik gelişime ulaşmıştır ve metastatik böbrek hücreli kanser tedavisinde FDA onayını almıştır. Bu bileşikler FKBP12 ye bağlanarak mTOR kompleks -1 i inhibe eder ve hem tümör büyümesi ve hem de anjiogenezinin supresyonuna sebep olur(55).

mTOR 289 kDa ağırlığında bir serin/treonin kinazdır ve fosfatidilinositol-3-fosfat(PI3K) protein ailesinin bir üyesidir.(56) Bu PI3K protein ailesi farklı birçok mekanizma aracılığıyla hücre döngüsünün kontrol noktalarında rol oynamaktadır.(57) Akt aktivasyonu başlangıçta ilk olarak membranlar arası reseptör tirozin kinaz ile ekstrasellüler ligand(büyüme faktörleri örneğin IGF-1, EGF, TGF-a vs) arasındaki interaksiyon ile başlatılır.(58-59) Reseptör tirozin kinazın internal domaininin

otofosforilasyonu PI3K aktivasyonunu başlatır, ardından sonuç olarak Akt aktive olur. Akt aktivasyonu kromozom 10 üzerindeki tümör supresör PTEN(phosphatase and tension homologue) geni tarafından potansiyel olarak inhibe edilir. (60) Sıklıkla PTEN kaybı artmış Akt aracılı sinyal oluşumu, hücre büyümesi ve bölünmesi ile sonuçlanır. Akt ın downstreami tuberoz skleroz kompleks 1 ve 2 dir.(TSC1 ve TSC2) (61-62) Bunlar Akt tarafından inhibe edilir böylece mTOR kompleks downstream salınım inhibisyonuna yol açar. 2 ayrı mTOR kompleksi mevcuttur. mTOR C1 ve mTOR C2. Sadece mTORC1 rapamisin analogları tarafından inhibisyona hassastır. (63) mTOR C1 aktive olduğunda birçok mediatör aracılığıyla (p70S6K ve 4E-BP1) transkripsiyonun artışı başlatır.(64) mTOR kinaz aktivite inhibe edilerek, mTOR inhibitörleri farmakolojik olarak ulaşılabilen dozlarda , mTOR kompleksinde, mTOR ve MLST8 birleşmesini önler ve böylece downstream sinyallerini inhibe eder(65).

Temsirolimus

Tek Ajan Temsirolimus: Faz 1 Data

NCI (National Cancer Institute) National Kanser Enstitüsü tarafından antitümör aktivitesi ilk tanımlanan mTOR inhibitörü ajandır(66).

Prelinik modellerde; ajanın glioma ,meme ve prostat kanseri taşıyan murin ksenograflarda çoğalmayı azalttığı görüldü(67-69).

Temsirolimusun değerlendirildiği faz 1 çalışmada; ilerlemiş kanseri olan 24 hasta haftalık intravenöz 7.5 ile 220 mg/m² arasında değişen dozlarda tedavi edildi(70).

Doz sınırlayıcı toksisite 220 mg/m² dozda; akne benzeri döküntü ,stomatit ve mukozit idi. Tedavi sonlandıktan sonra bunların hepsinin düzeldiği görüldü. Başlangıç

niteliğindeki bu deneyimde, biri metastatik renal hücreli karsinom biri meme kanserli iki hastada kısmi yanıt alındığı görüldü. Özellikle metastatik RCC olan hastanın önceki IL-2 ve IFN alfa tedavileri ile dökümente edilmiş progresyonu mevcuttu.

Temsirolimusun mRCC da onaylanmış diğer ajanlarla kombinasyonu

mRCC ile ilgili birçok faz 1 çalışmada temsirolimusun diğer VEGFR i hedefleyen ilaçlarla kombinasyonu araştırıldı. Fischer ve arkadaşları refrakter mRCC li hastalarda temsirolimus ve sunitinibin beraber verildiği bir çalışma yayınladılar(71).

Maalesef, başlangıç dozu 15 mg iv haftalık temsirolimus ve günlük ağızdan 25 mg sunitinib 4 hafta kullanıp 2 hafta ara vererek kullanan ilk üç hastanın ilk kohort unda hastalarda iki doz sınırlayıcı toksisite farkedildi. Bu bilgiler ışığında, sonuçta çalışma yarıda kesildi.

Temsirolimus ve bevasizumab kombinasyonunun mRCC tedavisinde daha iyi tolere edildiği görüldü(72,73). Faz I/faz II bir çalışmada, önceki iki basamak tedavilerle ilerlemiş berrak hücreli mRCC hastalar alındı. Faz I kısmında alınan 12 hastanın yedisinde en iyi yanıt olarak kısmi yanıt gözlemlendi(72). Faz I kısmında görülen doz kısıtlayıcı toksisiteler; hipertrigliseridemi ve mukozit idi ve önerilen bevasizumab dozu iki haftada bir 10 mg/kg iv ve temsirolimus haftalık 25 mg iv olarak saptandı. Faz II deneyimde 40 hastanın 35 indeki datalarda; 4 hastada (%16) kısmi yanıt ve 18 hastada (%72) stabil hastalık vardı.(73) Kayda değer klinik fayda nedeniyle bu rejimi değerlendiren Faz IIIb çalışma başlatıldı. INTORACT çalışmasında, toplam 800 hasta ya bevasizumab ve interferon α veya bevasizumab ve temsirolimus tedavi kollarına randomize edildi(74).

mRCC de sorafenib ve temsirolimus kombinasyon tedavileri için az miktarda data bulunmaktadır, melanomda bu iki tedavinin birlikte kullanıldığı bir faz I/II çalışmada bu tedavi rejimi değerlendirilmiştir. Bu çalışmada evre IV veya rezeke edilemeyen melanomlu

hastalar sorafenib ve haftalık temsirolimus tedavilerini almıştır. Sonuç olarak maksimum tolere edilen dozlarda 600 mg ağızdan günlük sorafenib ile 25 mg temsirolimus iv haftalık dozları belirlenmiştir(75). 21 değerlendiren hastanın 9 tanesinde stabil hastalık görüldü. Doz sınırlayıcı toksisiteler; trombositopeni , el-ayak sendromu, karaciğer fonksiyon testlerinde anormallikler ve hipertrigliseridemi idi. Bu kombinasyon tedavisi mRCC de randomize faz II BEST çalışmasında değerlendirildi(76).

Bir faz I/II çalışmada, mRCC li 71 hastada temsirolimus IFN α ile kombine edildi.(77) Bu çalışmada, önerilen faz II doz en nihayetinde 15 mg iv haftalık ve haftada 3 kez 6 MÜ IFN- α sc uygulama olarak belirlendi. Daha yüksek dozlarda stomatit, halsizlik, bulantı/kusma gözlemlendi. Bu önerilen dozda tedavi edilen 39 hastada kısmi yanıt oranında %8 idi. Stabil hastalık %36 hastada 24 haftadan uzun süreli gözlemlendi. Ortanca hastaliksız sağkalım 9.1 aydı. Bu bilgilerin ardından mRCC de temsirolimus kullanılan faz III bir çalışma başlatıldı(78,79).

Diğer hedefli tedavi ajanlarıyla birlikte temsirolimus

Rekürren malin gliomlu hastalarda temsirolimus ve erlotinib in birlikte verildiği bir faz I/II çalışma gerçekleştirildi. Bu çalışmanın faz I bölümünde 22 hasta alındı. Doz sınırlayıcı toksisiteler döküntü, mukozit, karaciğer fonksiyon test anormallikleri idi. Maksimum tolere edilebilen dozlar erlotinib için oral 150 mg günlük ve temsirolimus 15 mg haftalık intravenöz olarak belirlendi. Metastatik meme kanserinde temsirolimus hormonal tedavilerle örneğin letrozol ile araştırıldı. Daha önce yüklü tedaviler almış olan 92 hastada bu kombinasyonun iyi klinik fayda ile sonuçlandığı görüldü.(Tam yanıt kısmi yanıt ve stabil hastalık toplamı %82)(80).

Metastatik Böbrek Hücreli Tümörde Temsirolimus için Faz III Datalar

Daha önce tedavi almamış kötü risk (Kötü risk kriterleri: Serum LDH üst limitin 1.5 katından yüksek, hemoglobin düzeyi düşük, düzeltilmiş kalsiyum 10mg/dl den yüksek, randomizasyondan ilk teşhise kadar olan sürenin 1 yıldan kısa olması, Karnofsky performans skorunun 60 ya da 70 olması, birçok organ metastaz olması) özellikleri olan 626 hastada yapılan bir çalışmada tüm histolojik alt tipler ve tedavi edilmiş beyin metleri olan hastalar da dahil edildi. Hastalar üç kola randomize edildi. Birinci kol; tek başına temsirolimus, İkinci kol; temsirolimus ve interferon alfa, üçüncü kol; İnterferon alfa idi. Birincil sonlanım noktası genel sağkalımdı. Ortanca genel sağkalım tek başına interferona karşılık temsirolimus kolunda 7.3 aya karşılık 10.9 ay olarak saptandı.(HR 0.73 %95 Güvenlik Aralığı 0.58-0.92; p=0.008) Cevap oranları arasında tedavi kolları arasında anlamlı farklılık yoktu. Bu bilgi ile NCCN temsirolimus'u kötü risk faktörü olan hastalarda kategori 1 öneri olarak belirledi(81).

EVEROLİMUS

TEK AJAN EVEROLİMUS: FAZ I DATA

Everolimusun kanser tedavisindeki aktivitesinin belirlenmesinden önce, ajan yaygın olarak kardiyak ve renal transplant hastalarında çalışılmıştır(82,83). İlk faz I çalışmalarda , hastalar haftalık 5 ile 30 mg dozlarda tedavi edildi. Doz kısıtlayıcı toksisite gözlenmedi ve haftalık 70 mg ve günlük 10 mg dozları belirlendi. Everolimus yarı ömrü yaklaşık 30 saat olduğundan haftalık kullanımı mümkünken, günlük alımının daha iyi hedef inhibisyonu gösterdiği klinik öncesi çalışmalarda gözlemlendi(84).

Metastatik Renal Hücreli Karsinomda Everolimus ile Kombinasyonu Onaylan Diğer Ajanlar

Temsirolimus gibi diğer sitotoksik ve hedefli ajanlarla kombinasyonu araştırılmaktadır. Metastatik Renal Hücreli Karsinomda everolimus ve sorafenib kombinasyonu faz 1 çalışmada değerlendirildi. Bu çalışmadaki hastalar çoğunlukla berrak hücreli histolojiye sahipti ve önceki immünoterapi ile progresyon görülmüştü. Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü hedefli tedaviler ve veya everolimus olarak 18 hasta çalışmaya alındı maksimum tolere edilen doz sorafenib 400 mg günde iki kez ve everolimus 10 mg gün önerilen faz 2 doz olarak belirlendi. Doz kısıtlayıcı toksisiteler pulmoner emboli, trombositopeni ve pnömonitisiydi(85). Benzer bir çalışma renal hücreli karsinomda sunitinib ve everolimus kombinasyonu ile yapıldı. Haftalık 20 mg oral everolimus ile 37.5 mg sunitinib faz 2 çalışmalar için önerildi. Çalışmada kısmi yanıt elde edilen 5 hastadan üçü berrak hücreli dışı histolojiye sahipti(86).

Bevasizumab ve everolimus kombinasyonunda mRCC de araştırıldı. İleri evre solid tümörlü faz 1 çalışmada, faz 2 çalışma için önerilen doz bevasizumab 10 mg/kg intravenöz iki haftada bir ve everolimus 10 mg oral günlük olarak belirlendi(87). Çalışmadaki 14 hastadan 7 sinde en iyi yanıt olarak stabil hastalık vardı. Arkasından faz 2 çalışmada mRCC' li 59 hasta çalışmaya alındı. 8 haftalık tedaviyi tamamlayan hastaların%21 inde cevap, ayrıca %69 unda da stabil yanıt elde edildi. 3-4 derece proteinüri bu çalışmadaki hastaların %19 unda görüldü, diğer toksisiteler düşüktü. Temsirolimusta olduğu gibi everolimusta da bevasizumablı kombinasyonlar randomize çalışmada şu anda değerlendirilmektedir. RECORD-2 çalışmasında 360 hasta bevasizumab ile everolimus ya da IFN-alfa kombinasyonuna randomize edilmiştir. Şubat 2012 de bu çalışmanın tamamlanması beklenmektedir(88).

DİĞER HEDEFLİ AJANLAR VE SİTOTOKSİK TEDAVİLERLE EVEROLİMUS

MRHK 'da imatinib ve everolimus verilen faz 2 çalışmada PDGFR blokajı eklenmesinin everolimusun antitümör etkisini arttırabileceği düşünülerek tasarlandı(89). 9 adet hastanın yedi tanesinde kısmi yanıt ve iki tanesinde progresif hastalık görüldü. Bu rejimin orta derece toksisitesi dikkat çekmekteydi. 3.derece pnömonitis, anjioödem, halsizlik, trombositopeni gözlemlendi.

Başka bir faz 1 çalışmada bevasizumab, everolimus ve erlotinib kombinasyonu uygulandı. 34 hastalık kohortta maksimum tolere edilen ve önerilen faz 2 doz bevasizumab 10mg/kg iki haftada bir, everolimus 10mg gün ve erlotinib 75 mg olarak belirlendi(90). Bu rejim ile nefrotik sendrom, kardiyak iskemi, tromboz gibi birçok ciddi toksisite görüldü. Benzer efor VEGFR, mTOR ve EGFR ye yönelik tedavi bevasizumab, everolimus ve panitumumab ile denendi. Doz kısıtlayıcı toksisite olarak döküntü ve mukozit görüldü ve bevasizumab 10 mg/kg iki haftada bir, everolimus 5mg günlük ve panitumumab 4.8mg/kg iki haftada bir dozları belirlendi. 9 tane alınan hastadan sekizinde en iyi yanıt olarak stabil hastalık görüldü.(91)

Meme kanserinde birçok çalışmada HER 2 yönelik tedavi ve everolimus araştırıldı. Paklitaksel, trastuzumab ve everolimus kombinasyonu faz 1 çalışmada daha önce yüklü tedaviler almış 13 hastada uygulandı. Tüm hastalarda ara analizlerde klinik yanıt(kısmi ya da stabil hastalık) saptandı. Ayrıca şu ana dek doz kısıtlayıcı yan etki gözlemlenmedi(92).c49

Dual EGFR VE HER2 kinaz inhibitörü lapatinib in everolimus ile kombinasyonu faz 1 çalışması devam etmektedir(93). C51

Östrojen reseptör pozitif meme kanserinde, letrozol ve everolimus kombinasyonu araştırıldı(94). 30 hastada standart doz letrozol 2.5 mg gün ve everolimus 10 mg gün ile farmakokinetik bir etkileşim görülmedi. Randomize faz 2 çalışmada letrozol tek başına ya da everolimus ile kombine olarak çalışılmaktadır(95).

Metastatik Böbrek Hücreli Karsinomda Everolimusun Faz 3 dataları

Metastatik RHK da bir faz 2 çalışmada everolimus 10mg günlük dozda kullanıldı(96). Bu çalışmadaki hastalar ya hiç tedavi almamış ya da sadece bir seri tedavi almış olan hastalardı. 41 hasta çalışmaya alındı, 39 tanesi güvenlik için 37 si ise yanıt açısından değerlendirildi. Klinik sonuçlar dikkat çekici idi: Ortanca hastalıksız sağkalım ve genel sağkalım sırasıyla 11,2 ay ve 22.1 aydı. Toplamda yaklaşık hastaların %70'inde hastalıksız sağkalım 6 ay aşmaktaydı. Bu cesaretlendirici bilgiden sonra, everolimus daha önce sorafenib ve veya sunitinib alan hastalarda faz 3 çalışma ile araştırıldı.(RECORD-1)(97) Bu uluslararası çalışmada, hastalar ya everolimus(n=272) ya da plaseboya(n=138) randomize edildi. İki koldaki hastalarda en iyi destek tedavileri aldılar. Birincil sonlanım noktası hastalıksız sağkalımdı. İlk bilgiler hastalıksız sağkalımda 1.9 aya karşılık 4 ay olarak everolimus lehineydi. (HO 0.3, %95 Güvenlik Aralığı 0.22-0.40; p<0.0001) 6 aylık aralıklarla, hastalıksızlık olma olasılığı everolimus ile %26 iken plasebo ile %2 idi. Genel sağkalımda farklılık saptanmadı. Ortanca genel sağkalım everolimus ve plasebo için sırasıyla 14.78 ve 14.39 aydı.(HO 0.87 %95 Güvenlik Aralığı 0.65-1.17;p=0.177)(98)

mTOR İnhibitörlerinin Güvenlik Bilgileri

Everolimus ve temsirolimusun çalışıldığı faz 3 çalışmalardan gelen toksisite bilgilerinde farklı sınıf etkiler dikkat çekmiştir(77,78)

Her iki ajanda hastaların metabolik profilini etkilemiştir. Hiperkolesterolemi temsirolimus alan hastaların %24'ünde ve everolimus alan hastaların %76'sında görüldü. Benzer şekilde, hiperglisemi hastaların sırasıyla %26 ve %50'sinde görüldü. Bu hastaların büyük kısmında hafif dereceli olmasına rağmen, az miktarda derece 2-3 toksisite de gözlenmiştir. Bu etkilerin mekanizmaların oldukça kompleks olduğu görülmektedir. Hayvan modellerinde, rapamisinin de novo lipid sentezini inhibe ettiği görüldü. Buna paralel olarak ekzojen lipid oksijenizasyonunda artış mevcuttu. Aynı modellerde, glikojen sentezi ve insülin bağımlı olmayan glukoz transportunda azalma görüldü. Bu da mTOR inhibitörleri ile gözlemlenen hiperglisemiyi potansiyel olarak açıklamakta idi. Klinik öncesi çalışmalarda rapamisin 'in insülin aracılı lipin fosforilasyonunu bloke ettiği gösterildi(99). Lipin hiperlipidemi ve adiposit farklılaşmasında insülin bağımlı olarak defekt oluşturmakta idi.

mTOR inhibitörleri ile enfeksiyon dışı pnömonitiste artış görüldü. RECORD-1 çalışmasında everolimus alan hastaların %14'ünde görüldü(98). 3.derece enfeksiyon dışı pnömonitis gelişen 10 hastadan 8 tanesinde steroid tedavisi ile tam düzelme sağlandı. Bu bilgi potansiyel olarak ölümcül olabilen bu toksisitenin erken tanınmasının önemini vurgulamaktaydı. Everolimus alan 245 hasta ve plasebo alan 132 hastanın radyolojik görüntüleri seri olarak tekrar incelendiğinde görüntülemenin tek başına kullanımının doğruluğunu tartışmaktaydı. Everolimus alan hastalarda plasebo ile kıyaslandığında yeni bulguların görülmesi klinik pnömonitis tanısı olmamasına rağmen daha yüksek oranda görüldü.(%38.9 'a karşılık %15.2)(100). Bronkoskopik değerlendirme gerçekleştirmeye çalışılmalı, enfeksiyöz sebepler dışlandıktan sonra steroid tedavisi uygulanmalı. Bu algoritma temsirolimus tedavisi içinde kullanılabilir. Orijinal asıl temsirolimus çalışmasındaki hastaların takiplerinde yalnızca 4 pnömonitis saptanmıştı(101). Bununla

birlikte, bu olgulardan birinde derece 3 ten derece 5 e toksisite ilerlemiş ve muhtemel tedaviye bağlı ölüm gelişmişti.

mTOR inhibitörlerine bağlı diğer dikkat çeken yan etkiler stomatit ve döküntü idi. Bu güne kadarki çalışmalardaki tecrübelerde, bu toksisitelerin standart destek tedavilerle kontrol edilebilir olduğu görüldü(101). Bu tedavilerle hematolojik yan etkilerde gözlemlendi. Temsirolimus için yayımlanmış öneri mutlak nötrofil sayısı 1000/ μ L den, trombosit sayısı 75000 / μ L den düşük olmadığı ve derece 3/4 olmadığı sürece dozun azaltılmaması idi(101). Ayrıca hematolojik toksisite derece 2 ya da daha az olana kadar tedavinin tekrar başlanmaması önerilmektedir. Benzer strateji everolimus içinde geçerlidir. Klinisyenler everolimus ve temsirolimus ile birlikte olabilecek ilaç etkileşimleri açısından da dikkatli olmalıdır. Güçlü CYP3A4 uyarıcı ve inhibitörleri ile kullanımlarından kaçınılmalıdır(102). Ayrıca bu ajanların metabolizmasını etkileyebilen greyfurt suyundan kaçınılması konusunda hastalar uyarılmalıdır.

Optimal Sıralama ve Sinerji

Tedavi seçeneklerinin çeşitli dizilişleri olması nedeniyle, mTOR inhibitörlerinin mevcut kılavuzlarda nasıl kullanılacağı kesinleşmemiştir. Şu anda, everolimus ve temsirolimus' un klinik pratikte kullanımı faz 3 çalışmalarındaki kullanımlarına paralel şekilde uygulanmaktadır. Örneğin, everolimus kullanımı önceki VEGF' e yönelik tedaviye direnç geliştiğinde kullanılmaktadır(97). Bununla birlikte, temsirolimus daha önce hiç tedavi almamış düşük riskli hastalara önerilmektedir(78).

Birçok çalışma bu paradigmaları değiştirebilir. Örneğin, RECORD-3 çalışması farklı bir dizayna sahiptir: Hiç tedavi almamış metastatik renal hücreli karsinom hastaları ya sunitinib ya da everolimusa ilk tedavi olarak randomize edilmiştir, takiben karşı kola cross-over edilmiştir.(103) Birincil sonlanım noktası hastalısız sağkalım olarak ve çalışma

gücü her iki rejimin birbirine aşağı olmadığını belirlemek için dizayn edilmiştir. Eğer çalışma pozitif sonuçlanırsa, birinci basamak tedavide sunitinib ve everolimusun herhangi birinin kullanılabilceğini gösterecektir. mTOR inhibitörleri ayrıca birinci basamakta VEGFR yönelik tedavi alanlarla kombine olarak kullanılması gündeme gelecektir. Şu anki pratiğimiz olan IFN-alfa ile bevasizumab kombinasyon önerisi INTORACT ve RECORD-2 çalışmaları ile sırasıyla temsiromis ve everolimus ile kombine bevasizumab tedavisine değiştirilebilir.(74,88) .INTORACT bir faz 3b çalışma olarak yapılandırılmıştır ve toplam 800 hasta alınması beklenmektedir. Buna karşılık RECORD-2 (bir randomize faz 2 çalışma) yaklaşık 360 hastaya içermektedir. Birincil tamamlanma tarihler iki çalışma için Şubat 2012 olarak belirlenmiştir. Tedavi kararında INTORACT çalışmasının daha hissedilebilir etkisi olacağı tahmin edilmektedir. Daha öncede vurgulandığı gibi, BeST çalışması da VEGFR hedefli tedavilerle mTOR inhibitörü kombinasyonunu içeren kolları içermektedir(76). Bu çalışmanın 4 kolunun ikisi sorafenib ile temsirolimus ve bevasizumab ile temsirolimusu içermektedir. Bununla birlikte, bu faz 2 çalışmada her kola 90 hasta düşmektedir.

Metastatik Renal Hücreli Karsinomda optimal ikinci basamak tedavinin ne olacağı konusunda birçok soru işareti bulunmaktadır. Şu ana kadar edinilebilen bilgiler, mTOR inhibitörlerinin ikinci basamakta somut kullanımını içermemektedir. Sunitinib, sorafenib veya bevasizumab ile tedavi edilmiş 645 hastalık geriye dönük bir çalışmada, 218 hasta ikinci basamak tedavi almıştır(104). Bunların 24(%11)'ü ya everolimus ya da temsirolimus; çoğunluğu da VEGFR hedefli ikinci basamakta tedavi almıştır. VEGFR hedefli tedavilerle tekrar kullanımını destekleyen bilgiler geriye dönük serilerden çıkarılmıştır. Gerçi faz 2 ve devam eden faz 3 çalışmalar bu aşamada axitinib kullanımını destekleyebilmektedir(105,106). Daha önce sunitinib ile başarısız olmuş hastalarda devam eden randomize bir çalışmada sorafenib ve temsirolimus karşılaştırılmaktadır(107). Bu

çalışmanın Mayıs 2011 de toplam 480 hasta gerçekleştirilmesi beklenmektedir. Şu anda, VEGFR hedefli tedavilere dirençli hastalardaki temsirolimus aktivitesini dökümente eden tek bilgi geriye dönük bilgilerdir(108).

mTOR inhibisyonunun Direnç Mekanizmaları

mTOR inhibitörleri genellikle önemli klinik fayda gösterirken, ajanların genellikle birincil sitostatik olduğu görülmektedir. Birçok olguda, hastalık ilerlemesi kanıtlanamadan oluşmaktadır. Bu durumda, bilimsel komitenin mTOR inhibisyonuna olan direnci belirleme üzerine odaklanması başarılı ikincil tedavilerin başlatılması açısından kritik önem taşımaktadır. mTOR' un kendisini kodlayan genlerin mutasyonların rapamisine direnci uyaracağı gösterilmiştir(109,110). Bundan başka, mTOR kompleksinin aşağı akım hedeflerindeki(S6K1) mutasyon benzer etkiye sahiptir. Paradoksik olarak, Akt gibi üst yolların aktivasyonu mTOR inhibitörlerine olan duyarlılığı arttırmaktadır. Bu beyin, prostat, meme kanser hücrelerinden temsirolimus ile görülmüştür(111,112). Bir adım ötesinde mTOR ile Akt inhibisyonunun kombine kullanımının klinik etkilerini gözlemlemek ilginç olabilecektir. Akt inhibitörleri mFHK' da makul derecede etkinlik gösterecek gibi görünmektedir. Perifosine ajanı ile ilgili faz 2 datalar birikmektedir(113,114). Şu anda perifosine ile temsirolimus kombinasyonu ile ilgili faz 1 çalışma devam etmektedir.(115)

NÖROENDOKRİN TÜMÖR TEDAVİSİNDE MTOR İNHİBİTÖRLERİ

Nöroendokrin tümörler salgıladıkları peptidler aracılığı ile hormonal sendromlara yol açabilmektedir(116). Bu tümör tipi nadir olmasına karşılık insidansında artış olduğu

görülmektedir. Metastatik düşük gradlı nöroendokrin karsinomlar somatostatin analogları ile hormonal şikayetlerin kontrol altına alınabilmesine karşın genellikle kemoterapiye dirençli ve kür mümkün olmayan tümörlerdir(117,118).

Temsirolimus ve everolimus 'un her ikisinde ilerlemiş NET tedavisinde çalışılmıştır. Haftalık temsirolimus infüzyonu bir faz 2 çalışmada %5.6 genel yanıt oranı göstermiştir(119). Başka bir faz 2 çalışmada ise, karsinoid ya da adacık hücreli tümörlü hastalarda günlük everolimus ve aylık intravenöz octreotid(bir somatostatin analogu) kombinasyonunun bir yıla kadar %20 genel yanıt oranı, altmış haftalık ortanca hastalıksız sağkalım süresi ve kabuledilebilir tolerasyon görülmüştür(120).

RADIANT-1 faz 2 çalışmasında metastatik pankreatik NET 'lü sitotoksik tedavi sonrası ilerlemiş hastalarda everolimus değerlendirilmiştir(121). Hastalar iki kola ayrılmıştır. Birinci kol tek başına everolimus 10 mg /gün ve ikinci kol everolimus ve 28 günde bir octreotid LAR intramusküler tedavilerini almıştır. Çoğu hastaya çalışmaya girmeden 2 yıldan fazla süre önce teşhis konulmuştu ve her iki kolda da %90'ın üzerinde karaciğer metastazları mevcuttu. Genel yanıt oranı birinci kol için%9.6 ve ikinci kol için%4.4 saptandı. Stabil hastalık birinci kolun %68 'inde ve ikinci kolun %80'inde gözlemlendi. Ortanca hastalıksız sağkalım birinci kolda 9.7 ay ve ikinci kolda 16.7 ay; ortanca genel sağkalım birinci kol için 24.9 ay iken ikinci kolda ulaşılamadı. Tedavi her iki kolda da genellikle iyi tolere edildi. Bu cesaretlendirici sonuçları takiben iki çalışma başlatıldı. RADIANT-2 isimli randomize, çift kör, plasebo kontrollü, çok merkezli faz 3 çalışmada ilerlemiş karsinoid tümörlü hastalarda octreotid LAR ve everolimus veya plasebo araştırılmıştır(122). RADIANT-3 ise randomize, çift kör faz 3 çalışmada pankreatik NET 'de hasta alımı yakında tamamlanmıştır(123).

MEME KANSERİNDE mTOR İNHİBİTÖRLERİ

Meme kanserinde endokrin ve HER-2 hedefli ajanlarla tedaviye direnç birçok hastada gelişmektedir(124,125). mTOR inhibitörlerinin ilerlemiş meme kanserinde klinik aktivite gösterdiği görülmüştür(126,127). Letrozolün temsirolimus ile kombinasyonunun letrozole üstünlüğü olmadığı faz 3 çalışmada gösterildi ve ara analizler sonucu çalışma sonlandırıldı(128). Bu sonuçlar daha iyi biyobelirteçlere dayanan hasta seçimlerinin olması gerektiğini gösterebilir.

Everolimusun haftalık ya da günlük kullanımının metastatik meme karsinomundaki etkinliğinin karşılaştırıldığı bir çalışmada sürekli günlük kullanımın daha iyi tümör küçülmesi sağladığı saptandı(127).

Bir neoadjuvan faz 2 çalışmada hangi hastaların mTOR inhibitörü ve endokrin tedavi kombinasyonuna yanıt verebileceği predikte edilmeye çalışıldı. Bu çalışmada, everolimus ve letrozol ile tedavi edilen hastaların yanıt oranlarının tek başına letrozol alanlara göre klinik palpasyonla daha üstün olduğu görüldü(128). Tümör proliferasyonunun inhibisyonu ki-67 pozitif tümör hücrelerinde azalma everolimus ve letrozolün beraber kullanılması ile daha belirgindi. (Başlangıca göre 15.gündeki ortanca azalma everolimus grubunda %90.7 iken, plasebo kolunda %74.8 idi.P=0.0002) mTOR aktivitesinin inhibisyonu (pS6K düzeyinde azalma) kombinasyon tedavisi alanlarda gözlemlendi(128). Metastatik meme karsinomlu olup 4 aylık tek başına letrozol tedavisi sonrası ilerleyen ya da stabil kalan hastalarda bu kombinasyonun iyi tolere edildiği ve aktif olduğu bu hasta grubunda gösterildi(129). Devam eden faz 1 çalışmalarda sitotoksik kemoterapi ve her-2 hedefli tedavilere everolimus eklenmesi araştırılmaktadır. Bu kombinasyonun her-2 pozitif metastatik meme kanserinde trastuzumab direncini önleyeceği ya da geciktireceği umulmaktadır(130,131). Ya günlük ya da haftalık

everolimus haftalık kemoterapi ve trastuzumab ile uygulanmaktadır. İlk sonuçlar oldukça cesaretlendiricidir: Taxan ve herceptine dirençli hastalarda everolimus kombine edilmesi iyi tolere edildi. Bir randomize , çift kör, plasebo kontrollü faz 3 çalışmada (BOLERO-1) her-2 pozitif lokal ileri veya ilerlemiş meme kanserli hastalarda ilk basamak tedavide everolimusun herceptin ve paclitaxel kombinasyonuna eklenmesi araştırılmaktadır(132).

LENFOMA TEDAVİSİNDE MTOR İNHİBİTÖRLERİ

Lenfomaların mTOR inhibitör tedavisine hassas olduğu görülmektedir. Everolimus (Günlük 10 mg/gün,p.o,progresyona kadar) 145 tane önceden tedavi almış agresif veya nadir lenfomalarda ; 77 agresif NHL, 41 indolent NHL, 8 T hücreli NHL ve 17 Hodgkin Hastalığı'nda araştırıldı(133). Hastalar öncesinde ortanca 4 tedavi almıştı. Ortanca yanıt oranı %33 (48/145), 5 hastada tam yanıt ve 43 hastada kısmi yanıt görüldü. Ortanca progresyona kadar geçen süre tüm hastalarda 4.3 aydı. Everolimus genellikle iyi tolere edildi ve derece 3-4 yan etkiler; %16 anemi, %17 nötropeni, %35 trombositopeni,%1 hiperkolesterolemi,%5 hipertrigliseridemi idi. Hodgkin Hastalığı olan 17 hastanın 15 i yanıt için değerlendirilebildi. 7(%47) de kısmi yanıt görüldü(134). Açık uçlu bir faz 2 çalışma (PILLAR-1) daha önce tedavi edilmiş mantle hücreli lenfomalı bortezomib refrakter ya da tolere edemeyen hastalarda araştırılmaktadır(135). Devam eden randomize, çift kör, çok merkezli faz 3 çalışmada (PILLAR-2)yaygın büyük B hücreli lenfomalı kötü risk faktörleri olan birinci basamak rituximab ve kemoterapi sonrası adjuvant olarak everolimus kullanımı araştırılmaktadır(136).

Temsirolimus 25 mg haftalık iv uygulanması, NHL alttiplerinde aktivite göstermektedir. Cevap oranları toplam 56 hastada yaygın büyük B hücreli lenfomada %36 ve foliküler lenfomada %56 olarak görüldü. Faz 2 temsirolimus çalışmasında nüks eden

mantle hücreli lenfomada(MCL) 1 tam yanıt ve birkaç kısmi yanıt gözlemlendi. Yine geniş açık uçlu faz 3 çalışmada 175 mg haftada 3 kez temsirolimus takiben ya 75 mg veya 25 mg haftalık ile araştırmacının seçtiği herhangi bir tedavi 162 refrakter yada nüks MCL tanılı hastada karşılaştırıldı. Ortanca yanıt oranı temsirolimus 175mg/75mg alan grupta anlamlı olarak yüksekti. (%22 ye karşılık %2, p=0.0019) Ortanca hastalıksız sağkalım temsirolimus 175 mg/75 mg ile 4.8 ay, temsirolimus 175mg/25 mg ile 3.4 ay ve araştırmacının seçimi ile 1.9 aydı. Genel sağkalımda komite temsirolimus ile ilgili nüks/refrakter MCL hastalarda Avrupada onaylanması için olumlu görüşlerini bildirmiştir(137).

Ridaforolimus, 52 tane daha önce yoğun tedaviler alan AML, KML, MDS, ALL, KLL, AMM, MCL gibi farklı hematolojik maligniteli hastalarda faz 2 çalışmada değerlendirilmiştir. Kısmi yanıt oranı %10 (AMM li 7 hastanın 2 si ve MCL li 9 hastanın 3 ü) ve stabil hastalık/hematolojik düzelme %40 oranında görüldü.(AMM li 22 hastanın 4'ünde, MDSli 2 hastanın 2'sinde, AMM'li 7 hastanın 3 ünde, KLL li 8 hastanın 6 sında, Thücreli lenfomalı 2 hastanın 2 sinde ve MCL li 9 hastanın 4 ünde). Ridaforolimus iyi tolere edildi(138).

Genel olarak bu cesaretlendirici sonuçlar hem NHL hem de Hodgkin Hastalığında mTOR inhibitörleri ile klinik çalışmalar yapılmasını sağlamıştır.

MİDE KARSİNOMUNDA MTOR İNHİBİTÖRLERİ

Everolimus daha önce tedavi görmüş metastatik mide kanserli hastalarda bir çok merkezli faz 2 çalışmada araştırılmıştır(139). 54 hasta alındıktan sonraki çalışma datalarının analizinde, hastalık kontrol oranı (tam yanıt, kısmi yanıt ve stabil hastalık oranları en iyi genel yanıt olarak RECIST e göre objektif hastalık değerlendirildi) %55,

ortanca hastaliksız sağkalım 2.7 ay ve tolerasyon iyi idi(140). Bu sonuçlar ileri evre mide karsinomlu hastalarda everolimusun ileri değerlendirilmesi gerektiğini desteklemektedir. Bir randomize, çift kór ,çok merkezli faz 3 çalışmada(GRANITE-1)1 ya da 2 seri kemoterapi sonrası ilerlemiş mide karsinomlu hastalarda en iyi destek tedavi ve everolimus, en iyi destek tedavi ve plasebo ile karşılaştırılması planlandı(141).

KÜÇÜKHÜCRE DIŞI AKCİĞER KARSİNOMUNDA mTOR İNHİBİTÖRÜ

Everolimus tekli tedavi olarak daha önce 2 seri kemoterapi alan evre IIIB/IV küçükhücre dışı akciğer karsinomunda bir faz II çalışmada araştırıldı(136). D83 Hastalar iki kola ayrıldı. Birinci kol daha önce platin bazlı kemoterapi almıştı(n=42), ikinci kol ise öncesinde kemoterapi ve tirozin kinaz inhibitörü(n=43) almıştı. Genel yanıt oranı %4.7(birinci kolda %7.1 ve ikinci kolda %2.7) Bu sonuçlar everolimus KHDAK tedavisi için ileri araştırmalar gereksimine yol açtı.

EGFR tirozin kinaz inhibitörü gefitinib ile everolimus kombinasyonu 10 tane ilerlemiş KHDAK da faz I çalışmada araştırıldı. Bu kombinasyonunun PI3K/Akt/mTOR yolaklarını inhibe etmesi sinerjik ya da additiv aktivite oluşturabilir hipotezine dayanıldı. Everolimusun günlük 5 mg ve 10 mg lık dozları değerlendirildi. 10mg doza derece 3 stomatit ve derece 5 hipotansiyon doz kısıtlayıcı toksisiteler nedeniyle devam edilmedi. Bununla birlikte, gefitinib ile 5 mg dozu tolere eden hastaların 2 sinde kısmi yanıt görüldü(142). Bu sonuçlar arkasından Faz II alışmaları getirdi. Sigara içmiş olan evre IIIB/IV KHDAK li hastalarda 2 kohort oluşturuldu. Birincisinde daha önce tedavi almamış hastalar ,ikincisinde daha önce platin ve docetaxel almış olan hastalar vardı. Sonuçta, birinci kohortta 11 ve ikincisinde 14 olan toplam 25 hastada kısmi yanıt oranı %17 bulundu(143).

Everolimusun TKI ve diğler ajanlarla kombinasyonu birçok faz I/II çalışmada araştırılmaktadır. Örneğin, bir faz II çalışmada everolimus ve erlotinib daha önce tedavi almış KHDAK hastalarda araştırılmaktadır(144). Bir faz I/II çalışmada everolimus ile karboplatin /paclitaxel ve bevasizumab ilk sıra tedavide araştırılmaktadır(145).

Sonuç olarak, moleküler biyolojideki gelişmeler kanser hücrelerindeki regülasyonu bozulmuş yolakları hedefleyen ajanların geliştirilmesine neden olmaktadır. mTOR hücre büyümesi, çoğalması ve damar oluşumunda merkezi düzenleyici olarak rol oynamaktadır. mTOR hücreyel yolaklarda aktive olduğundan ve bu yolakların birçok kanser türünde regülasyonu bozulduğundan, mTOR inhibitörlerinin tek ajan olarak kullanımı birçok tümör tipinde antikanser aktivite gösterme potansiyelindedir. Ek olarak, mTOR hücreyel olaylarda ana rol oynadığından tümör hücreleri hücreyel metabolizma, çoğalma, sağkalım ve progresyon gibi hücreyel olaylara bağlı olduğunda, Mtor inhibitörlerini diğer antikanser ajanlarla kombine edilmesi tümör hücrelerinin bu ajanlara hassasiyetini arttırabilmektedir. Bu kombinasyonların bu ajanlara ilave aktivite oluşturması ya da belki bu ajanlara direnç gelişiminin önlenmesi ve geciktirilmesi sağlayabilmektedir. Devam etmekte olan çalışmalar mTOR inhibitörlerinin tek başına ve kombinasyon olarak kanserdeki aktivitelerini daha iyi tanımlayacaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma kapsamında İstanbul Bilim Üniversitesi Tıbbi Onkoloji Bilim dalı'nda takip edilmiş olan ve mide dokusu örnekleri Patoloji Anabilim dalı tarafından incelenerek histolojik olarak tanısı konulmuş mide adenokarsinomu tanısı alan hastalar dahil edildi. Hastaların mevcut mide dokusu bloklarında IHK(immünohistokimya) yöntemi kullanılarak saptanan mTOR, EGFR ekspresyonu ile hastalık özellikleri, tedavi yanıtı ve prognoz arasındaki ilişki araştırıldı. Bu amaçla hastalara ait parafin mide dokusu bloklarından HE(Hemotoksilen eosin) kesitler incelenerek uygun bloklardan hazırlanan kesitlere IHK uygulandı. Her-2 durumu FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) testi ile belirlendi.

İmmünohistokimyasal çalışma prosedürü

%10 formaldehid ile fikse edilmiş parafin bloklara gömülü dokulardan 2 µ kalınlığında kesitler pozitif işaretli lamlara alındı. Lamlar etüvde 56°C' de bir gece bekletildi. Daha sonra şalelere alınarak 2 kez 15 dakika ksilen, 3 kez 5'er dakika %96'luk alkolde bekletilerek deparafinize edildi ve distile suya alınarak rehidrasyon sağlandı. Decloaking Chamber (Biocare medical, pressure cooker)'a 500 ml distile su eklendi.%10 luk, sitrat buffer (ph= 6.0)solusyonuna alınan lamlar, antijen geri kazanım solusyonunda yıkılarak chamber 'a yerleştirildi.125° C 30 saniye ardından 90° de 10 saniye bekletildikten sonra 10-20 dakika boyunca oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. TBST (Tris Buffered saline plus Tween 20) de yıkandıktan sonra kenarları kurulanıp doku sınırları pappen kalemle çizildikten sonra inkübasyon kabına dizildi. Her dokunun üzerine

%3'lük hidrojen peroksit(H₂O₂) damlatılıp nemli ortamda 10 dakika beklenerek endojen peroksidaz blokajı sağlandı. Distile suda yıkandıktan sonra tamponlu fosfat buffer (PBS) solusyonunda 5 dakika bekletildi. Silkelenerek tekrar inkübasyon kabına alınan kesitlere 1/300 oranında dilüe edilmiş mTOR (Gene Tex, y391, GTX61244), 1/60 oranında dilüe edilmiş EGFR(Novocastra, EGFR.25, NCL-EGFR-384) primer antikorları damlatıldı. 2 saat bekletildi.Daha sonra lamalar,içinde PBS bulunan şalelere alındı. Silkelenerek inkübasyon kabına alınan kesitlere link-lable damlatılıp 20 dakika bekletildi.PBS4' e alındıktan sonra kesitlere straptavidin damlatılarak 20 dakika inkübasyon kabında bekletildi. Tekrar PBS'ye alınıp 1 ml distile su 1 damla AEC buffer ve 2 damla AEC kromojen 1 damla konsantre hidrojen peroksit damlatılarak hazırlanan solusyon kesitlere damlatıldı. Zemin boyanmasını önlemek amacıyla boyanma gözlenen örnekler distile su şalelerine alındı. Mayer hematoksilen ile 2 dakika tutularak karşıt boyaları yapıldı. Musluk suyunda morartma işlemi tamamlandıktan sonra su bazlı kapama vasatı(aquesmount) ile kapatıldı.

Tüm HE ve İHK boyalı kesitler kör olarak incelendi. Tüm olgularda iki antikor da invaziv tümör ve çevre mide dokusunda ayrı ayrı değerlendirildi. mTOR için sitoplazmik, EGFR için sitoplazmik ve membranöz olarak boyanma elde edildi. Kontrol olarak mTOR için prostat dokusu, EGFR için plasenta dokusu kullanıldı. Boyanma yoğunlukları farklı olduğu için skorlama yapıldı. Semikantitatif olarak pozitif boyanan hücre yüzdesi ve boyanma yoğunluklarını çarpımı sonucu elde edilen sonuç immünreaktif skor(İRS) olarak kaydedildi. Boyanma yoğunlukları 0 (negatif), 1 (zayıf pozitif), 2(orta yoğunlukta pozitif), 3(kuvvetli pozitif); pozitif boyanma yüzdesi ise 0(<%5),1(%5-25), 2(%26-50), 3(%51-75), 4(>75) olarak derecelendirildi. Elde edilen değerler temel alınarak IRS 0-3 arası 0, IRS 4-

6 arası 1+, IRS 7-9 arası 2+, IRS 10-12 arası ise 3+ olarak kaydedildi. IRS sonucu 0 veya 1+ ise negatif, 2 veya 3+ ise EGFR ve m TOR pozitif olarak değerlendirildi

İstatiksel Analiz

Genel sağkalım kemoterapi başlangıcından ölüm ya da son değerlendirmeye kadar geçen süre olarak hesaplandı. Progresyonsuz sağkalım; hastalık stabilizasyonunun sağlandığı, tedavi başlangıcından progresyona kadar geçen süre olarak hesaplandı. Hastalısız sağkalım başlangıçta metastazı olmayan hastalar için hesaplandı ve mide kanserinin ilk tanı konduğu tarihten hastalığın metastatik olduğu tarihe kadar geçen süre olarak belirlendi. İstatistiksel analizler için SPSS programı kullanıldı. Sağkalım süreleri ve karşılaştırılmasında Kaplan-Meier yaşama analizi ile yapıldı. Nitel değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki-Kare analizi kullanıldı. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Eğer beklenen değer 5 ten az olduğu iki göz varsa; 'fisher's exact test' p değeri kullanıldı.

BULGULAR

Sunulan çalışma 2008-2011 yılları arasında İstanbul Bilim Üniversitesi Tıbbi Onkoloji Polikliniğinde takip edilen 40 mide adenokarsinomlu olguda retrospektif olarak yapılmıştır. Bu olgulardan 1 tanesi çift primer tümörünün olması, 4 tanesi takiplerinde nüks etmeyen Evre II hastalık olması, 2 tanesi dosya verilerine ulaşılamaması ve 3 tanesi de patoloji bloklarına ulaşılamaması nedeniyle çalışmadan çıkarılmıştır. Çalışmaya alınan tüm hastalar ya başlangıçta metastatik hastalığa sahiplerdi ya da takipleri sırasında metastatik olmuşlardı. Analiz yapıldığında olguların %60'ı(n=18) eksitus olmuştur.

Olguların yaşları 34 ile 85 arasında değişmekte olup ortanca yaş $58,5 \pm 15,3$ yıldır. Olguların %67(n=20) si erkek ; %33(n=10) ü kadındır. Metastazlarından itibaren ortanca takip süresi $12,1 \pm 9,2$ ay (minimum 2 maksimum 25,3 ay) %95 güven aralığı 10-17 ay; metastazlarından itibaren ortanca sağkalım süresi $12,7 \pm 7,3$ ay(minimum 2, maksimum 25,3 ay) %95 güven aralığı 9,5-16,8 ay olarak hesaplanmıştır.

Başvuru anındaki evreler incelendiğinde hastaların yarısının(n=15) başlangıçta metastatik olduğu görüldü. Evre IIIC hastalık %16,7(n=5), evre IIIB hastalık %13,2 (n=4) ve Evre IIA, IIB, IIIA olan hastaların her biri %6,7(n=2) oranında görülmüştü. Çalışma hastalarımızda evre I hastalık yoktu.

Tablo: Tanı anındaki evre durumunun dağılımı

EVRE	n (%)
IIA	2 (%6.7)
IIB	2 (%6.7)
IIIA	2 (%6.7)
IIIB	4 (%13.2)
IIIC	5 (%16.7)
IV	15 (%50)

Tümör Lokalizasyonu

Hastalarımızın %10(n=3) unda tümör özafagogastrik bileşkede lokalize iken, %13.3(n=4) ünde kardiada, %23.3(n=7) ünde antrumda, %23.3(n=7) ünde korpusta ve %20(n=6) sinde korpus ve antrum her ikisinde de saptanmıştı. Ancak %10(n=3) unda lokalizasyon belirtilmemişti.

Patolojik Parametreler

Hastaların tümör patolojilerindeki parametrelerden tümör nekrozu, kan damarı invazyonu, perinöral invazyon, lenfatik invazyon gibi parametrelerin oranları aşağıdaki tabloda belirtilmiştir.

Tablo: Patolojik parametreler

	Var n (%)	Yok n(%)	Belirtilmeyen n(%)
Tümör Nekrozu	6 (%20)	6 (%20)	18 (%60)
Kan Damarı İnvazyonu	9 (%30)	8 (%26,7)	13 (%43,3)
Perinöral İnvazyon	13(%43,3)	4 (%13,3)	13 (%43,3)
Lenfatik İnvazyon	13(%43,3)	3 (%10)	14 (%46,6)

Metastaz Dağılımı

Hastalarımızın %36,7(n=11)'sinde karaciğer metastazı mevcuttu. Hastaların %16,6(n=5)'sında karaciğer dışında başka metastaz yoktu. Akciğer metastazı %13,3(n=4)'ünde vardı. Kemik metastazı %16,7(n=5) sinde vardı. Olguların %10(n=3)'unda over metastazı mevcuttu. Sadece lokal nüks ile giden hasta oranı %6,6(n=2) ve beyin metastazı yapan hasta oranı da %6,6(n=2) olarak saptandı.

Kemoterapi

Hastaların %13,3(n=4) ü sadece en iyi destek bakım alırken ; %60(n=18) ' ı bir basamak; %13,3(n=4) iki basamak; %13,3(n=4) ü de üç basamak kemoterapi almıştı. Birinci basamakta sıklıkla DCF(Docetaxel, Cisplatin, FU) %73,3(n=23) tedavisi uygulanmıştı. I. Basamakta uygulanan diğer tedaviler sıklık sırasına göre; ECF(Epirubisin, Cisplatin, FU), CX(Cisplatin, Kapesitabin), DCX(Docetaxel, Cisplatin, Kapesitabin), DC(Docetaxel, Cisplatin), UFT(Tegafur Urasil) idi. II.Basamak tedavi alan hasta oranı %30(n=9) iken, bunların %33,3(n=3) inde bu tedavi FOLFIRI(FU, Irinotekan, Leucovorin) %22,2(n=2)'sinde kapesitabin tek başına verilmişti. Diğer II. Basamak tedaviler; X, CF, CX, DCF, XELIRI (Kapesitabin, Irinotekan) idi. III.Basamak tedavi alan hasta oranı %13,3 iken bu tedaviler ECF ya da FOLFIRI olarak seçilmişti.

EGFR, Her-2, mTOR Durumu

Hastaların her-2 testi FISH ile yapıldı. FISH pozitif olan hasta sayısı 7(%23.3) idi. EGFR için hiç boyanma olmayan %36.6(n=11), sitoplazmik boyanma olan %46.6(n=14) ve membranöz boyanma olan %16.6(n=5) şeklinde hastalar gruplandırıldı. Analiz yapılırken sitoplazmik ve membranöz boyanma olan hastalar EGFR pozitif; hiç boyanma olmayan

hastalar ise negatif kabul edildi. Bu durumda EGFR pozitif hasta sayısı 19(%63.3) olarak saptandı. mTOR hiç boyanma olmayanlar negatif, boyanma saptananlar pozitif olarak kabul edildi.

Tablo: EGFR, Her-2, mTOR Durumu

	Pozitif	Negatif
mTOR	11(%36.7)	19(%63.3)
EGFR	19(%63.3)	11(%36.7)
HER-2	7(%23.3)	23(%76.7)

Hastaların tümör dokusunda bakılan EGFR, mTOR ve Her-2 durumuna göre yapılan analizlerde elde edilen istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

Her-2 pozitif hastaların metastaz durumları ile ilgili anlamlı veriler saptandı. Bu hastaların karaciğer metastazlarının anlamlı olarak daha sık olduğu görüldü.(p:0.043)

	HER-2		TOPLAM
	Negatif	Pozitif	
KARACİĞER MET YOK	17	2	19
KARACİĞER MET VAR	6	5	11
TOPLAM	23	7	30

P=0.043

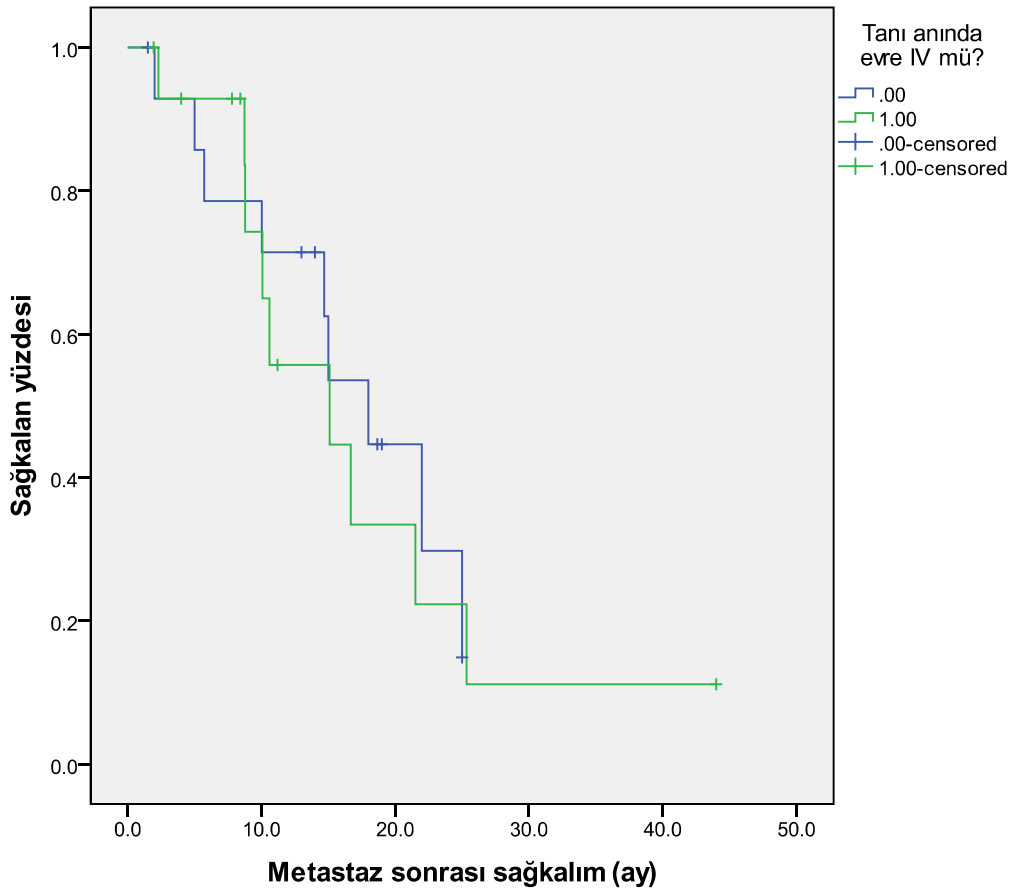
Ayrıca yine her-2 pozitif hastalarda seeding (ekme; over, periton, lokal, omentum) metastazların anlamlı olarak daha az olduğu görüldü.(p:0.009)

	HER-2		TOPLAM
	Negatif	Pozitif	
EKME MET YOK	6	6	12
EKME MET VAR	17	1	18
TOPLAM	23	7	30

p=0.009

Sağkalım Analizleri

Hastaların tanı anındaki evreleri ile metastatik hastalık olduktan sonraki genel sağkalımda fark görülmedi. Yani metastatik olmayan hastalarımızın nüks sonrası sağkalım süresinde, daha önce opere olmuş ya da olmamış ya da adjuvan tedavi almış ya da almamış metastatik olarak tanı konulanlara göre fark olmadığı görüldü. Ortanca metastazdan sonraki sağkalım süresi başlangıçta met olmayan hastalarda 18 ay iken (%95 güven aralığı: 12.7 – 23.2 ay), metastatik olarak tanı konulanlarda 15.1 ay (%95 güven aralığı: 2.8 – 27.4 ay), aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. (log-rank $p= 0.841$).



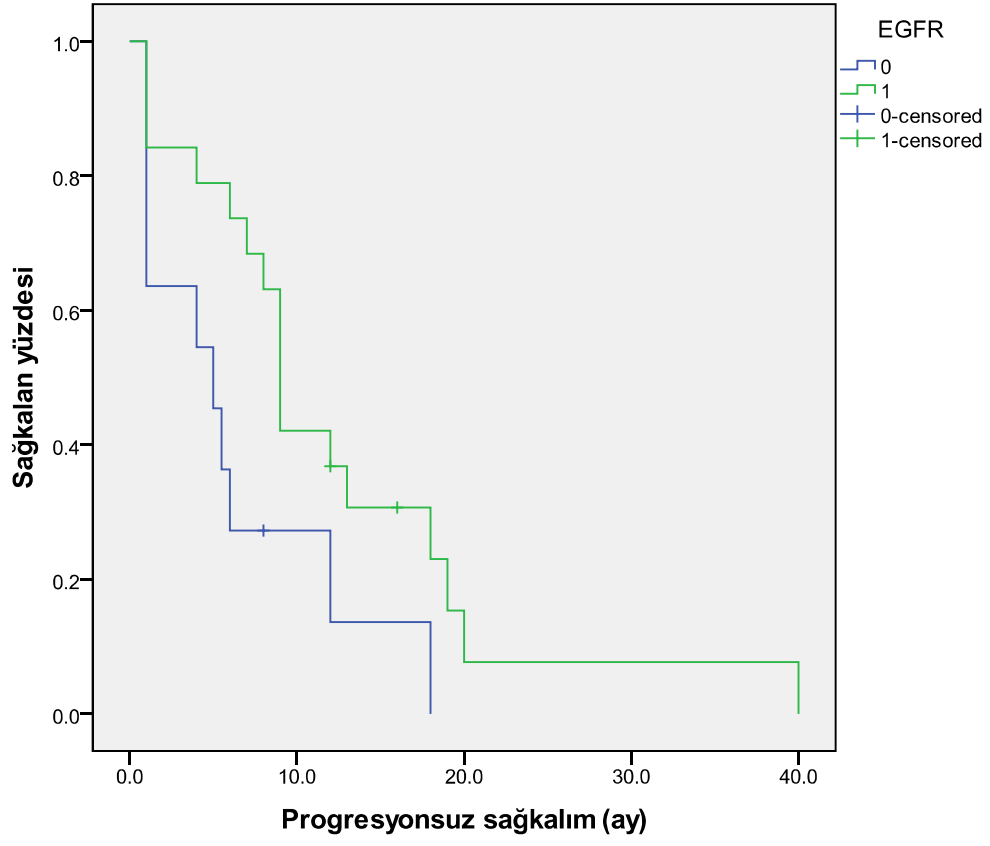
Evre IV olan ve diğeri olarak hastaları gruplayarak EGFR durumu ile olan ilişkisine bakıldı.

	EVRE		TOPLAM
	Diğeri	EVRE 4	
EGFR (-)	3	8	11
EGFR (+)	12	7	19
TOPLAM	15	15	30

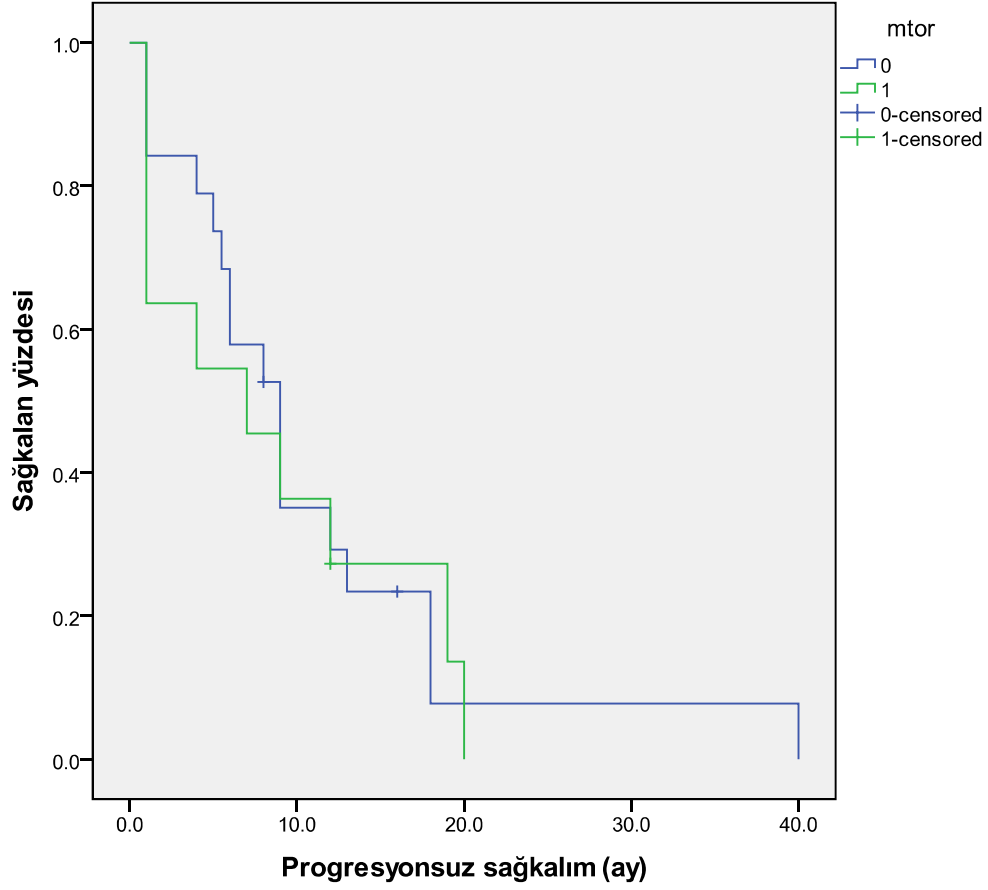
p=0.058

EGFR pozitif hastaların tanı anındaki evrelerinin negatif olanlara göre daha düşük evrede olduğu görüldü. İstatistiksel olarak anlamlılığa yakın fakat tam olarak anlamlı değildi. (p=0.058). EGFR pozitif olanlarda ayrıca hem genel sağkalımda (p:0.011) hem de progresyonsuz sağkalımda (p:0.039) anlamlı ilişki olduğu görüldü.

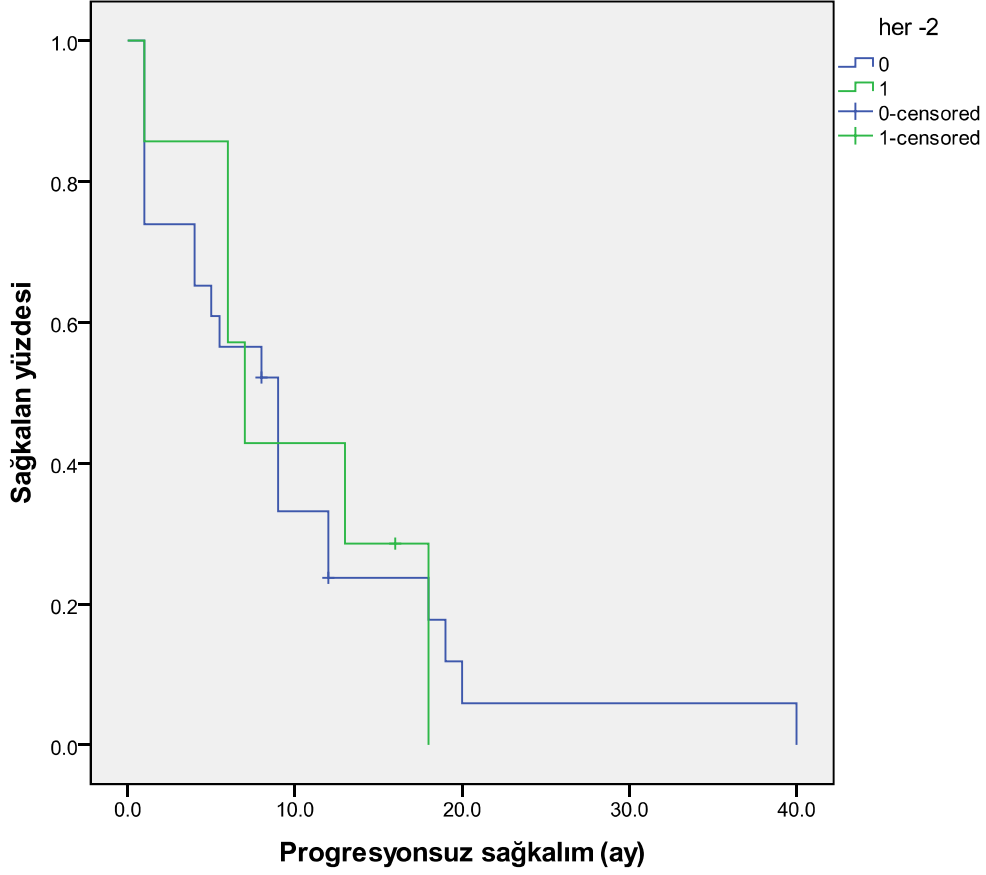
Böylece EGFR pozitif hastaların hem tanı anındaki evrelerinin daha erken olduğu hem de sağ kalımlarının diğeri göre daha iyi olduğu saptandı. Ortanca progresyonsuz sağkalım süresi EGFR negatiflerde 5 ay (%95 güven aralığı: 0.2 – 9.9 ay), EGFR pozitiflerde 9 ay (%95 güven aralığı: 7.9 – 10.0 ay), aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (log-rank p= 0.039) .



mTOR pozitiflerde ortalama sağkalım 7 ay iken(%95 güven aralığı; minimum 0 ve maksimum15,6 ay); mTOR negatiflerde ortalama sağkalım 9 ay (%95 güven aralığı, minimum 6 maksimum 11,9 ay), aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.(log-rank p=0.967)

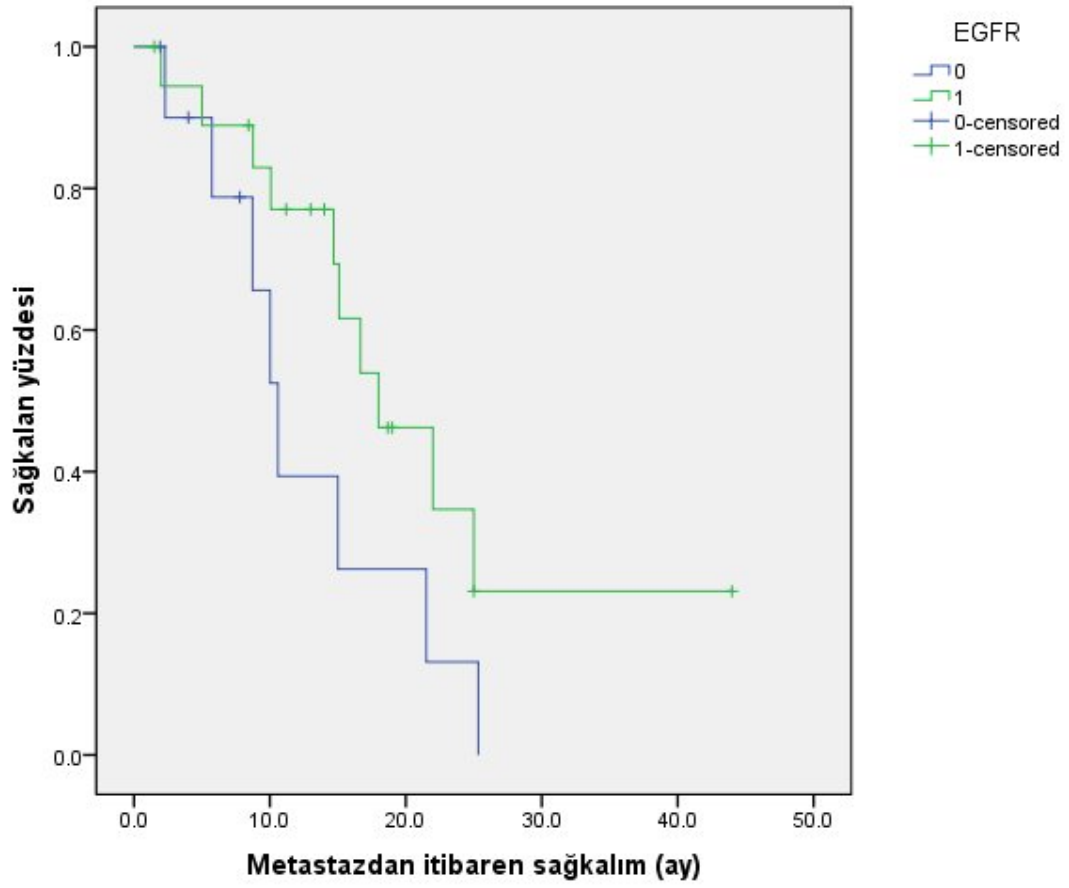


Her-2 pozitiflerde ortalama sağkalım 7 ay (%95 güven aralığı,4.4-9.56 ay) iken, Her-2 negatiflerde ortalama sağkalım 9 ay (%95 güven aralığı,6-11.9 ay) olarak saptandı. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.(log-rank p=0.967) Ancak Her-2 pozitif toplam 7 hastanın 5 tanesi trastuzumab tedavisi almıştı.



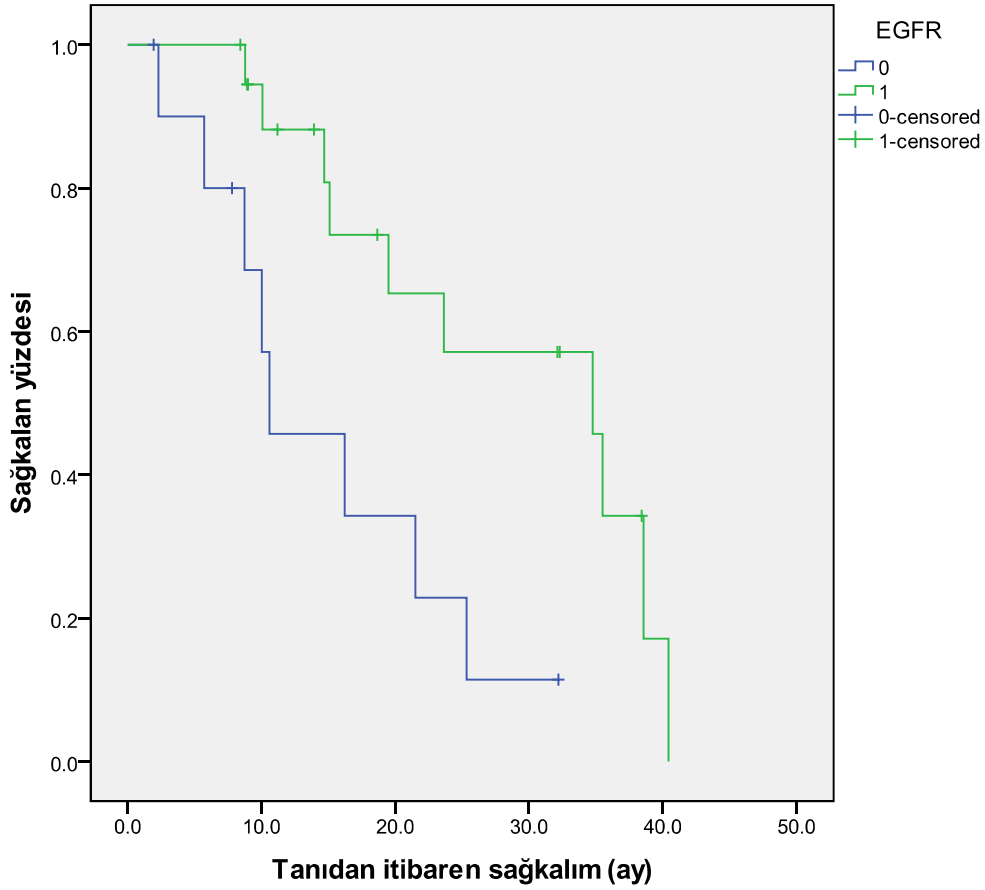
Şekil: Kaplan- Meier OS

Metastazdan sonraki ortalanca sağkalm, EGFR pozitiflerde 18 ay iken, EGFR negatiflerde 10.6 ay idi. Fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.(log rank $p=0.110$)



Tanı anından itibaren genel sağkalım hesaplanarak yani hastaların tedavilerinden bağımsız olarak tanı anında metastatik olmayan hastaları da katarak analizler tekrarlandı. Böylece adjuvan alsın-almasın prognoz ölçülmüş oldu. EGFR pozitiflerde tanı anından itibaren ortalama sağkalım 34.7 iken (%95 güven aralığı, 19.5-49.9 ay), EGFR negatiflerde ortalama sağkalım 10.6 ay (%95 güven aralığı, 1.76-19.43 ay); aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi.(p=0.01)

Kaplan-Meier Tanı OS



Çalışmamızda EGFR, Her-2, mTOR durumuna göre ne patolojik parametrelerle (nekroz, grad gibi) ne de tedaviye yanıtla ilgili anlamlı sonuçlar saptanamadı.

PATOLOJİK PARAMETRELER	EGFR		mTOR		Her-2		p(EGFR,Mtor,Her2)
	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	
Tümör Nekrozu							0.160,0.756,0.118
Var	1	5	4	6	5	1	
Yok	1	5	3	2	6	0	
Belirtilmeyen	9	9	12	3	12	6	
Taşlı Yüzük							0.579, 0.579, 0.326
Var	5	8	8	6	11	2	
Yok	6	11	11	6	12	5	
Grad							0.239, 0.666, 0.616
1	0	0	0	0	0	0	
2	3	3	4	2	5	1	
3	4	13	11	6	15	2	

Kemoterapiye Yanıt Prediksiyonu

Genel olarak kemoterapiye yanıt (tam yanıt, kısmi yanıt ve stabil yanıt)ile EGFR, mTOR, Her-2 durumu incelendiğinde anlamlı ilişki saptanmadı. Ayrıca taxana yanıt ve mTOR durumu ile; antrasikline yanıt ve mTOR durumu ile; antrasikline yanıt EGFR

durumu ile kısacası herhangi bir kemoterapiye yanıt ve biyobelirteçler arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

Tablo: EGFR ile Kemoterapiye yanıt ilişkisi

	EGFR		TOPLAM
	Negatif	Pozitif	
YANIT YOK	4	3	7
YANIT VAR	7	16	23
TOPLAM	11	19	30

P=1.0

Tablo: mTOR durumu ile kemoterapiye yanıt ilişkisi

	mTOR		TOPLAM
	Negatif	Pozitif	
KT YANIT YOK	3	4	7
KT YANIT VAR	16	7	23
TOPLAM	19	11	30

P=0.372

Tablo: Her-2 durumu ile kemoterapiye yanıt ilişkisi

	HER-2		TOPLAM
	Negatif	Pozitif	
KT YANIT YOK	6	11	7
KT YANIT VAR	17	6	23
TOPLAM	23	7	30

P=0.372

Biyobelirteçlerin birbirleriyle olan ilişkisi

Her-2, mTOR ve EGFR durumlarının birbirleriyle olan ilişkisinde anlamlılık saptanmadı

Her-2 ve mTOR

	mTOR		TOPLAM
	Negatif	Pozitif	
Her-2 negatif	13	10	23
Her-2 pozitif	6	1	7
TOPLAM	19	11	30

P=0.215

Her-2 ve EGFR

	EGFR		TOPLAM
	Negatif	Pozitif	
Her-2 negatif	9	14	23
Her-2 pozitif	2	5	7
TOPLAM	11	19	30

P=0.485

Mtor ve EGFR

	EGFR		TOPLAM
	Negatif	Pozitif	
mTOR negatif	9	10	19
mTOR pozitif	2	9	11
TOPLAM	11	19	30

P=0.140

TARTIŞMA

Çalışmamızda EGFR ekspresyonu %63,3 oranında saptanmıştır. (%46.6 sitoplazmik ve %16.6 membranöz boyanma). Literatürde bu oran %31-74 aralığında bildirilmiştir. (146,147) Bu geniş dağılımın en önemli nedeni değerlendirmelerin standart hale gelmeyişindedir. Ayrıca kullanılan kitlerin farklılığı gibi teknik sebeplerde sonuçları etkileyebilmektedir. Fakat bu konudaki en önemli neden membranöz boyanma, sitoplazmik boyanma oranlarının da farklılığından kaynaklanmaktadır. Bu konuda literatür netleşmediğinden çalışmamızda farklı boyanma oranlarına göre analizler tekrarlandı. Ancak anlamlı sonuçlar elde edilen oranlar burada sunulmuştur.

Çalışmamızda EGFR ekspresyonu görülen hastaların tam olarak istatistiksel anlamlılığa ulaşmasa da tanı anındaki evrelerinin daha düşük olduğu görüldü (p 0.058). Ayrıca hem genel sağkalımda hem de progresyonsuz sağkalımda anlamlı sonuçlar elde edildi. EGFR ekspresyonu gösteren hastaların evrelerinden bağımsız olarak tanı anından itibaren ortanca sağkalım 34.7 ay iken, göstermeyenlerde bu süre 10.6 ay idi.(p:0.01) Literatürde EGFR ekspresyonu ile prognoz arasındaki ilişki çelişkilidir. Birçoğunda kötü prognozla ilişkili bulunsa da(146,148) ; iyi prognozla ilişkili yayınlar da mevcuttur.(149,150,151,152).

2008 yılında J.Matsubara ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; ilerlemiş mide kanserli hastalarda EGFR mRNA gen ekspresyon derecesi incelenmiştir. (149) Bu çalışmada birinci basamak tedavide S1 alan hastalarda yüksek EGFR ekspresyonu

gösterenlerinin ortanca progresyona kadar geçen sürelerinin anlamlı olarak daha uzun olduğu saptanmıştı. Düşük EGFR ekspresyonu gösteren hastalarda ortanca progresyona kadar geçen süre 2.8 ay iken; yüksek EGFR ekspresyonu gösteren hastalarda 5.3 aydı. Buna karşılık birinci basamak tedavide cisplatin bazlı rejim alan hastalarda anlamlı sonuçlar saptanmamıştı. Bizim çalışmamızda EGFR durumu İHK yöntemi ile değerlendirildi ve tedavilerinden bağımsız olarak EGFR ekspresyonu pozitif olan hastaların iyi prognozlu olduğu görüldü.

2004 yılında Gamboa-Dominquez ve arkadaşları tarafından 89 hasta içeren çalışmada, yüksek EGFR membranöz boyanma gösteren mide adenokarsinomlu hastaların postoperatif sağ kalımın diğerlerine göre daha kötü olduğu gösterilmiştir. (148)

2009 yılında J-S .Kim ve arkadaşları tarafından uzak metastazı olmayan D2 diseksiyon yapılmış ve adjuvan Cisplatin ve 5FU verilmiş mide kanserli hastalarda İHK ile EGFR ekspresyonu, FISH ile gen ampfikasyonu incelenmiştir. (150) Hastaların %80.7 sinde EGFR İHK ile pozitif iken bu oran FISH ile %14 pozitif olarak bulunmuştu. EGFR ekspresyonu ile FISH pozitifliği arasında korelasyon saptanamamıştır. Bu çalışmada da bizim çalışmamızda olduğu gibi EGFR ekspresyonu ile yaş, cinsiyet, evre, performans durumu gibi klinikopatolojik özelliklerle bir korelasyon saptanamamıştır. Çoklu değişkenli analizlerde; düşük EGFR ekspresyonunun nüksü, kısa genel sağkalım sürelerini predikte eden bağımsız bir biyobelirteç olduğu gösterilmiştir.

Bununla birlikte yakın zamanda Al-Batran ve arkadaşları tarafından da ilerlemiş mide kanserinde EGFR ekspresyonunun pozitif prognostik faktör olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma 5-FU ve Folinik Asit tedavisine eklenen oksaliplatine karşılık cisplatin tedavisini karşılaştıran faz III çalışmanın retrospektif analizi idi. ASCO 'da "abstract" olarak sunulan çalışma halen yayın aşamasındadır.(151)

Ayrıca yakın zamanda yayımlanan Yan-Wei Ye ve arkadaşlarının çalışmasında Çinlilerde Ailevi Mide Karsinomlu hastaların prognozu araştırıldı. (152) Bu çalışmada EGFR ekspresyonu Ailevi Mide Karsinomlu hastalarda %49.4(40/81) iken sporadik hastalarda %30.9(25/81) idi. Anlamlı olarak EGFR ekspresyon oranları ailevi hastalarda yüksek oranda bulunmuştur.(p=0.011) Ayrıca alt grup analizlerde EGFR ekspresyonu göstermeyen ailevi hastalarda 5 yıllık sağkalım oranlarının daha kısa olduğu görülmüştür. (%45 e karşın %61, p=0.023)

EGFR ekspresyonunun prognostik ve prediktif rolü halen tartışmalıdır ve literatürde zıt görüşler öne sürülmüştür. Çalışmalardaki farklılıklar hâlihazırda mide kanserli hastalarda EGFR ekspresyonunun standart değerlendirilmesinin eksikliğinden kaynaklanabilir.

Meme kanserinde HER2 reseptörlerinin olguların %25-30 'unda aşırı eksprese edildiğinin gösterilmesi ve bu reseptöre karşı geliştirilen trastuzumab tedavisinin gerek adjuvan gerekse metastatik hastalık tedavisinde standart hale gelmesi bu reseptör durumunun tedaviyi predikte etmesi nedeniyle büyük önem taşımaktadır. Bu nedenlerle

meme kanserinde HER2 durumu İHC ile protein aşırı ekspresyonu açısından ya da FISH(IHC 2+ise) ile gen ampfikasyonu açısından rutin olarak değerlendirilmektedir.

TOGA ‘‘Trastuzumab for Gastric Cancer’’ açıküçlü, uluslararası, faz III, randomize, 24 ÷lkeden 122 merkezin katıldığı ilerlemiş Her-2 pozitif gastrik veya gastroözafageal kanserde kemoterapiye kombine edilen trastuzumab tedavisinin araştırıldığı bir çalışmadır.

Toplam 3280 hasta her-2 durumu açısından İHK ve FISH yöntemleri ile incelenmiş ve çalışmaya İHK ile 3 pozitif ya da FISH ile pozitif saptanan hastalar alınmıştır. 810 hasta (%22)i Her-2 pozitif bulunmuştur. Birebir randomizasyon sonucu birinci koldaki hastalar Kapesitabin ve cisplatin alırken; ikinci kol kemoterapiye ilave olarak trastuzumab tedavileri almıştır.

Primer sonlanım noktası genel sağkalım olan bu çalışmada 298 kemoterapi ve trastuzumab alan ; 296 sadece kemoterapi alan toplam 594 hasta randomize edilmiştir. Ortanca takip süresi trastuzumab alan kolda 18.6 ay iken, sadece KT alan kolda 17.1 aydı. Ortanca sağkalım süresi trastuzumab alan hastalarda 13.8 ay iken, sadece KT alan hastalarda bu süre 11.1 aydı.

Bu çalışma ile birlikte Her-2 pozitif ilerlemiş gastrik ve gastro-özafageal kanserde trastuzumab tedavisi KT ile birlikte yeni bir standart seçenek haline gelmiştir. Alt gruplara

bakıldığında trastuzumabdan en çok fayda gören hasta grubunun Her-2 İHK ile 2+ ve FISH pozitif ya da İHK ile 3+ve FISH pozitif olan hastalar olduğu görüldü. Ancak İHK ile 3+olup FISH negatif hastalarda tedaviden minimalde olsa yarar görmüştü.

Bu çalışma mide kanserli hastalarda hedefli bir tedavinin yararının gösterildiği ilk faz III çalışmadır ve bu çalışmadan sonra mide kanserli hastalarda HER2 durumunun değerlendirilmesi daha da önem taşımaktadır ve rutin olarak önerilmektedir. (153)

Bizim çalışmamızda HER2 FISH testi ile değerlendirilmiştir. FISH pozitif hasta oranı %23.3 olarak saptandı. Bu oran TOGA çalışmasına benzerdir. Literatürde mide kanserli hastalarda her-2 durumu %10 ile %23aralığında pozitif olarak bildirilmiştir(154,155,156,157) Kötü prognozla ilişkili bulunmuştur(158,159)

Bizim çalışmamızda HER2 pozitif hastaların ortanca sağkalımı 7 ay iken, negatiflerde bu süre 9 ay olarak saptandı ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi($p=0.967$) Fakat bu 7 tane HER2 pozitif hastanın 5 tanesi trastuzumab tedavisi almıştı. Bu nedenle sağkalım farkı saptanamamış olabilir.

Çalışmamızda HER2 pozitif hastalarda metastaz durumu incelendiğinde; bu hastalarda karaciğer metastazları anlamlı olarak daha sık olduğu görüldü($p=0.043$) Orita ve arkadaşlarının çalışmasında da benzer sonuçlar saptanmıştı (160). Ayrıca yine HER2

pozitif hastalarda anlamlı olarak "seeding" ekme metastazların negatiflere göre daha az orandagörüldüğü saptandı(p=0.009).

Çalışmamızda mTOR ekspresyonu %36.7 (n=11) pozitif saptanmıştır. Tamamı sitoplazmik olarak boyanmıştır. Literatürde Guanzhen Yu ve arkadaşları tarafından Mide kanseri tanısı almış Çinli hastalarda mTOR ekspresyon durumu ve klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi araştırılmıştır.(161) Bu çalışmada toplam 1072 mide kanserli hastada hem mTOR hem de aktif formu p-mTOR (fosforilenmiş mTOR) durumu incelenmiştir. Hastaların %50.8(n=545)'inde mTOR, %46.5 (n=499)inde p-mTOR ekspresyonu sitoplazmik ve veya membranöz boyanma pozitif bulunmuştur. Bu çalışmada mTOR ekspresyonu ile p-mTOR ekspresyonun korele olduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda sadece mTOR durumu incelendi, p-mTOR durumu değerlendirilmedi. Bahsi geçen çalışmada pozitif mTOR ekspresyon durumunun kötü prognostik faktör olduğu gösterilmiştir. Hem mTOR hem de p-mTOR yüksek düzeyde eksprese edilmesi kısa sağkalım süreleri ile; ayrıca yaş(>60y), lenf nodu metastazı, evre III/IV hastalık p-mTOR durumu ile ilişkili bulunmuştur.

Da-zhi Xu ve arkadaşları da mide kanserli hastalarda mTOR durumunu ve prognostik önemini incelemiştir.(162) 181 mide kanserli radikal rezeksiyon yapılan hastanın tümör piyeslerinde p-mTOR durumu İHK yöntemiyle araştırılmıştır. P-mTOR pozitif oranı %51.4 bulunmuştur. Ayrıca bu hastaların hem hastalısız sağkalım hem de genel sağkalım sürelerinin anlamlı olarak kısa olduğu tespit edilmiştir. Yine başka bir çalışmada 109 mide adenokanserli hastada p-mTOR durumu İHK yöntemi ile incelenmiş , %63 unda sitoplazmik boyanma, %30 unda nükleer boyanma gözlenmiştir. Sitoplazmik p-

m TOR ekspresyonu ile tümör invazyon derinliği, lenf nodu tutulumu ilişkili olduğu ek olarak kötü prognostik faktör olduğu gösterilmiştir.(163)

Bizim alışmamızda mTOR durumunun prognostik önemi ya da klinikopatolojikparametrelerle ilişkisi gösterilememiştir. Bu hasta sayısının az olması, toplumsal genetikfarklılıklar ya da teknik problemlerden kaynaklanabilir.

Hasta sayımızın az olması çalışmamızın gücünü azaltsa da, metastatik mide karsinomu gibi 5 yıllık sağkalım oranlarının çok düşük olduğu bu hasta grubunda yeni tedavi stratejilerin, prognostik parametrelerin belirlenmesi büyük önem arz etmektedir.Bu hastalıkta hedefli moleküllerin de uygun hastalarda kullanılması sağkalım oranlarını arttıracaktır. Bu nedenlerle hastalığın gelişiminde, ilerlemesinde, metastaz yapmasında yer alan sinyal ileti yolları arasındaki ilişkilerin ortaya çıkarılması, bu hedeflere karşı kullanılacak yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine sebep olabilecektir.

ÖZET

Amaç: Birçok solid tümörde EGFR, Her-2 ve mTOR ekspresyonu klinik sonuçlarla bağlantılıdır. Bununla birlikte, mide kanserinde bu biyobelirteçlerin klinik anlamı tam olarak açıklanamamıştır. Bu çalışma bu üç biyobelirtecin Türk toplumunda klinik sonuçlarını belirlemek için dizayn edilmiştir.

Gereç-Yöntem: Mide kanserli 30 hastadan elde edilen parafin kaplı doku blokları incelendi. mTOR, EGFR immünohistokimya yöntemi ile, Her-2 gen amplifikasyonu FISH yöntemi ile belirlendi. Mide kanserli hastalarda bu biyobelirteçlerin klinikopatolojik özelliklerle ve sağkalımla olan korelasyonu araştırıldı.

Bulgular : mTOR, EGFR ve Her-2 pozitiflik oranları sırasıyla %36.7, %63.3 ve %23.3 idi. EGFR ekspresyonu daha iyi progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım süreleri ile ilişkili bulundu ($p=0.034$, $p=0.01$). Her-2 durumu ve sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Fakat 7 tane Her-2 pozitif hastanın 5 tanesi zaten trastuzumab tedavisi almıştı. Ayrıca Her-2 pozitif tümörlerin her-2 negatiflere göre anlamlı olarak karaciğere daha sık metastaz yaptığı ($p=0.043$) bulundu. Buna karşılık, Her-2 pozitif tümörler periton, over, omentum yani ekme metatazlarını Her-2 negatiflere göre daha az yapmaktaydı ($p=0.009$). mTOR ekspresyonu ile sağkalım süresi arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

Sonuç: EGFR mide kanserli hastalarda iyi prognostik bir belirteçtir.

SUMMARY

Purpose: Expression of EGFR, Her-2 and mTOR have been linked to clinical outcomes in several solid tumors. However clinical significance of these biomarkers in gastric cancer remain unclear. This study was designed to detect the clinical implications of these three biomarkers in Turkish population.

Material-Methods: Paraffin -embedded tissue microarray blocks containing gastric cancer tissue obtained from 30 patients were constructed. Expression of mTOR, EGFR were detected by immunohistochemistry. Her-2 gene amplification was detected by FISH. The correlation of these biomarkers to clinicopathologic features and survival of patients with gastric cancer was studied.

Results: The overall rates of positive mTOR, EGFR and Her-2 status were 36.7%, 63.3% and 23.3% respectively. The EGFR expression was significantly correlated with better PFS(Progression Free Survival) and OS(Overall Survival)($p=0.039$, $p=0.01$) There was no significant correlation with Her-2 status and survival. But 5 of these 7 Her-2 positive patients have already took trastuzumab treatment. Also we find that her-2 positive tumors significantly metastasized much more frequently to liver than her-2 negative tumors.($p= 0.043$) In Contrast, her-2 positive tumors significantly metastasized less commonly to periton, over, omentum as seeding than her-2 negative tumors .($p=0.009$). There was no association was noted between the expression of mTOR and survival time.

Conclusion: EGFR is good prognostic marker in gastric cancer patients.

KAYNAKLAR

1. Newman E, Marcus SG, Potmesil M. Neoadjuvant chemotherapy with CPT-11 and cisplatin downstages locally advanced gastric cancer. *J GastrointestSurg* 2002;6:212-23.
2. Bleiberg H. CPT-11 in gastrointestinal cancer. *Eur J Cancer* 1999;35:371-79.
3. Akbudak İ.H. Metastatik Mide Kanserinde sisplatin, epirubisin ve urasil-tegafur kombinasyonunun etkinliği ve sisplatinli kombinasyon kemoterapilerinde ERCC'in prediktif değeri. Tıpta uzmanlık tezi, Kayseri, 2008.
4. Boeing H. Epidemiological research in stomach cancer: progress over the last ten years. *J Cancer Res Clin Oncol* 1991;117:133-43.
5. Mungan Z, Durakoglu Z ve ark. Peptik ülser, reflü özefajit ve özefagogastrik kanserlerin değisen sıklığı. *Turk J Gastroenterol*.1999;10(supp2):4.
6. Akdogan RA, Aslan M. Mide Tümörleri. Özden A, Sahin B, Yılmaz U(edi).*Gastroenteroloji*. Türk Gastroenteroloji Vakfı, Ankara 2002;107-12.
7. Göksel S. Mide Kanserinde etyoloji, patogeneze ve patoloji. Topuz E, AykanNF (edi) *Sindirim sistemi kanserleri*. İstanbul Onkoloji Enstitüsü Yayınları, İstanbul 1998:181-86.

8. Kelley JR, Duggan JM. Gastric cancer epidemiology and risk factors. *J Clin Epidemiol.*2003; 56:1-9.
9. Kubba AK, MacIntyre IM. Gastric cancer distal to the cardia--prevention or cure? *Surg Oncol* 1997;6:111-24.
10. American Joint Committee on Cancer(AJCC), TNM Staging Classification for Carcinoma of the Stomach.(7th ed., 2010)
11. Hermans J, Bonenkamp JJ, Boon MC, et al. Adjuvant therapy after curative resection for gastric cancer: meta-analysis of randomized trials. *J Clin Oncol* 1993;11:1441-47.
12. Sökücü N, Topuz E, Acunas B. Mide Kanserinin Tanısı ve Cerrahi Tedavisi. Topuz E, Aykan NF (edi). Sindirim sistemi kanserleri. İstanbul Onkoloji Enstitüsü Yayınları, İstanbul 1998;217-29.
13. Ajani JA, Baker J, Pisters PW, et al. CPT-11 plus cisplatin in patients with advanced, untreated gastric or gastroesophageal junction carcinoma: results of a phase II study. *Cancer* 2002;94:641-46.
14. Evrard S, Marescaux J. Cancer of the stomach. *Ann Chir* 1992;46: 561-69.
15. Teixeira C R, Haruma K, Teshima H, et al. Endoscopic therapy for gastric cancer patients more than 80 years old. *Am J Gastroenterol*, 1991;86: 725-28.

16. Bates SE. Clinical application of serum tumor markers. *Ann Intern Med* 1991;115:623-38.
17. Marrelli D, Pinto E, De Stefano A. Clinical utility of CEA, CA 19-9, and CA 72-4 in the follow-up of patients with resectable gastric cancer. *Am J Surg.* 2001;181:16-19.
18. Haznedaroğlu S, Güllü H, Haznedaroğlu ve ark. Gastrointestinal sistem kanserlerinde CEA ve CA19-9 tümör belirleyicilerinin klinik ve tedavideki önemi. *Acta Oncologica Turcica* 1994;27:53-59.
19. Viste A, Eide GE, Halvorsen K, The prognostic value of Lauren's histopathological classification system and ABO blood groups in patients with stomach carcinoma. *Eur J Surg Oncol* 1986;12:135-41.
20. Topuz E, Salepçi T, Aydın A, Mide kanserinde kemoterapi. Topuz E, Aykan NF (edi). *Sindirim sistemi kanserleri. İstanbul Onkoloji Enstitüsü Yayınları, İstanbul* 1998; 230-43.
21. Gouzi JL, Huguier M, Fagniez PL, et al. Total versus subtotal gastrectomy for adenocarcinoma of the gastric antrum. A French prospective controlled study. *Ann Surg* 1989;209:162-66.
22. Serlin O; Keehn RJ, Higgins GA; et al. Factors related to survival following resection for gastric carcinoma. *Cancer* 1977;40:1318-29.

23. Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, et al. Perioperative chemotherapy in operable gastric and lower oesophageal cancer: Final results of a randomised, controlled trial (the MAGIC trial, ISRCTN 93793971) *Journal of Clinical Oncology* 2005;23:308.
24. Macdonald JS, Smalley SR, Benedetti J, 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.
25. Ieicman L, Berry BT: Cisplatin Therapy for Adenocarcinoma of the Stomach. *Semin Oncol* 1991;18 (suppl 3): 25-33.
26. Machover D, Goldschmidt E, Chollet P. Treatment of advanced colorectal and gastric adenocarcinomas with 5-fluorouracil and high dose folinic acid. *J Clin Oncol* 1986;4:685.
27. Preusser P, Wilke H, Achterrath W. Phase II study with the combination etoposide doxorubicine and cisplatin. *J Clin Oncol* 1989;7:1310.
28. Wilke H, Preusser P, Fink U, et al. Preoperative chemotherapy in locally advanced and nonresectable gastric cancer; Phase II study with etoposide doxorubicine and cisplatin. *J Clin Oncol* 1986;4:1799.
29. Klein HO. Long term results with FAMTX in advanced gastric cancer. *Cancer Res.* 1989;9:1025-26.

30. Gebbia V, Zalenza R, Testa A, et al. Etoposide, doxorubicine and cisplatin regimen in advanced gastric adenocarcinoma. *J cancer Res Clin Oncol* 1994;120: 550-52.
31. Klein HO, Wickramanayake PD, Dieterle F, et al. [Chemotherapy schedule for the management of metastasizing gastric cancer. Methotrexate, adriamycin and 5-fluorouracil] *Dtsch Med Wochenschr.* 1982;107:1708-12.
32. Kim NK, Park YS, Heo DS, Suh C, Kim SY, Park KC, Kang YK, Shin DB, Kim HT, Kim HJ. A phase III randomized study of 5-fluorouracil and cisplatin versus 5-fluorouracil, doxorubicin, and mitomycin C versus 5-fluorouracil alone in the treatment of advanced gastric cancer. *Cancer* 1993;71:3813-381.
33. Boku N, Ohtsu A, Shimada Y. Phase II study of a combination of irinotecan and cisplatin against metastatic gastric cancer. *J Clin Oncol* 1999;17:319-323.
34. Roth AD, Maibach R, Fazio N. 5-Fluorouracil as protracted continuous intravenous infusion can be added to full-dose docetaxel (Taxotere)-cisplatin in advanced gastric carcinoma: a phase I-II trial. *Ann Oncol* 2004;15:759-64.
35. Moiseyenko V, Ajan J, Tjulandin SA. Docetaxel (D), cisplatin, 5-fluorouracil compared to cisplatin (C), and 5-fluorouracil (F) for chemotherapy-naïve patients with metastatic or locally recurrent, unresectable gastric carcinoma (MGC): Interim results of a randomized phase III trial (V-325). *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003;22:249.

36. Shah MA, Ramanathan RK, Ilson DH. Multicenter phase II study of irinotecan, cisplatin, and bevacizumab in patients with metastatic gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 2006;24:5201-6.
37. Ohtsu A, Shah MA, Van Cutsem E, Rha SY, Sawaki A, et al. Bevacizumab in combination with Chemotherapy As First-Line Therapy in Advanced Gastric Cancer: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase III Study. *J Clin Oncol* 2011 Aug 15. [Epub ahead of print]
38. Treat J, Falchuk SC, Woolley PV, Ve ark: Therapy of Advanced Carcinoma: The Georgetown-Lombardi Cancer Center Experience. *Am J Clin Oncol*. 1989;12 (2): 162-68.
39. Popiela T, Zembala M, Kulig J, Postoperative immunochemotherapy (BCG + 5-FU) in advanced gastric cancer. *Anticancer Res*. 1988;8:1423-27.
40. Scaltriti M, Baselga J. The epidermal growth factor receptor pathway: a model for targeted therapy. *Clin Cancer Res*. 2006;12: 5268-72.
41. Salomon DS, Brandt R, Ciardiello F et al. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol* 1995;19:183–232.
42. Pinkas-Kramarski R, Soussan L, Waterman H et al. Diversification of Neu differentiation factor and epidermal growth factor signaling by combinatorial receptor interactions. *EMBO J* 1996;15:2452–67.

43. Herbst RS, Shin DM. Monoclonal antibodies to target epidermal growth factor receptor-positive tumors: a new paradigm for cancer therapy. *Cancer* 2002;94:1593–611.
44. Voldborg BR, Damstrup L, Spang-Thomsen M, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) and EGFR mutations, function and possible role in clinical trials. *Ann Oncol* 1997;8:1197–206.
45. Rubin Grandis J, Melhem MF, Gooding WE, et al. Levels of TGF-alpha and EGFR protein in head and neck squamous cell carcinoma and patient survival. *J Natl Cancer Inst.* 1998;90:824–32.
46. Shao ZM, Wu J, Shen ZZ, et al. Genistein inhibits both constitutive and EGFstimulated invasion in ER-negative human breast carcinoma cell lines. *Anticancer Res* 1998; 18:1435–9.
47. Yasui W, Sumiyoshi H, Hata J, et al. Expression of epidermal growth factor receptor in human gastric and colonic carcinomas. *Cancer Res.* 1988;48:137–41.
48. Pavelic K, Banjac Z, Pavelic J, et al. Evidence for a role of EGF receptor in the progression of human lung carcinoma. *Anticancer Res.* 1993;13:1133–7.
49. Radinsky R, Risin S, Fan D et al. Level and function of epidermal growth factor receptor predict the metastatic potential of human colon carcinoma cells. *Clin Cancer Res.* 1995;1:19–31.

50. Shaw RJ, Cantley LC: Ras, PI(3)K, and mTOR signalling controls tumor cell growth. *Nature* 2006;441:424-30.
51. Bjornsti M-A, Houghton PJ: The TOR pathway: a target for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2004;4:335-48.
52. Hay N, Sonenberg N: Upstream and downstream of mTOR. *Genes Dev* 2004;18:1926-45.
53. Shaw Rj, Bardeesy N, Manning BD, Lopez L, Kosmatka M, DePinho RA, Cantley LC: The LKB1 tumor suppressor negatively regulates Mtor signaling. *Cancer Cell* 2004;6:91-99.
54. Wullschleger S, Loewith R, and Hall MN. TOR signaling in growth and metabolism. *Cell* 2006;124:471-484.
55. Parsons DW, et al. Colorectal cancer: Mutations in a signalling pathway. *Nature* 2005;436:792.
56. Sabers CJ, Martin MM, Brunn GJ, et al. Isolation of a Protein Target of the FKBP12-Rapamycin Complex in Mammalian Cells. *J Biol Chem* 1995;270:815-22.
57. Grant S, Qiao L, Dent P. Roles of ERBB family receptor tyrosine kinases, and downstream signalling pathways, in the control of cell growth and survival. *Front Biosci* 2002;7:d376-89.

58. Pal SK, Figlin RA, Reckamp KL. The role of targeting mammalian target of rapamycin in lung cancer. *Clin Lung Cancer* 2008;9:340-5.
59. Kozma SC, Thomas G: Regulation of cell size in growth, development and human disease: PI3K, PKB and S6K. *BioEssays* 2002;24:65-71.
60. Tang JM, He QY, Guo RX, et al. Phosphorylated Akt overexpression loss of PTEN expression in non-small cell lung cancer confers poor prognosis. *Lung Cancer* 2006;51:181-91.
61. Fingar DC, Blenis J. Target of rapamycin(TOR): an integrator of nutrient and growth factor signals and coordinator of cell growth and cell cycle progression. *Oncogene* 2004;23:3151-71.
62. Potter CJ, Pedraza LG, Xu T. Akt regulates growth by directly phosphorylating Tsc2. *Nat Cell Biol.* 2002;4:658-65.
63. Wullschleger S, Loewith R, Hall MN. TOR Signaling in Growth and Metabolism. *Cell* 2006;124:471-84.
64. Beugnet A, Tee AR, Taylor PM, et al. Regulation of targets of mTOR(mammalian target of rapamycin) signalling by intracellular amino acid availability. *Biochem J* 2003;372:555-66.

65. Houghton PJ. Everolimus. *Clin Cancer Res.* 16:1368-72.
66. Dancey J, Sausville EA. Issues and progress with protein kinase inhibitors for cancer treatment. *Nat Rev Drug Discov* 2003;2:296-313.
67. Grunwald V, DeGraffenried L, Russel D, et al. Inhibitors of mTOR Reverse Doxorubicin Resistance Conferred by PTEN Status in Prostate Cancer Cells. *Cancer Res* 2002;62:6141-5.
68. Dudkin L, Dilling MB, Cheshire PJ, et al. Biochemical Correlates of Mtor inhibition by the Rapamycin Ester CCI-779 and Tumor Growth Inhibition. *Clinical Cancer Research.* 2001;7:1758-64.
69. Yu K, Toral-Barza L C, et al. Mtor, a novel target in breast cancer: the effect of CCI-779, an mtor inhibitor, in preclinical models of breast cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2001;8:249-58.
70. Raymond E, Alexandre J, Faivre S, et al. Safety and Pharmacokinetics of Escalated Doses of Weekly Intravenous Infusion of CCI-779, a Novel Mtor Inhibitor, in Patients With Cancer. *J Clin Oncol* 2004;22:2336-47.
71. Fischer P, Pantel P, Carducci MA, et al. Phase I study combining treatment with temsirolimus and sunitinib with metformin in patients with advanced renal cell carcinoma. *ASCO Meeting Abstracts* 2008;26:16020.

72. Merchan JR, Lio G, Fitch, T, e al. Phase, I/II trial of CCI – 779 and bevacizumab in stage IV renal cell carcinoma: Phase I safety and activity results. J Clin Oncol (Meeting Abstracts) 2007;5:5034.

73. Merchan JR, Pitot HC, Qin R, et al. Phase I/II trial of CCI 779 and bevacizumab in advanced renal cell carcinoma (RCC) : Safety and activity in RTKI refractory RCC patients. J Clin Oncol (Meeting Abstracts) 2009;27:5039.

74. NCT00631371:Phase 3b, Randomized, Open-Label Study of Bevacizumab +Temsirrolimus) vs. Bevacizumab+Interferon-Alpha as First-Line Treatment in Subjects With Advanced Renal Cell Carcinoma (Available on-line at <http://www.clinicaltrials.gov> last accessed Dec 23,2009).

75. Kim KB, Davies MA, Papadopoulos NE, et al. Phase I/II study of the combination of sorafenib and temsirolimus in patients with metastatic melanoma. ASCO Meeting Abstracts 2009;27:9026.

76. NCT00378703:The Best Trial: A Randomized Phase II Study of VEGF,RAF Kinase, and Mtor Combination Targeted Therapy (CTT) With Bevacizumab, Sorafenib and Temsirolimus in Advanced Renal Cell Carcinoma [Best]. Available at: <http://www.clinicaltrials.gov> Accessed Dec 22,2009.

77. Motzer RJ, Hudes GR, Curti BD, et al. Phase I/II Trial of Temsirolimus Combined With Interferon Alfa for Advanced Renal Cell Carcinoma. *J Clin Oncol.* 2007;25:3958-64.
78. Hudes G, Carducci M, Tomczak P, et al. Temsirolimus, Interferon Alfa, or Both for Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med.* 2007;356:2271-81.
79. Hudes G, Carducci M, Tomczak P, et al. A phase 3, randomized, 3-arm study of temsirolimus (TEMSR) or interferon-alpha (IFN) or the combination of TEMSR+IFN α in the treatment of first-line, poor-risk patients with advanced renal cell carcinoma (adv RCC). *ASCO Meeting Abstracts* 2006;24:LBA4.
80. Carpenter JT, Roche H, Campone M, et al. Randomized 3-arm, phase 2 study of temsirolimus (CCI-779) in combination with letrozole in postmenopausal women with locally advanced or metastatic breast cancer. *ASCO Meeting Abstract* 2005;23:564.
81. National Comprehensive Cancer Network Clinical Practice Guidelines: Renal Cell Carcinoma (Available at <http://www.nccn.org>; last accessed Nov 29, 2009.).
82. Eisen HJ, Tuzcu EM, Dorent R, et al. Everolimus for the Prevention of Allograft Rejection and Vasculopathy in Cardiac – Transplant Recipients. *N Engl J Med.* 2003;349:847-58.

83. Cataneo-Davila A, Zuniga-Varga J, Correa-Rotter R, et al. Renal function outcomes in kidney transplant recipients after conversion to everolimus – based immunosuppression regimen with CNI reduction or elimination. *Transplant Proc.* 2009;41:4138-46.
84. Tanaka C, O'reilly T, Kovarik JM, et al. Identifying Optimal Biologic Doses of Everolimus (RAD001) in Patients With Cancer Based on the modeling of Preclinical and Clinical Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Data. *J Clin Oncol.* 2008;26:1596-602.
85. Cen P, Daleiden A, Doshi G, et al. A phase I study of everolimus plus sorafenib in patients with metastatic renal cell carcinoma (mRCC). *ASCO Meeting Abstracts* 2009;27:e16056.
86. Kroog GS, Feldman DR, Kondagunta GV, et al. Phase I trial of RAD001 (everolimus) plus sunitinib in patients with metastatic renal cell carcinoma. *ASCO meeting Abstracts* 2009;27:5037.
87. Zafar Y, Bendell J, Lager J, et al. Preliminary results of a phase I Study of bevacizumab (BV) in combination with everolimus (E) in patients with advanced solid tumors. *ASCO Meeting Abstracts* 2006;24:3097.

88. NCT00719264: A Randomized, Open-label, Multi- Center Phase II Study to Compare Bevacizumab Plus RAD001 versus Interferon Alfa-2A Plus Bevacizumab for the First – line Treatment of Patients With .metastatic Clear Cell Carcinoma of the Kidney. Available at: <http://www.clinicaltrials.gov>. Accessed Dec 22,2009.

89. Chan JS, Vuky J, Besaw LA, et al. A phase II study of mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitor RAD001 plus imatinib mesylate (IM) in patients with previously treated advanced renal carcinoma (RCC). ASCO Meeting Abstracts 2007;25:15600.

90. Bendell JC, George D, Nixon A, et al. Results of a phase I study of bevacizumab (BV), everolimus (EV), and erlotinib (EV), and erlotinib (E) in patients with advanced solid tumors. ASCO Meeting Abstract 2007;25:3548.

91. Howard LA, Bullock KE, Bendell JC, et al. Bevacizumab(B) plus everolimus€ and panitumumab(P) in refractory advanced solid tumors. ASCO Meeting Abstracts 2009;27:3551.

92. Andre F, Campone M, Hurvitz SA, et al. Multicenter phase I clinical trial of daily and weekly RAD001 in combination with weekly paclitaxel and trastuzumab in patients with HER2-overexpressing metastatic breast cancer with prior resistance to trastuzumab. ASCO Meeting Abstracts 2008;26:1130.

93. Hoban CJ, Hoering A, Synold TW, et al. Phase I evaluation of lapatinib and everolimus in patients with advanced malignancies: Southwest Oncology Group trial S0528. ASCO Meeting Abstracts 2009;27:3553.
94. Awada A, Cardoso F, Fontaine C, et al. The oral mTOR inhibitor RAD001 (everolimus) in combination with letrozole in patients with advanced breast cancer: Results of a phase I study with pharmacokinetics. *European Journal of Cancer* 2008;44:84-91.
95. Baselga J, Semiglazov V, van Dam P, et al. Phase II Randomized Study of Neoadjuvant Everolimus Plus Letrozole Compared With Placebo Plus Letrozole in Patients With Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:2630-7.
96. Amato RJ, Jac J, Giessinger S, et al. A phase 2 study with a daily regimen of the oral mTOR inhibitor RAD001 (everolimus) in patients with metastatic clear cell renal cell cancer. *Cancer*. 2009;115:2438-46.
97. Motzer RJ, Escudier B, Oudard S, et al. Efficacy of everolimus in advanced renal cell carcinoma: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase III trial. *The Lancet*. 2008;372:449-56.
98. Kay A, Motzer R, Figlin R, et al. Updated data from a phase III randomized trial of everolimus (RAD001) versus PBO in metastatic renal cell carcinoma (mRCC). Presented at the 2009 Genitourinary Cancers Symposium [Abstr278].

99. Huffman TA, Mothe-Satney I, Lawrence JC Jr. Insulin-stimulated phosphorylation of lipin mediated by the mammalian target of rapamycin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99:1047-52
100. White DA, Camus P, Endo M, et al. Non-infectious Pneumonitis After Everolimus Therapy for Advanced Renal Cell Carcinoma. *Am J Respir Crit Care Med*.
101. Bellmunt J, Szczylik C, Feingold J, et al. Temsirolimus safety profile and management of toxic effects in patients with advanced renal cell carcinoma and poor prognostic features, *Annals of Oncology*. 2008;19:1387-92.
102. Rodriguez-Pascual J, Cheng E, Maroto P, et al. Emergent toxicities associated with the use of mTOR inhibitors in patients with advanced renal carcinoma. *Anti-Cancer Drugs* 21:478-86
103. NCT00903175: Efficacy and Safety Comparison of RAD001 Versus Sunitinib in the First-Line and Second-Line Treatment of Patients With Metastatic Renal Cell Carcinoma (Available at <http://www.ClinicalTrials.gov> last accessed Jun 23, 2009).
104. Vickers MM, Choueiri TK, Zama I, et al. Failure of initial VEGF-targeted therapy in metastatic renal cell carcinoma (mRCC): What next? *ASCO Meeting Abstracts* 2009;27:5098.
105. Rini BI, Wilding G, Hudes G, et al. Phase II Study of Axitinib in Sorafenib-Refractory Metastatic Renal Cell Carcinoma. *J Clin Oncol* 2009;27:4462-8.

106. NCT00678392: Axitinib (AG 013736) As Second Line Therapy For Metastatic Renal Cell Cancer: Axis Trial (Available at <http://www.clinicaltrials.gov>: last accessed Decr 21, 2009).
107. NCT00474786: A Randomized Trial of Temsirolimus Versus Sorafenib as Second-Line Therapy in Patients With Advanced Renal Cell Carcinoma Who Have Failed First-Line Sunitinib Therapy (Available on-line at [http:// www.climcaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov) last accessed Dec 21, 2009).
108. Wood L, Bukowski RM, Dreicer R, et al. Temsirolimus (TEM) in metastatic renal cell carcinoma (mRCC): Safety and efficacy in patients (pts) previously treated with VEGF-targeted therapy. ASCO Meeting Abstracts 2008;26:16067.
109. Dumont FJ, Staruch MJ, Grammer T, et al. Dominant mutations confer resistance to the immunosuppressant rapamycin in variants of a T cell lymphoma. *Cell Immunol.* 1995;163:70-9.
110. Chen J, Zheng XF, Brown RF, et al. Identification of an 11-kDa FKBP12-rapamycin-binding domain within the 289-kDa FKBP12-rapamycin-associated protein and characterization of a critical serine residue. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995;92:4947-51.
111. Huang S, Houghton PJ: Mechanisms of resistance to rapamycins. *Drug Resist Updat.* 2001;4:378-91.

112. Huang S, Houghton PJ. Resistance to rapamycin: a novel anticancer drug *Cancer Metastasis Rev.* 2001;20:69-78.

113. Cho DC, Figlin RA, Raherty KT, et al. A phase II trial of perifosine in patients with advanced renal cell carcinoma (RCC) who have failed tyrosine kinase inhibitors (TKI) *J Clin Oncol.* (Meeting Abstracts) 2009;27:5101.

114. Vogelzang NJ., Hutson TE, Samlovski W, et al: Phase II study of perifosine in metastatic renal cell carcinoma (RCC) progressing after prior therapy (Rx) with a VEGF receptor inhibitor. *J Clin Oncol* (Meeting Abstracts) 2009;27:5034.

115. NCT01049841: Phase I Study of Perifosine with Temsirolimus for Recurrent Pediatric Solid Tumors (Available at <http://www.clinicaltrials.gov> last accessed Apr 10, 2010.).

116. Yao JC, Hassan M, Phan A, Dagohoy C, Leary C, Mares JE, Abdalla EK, Fleming JB, Vauthey J-N, Rashid A, Evans DB: One hundred years after “carcinoid”: epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35, 825 cases in the United States. *J Clin Oncol* 2008;28:3063-72.

117. Yao JC: Molecular targeted therapy for carcinoid and islet-cell carcinoma. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2007;21:163-72.

118. Talamonti MS, Stuart KE, Yao JC: Neuroendocrine tumors of the gastrointestinal tract: how aggressive should we be? ASCO Educational Book 2004;206-18.

119. Duran I, Kortmansky J, Singh D, Hirte H, Kocha W, Goss G, Le L, Oza A, Nicklee T, Ho J, Birle D, Pond GR, Arboine D, Dancey J, Aviel-Ronen S, Tsao MS, Hedley D, Siu LL: A phase II clinical and pharmacodynamic study of temsirolimus in advanced neuroendocrine carcinomas. *Br J Cancer* 2006;95:1148-54.

120. Yao JC, Phan AT, Chang DZ, VVolf RA, Hess K, Gupta S, Jacobs C, Mares JE, Landgraf AN, Rashid A, Meric-Bernstam FM: Efficacy of RAD001 (everolimus) and octreotide LAR in advanced low- to intermediate-grade neuroendocrine tumors: results of a phase II study. *J Clin Oncol* 2008;26:4311-18.

121. Yao JC, Lombard-Boha C, Baudin E, Kuol LK, Rougier P, Ruzsniowski P, Hoosen S, St Peter J, Haas T, Lebwohl D, Van Cutsem E, Kulke M, Hobday TJ, O'Dorisio TM, Shah MH, Cadiot G, Luppi G, Posey JA, Wiedenmann B, for the RADIANT-I Study Group: Daily oral everolimus activity in patients with metastatic pancreatic neuroendocrine tumors after failure of cytotoxic chemotherapy: a phase II trial. *J Clin Oncol* 2009 in press.

122. NCT00412061: Everolimus and Octreotide in Patients With Advanced Carcinoid Tumor [<http://www.clinicaltrials.gov>]. Accessed July 21, 2009.

123. Novartis Media Release, Afinitor® and Sandostatin® LAR® Phase II data show advanced pancreatic NET patients remain progression-free for nearly 17 months [<http://>

www.novartis.com/newsroom/media-releases/en/2009/1324661.shtml]. Accessed October 14, 2009.

124. Massarweh S, Schiff R. Resistance to endocrine therapy in breast cancer: Exploiting estrogen receptor/growth factor signaling crosstalk. *Endocr Relat Cancer* 2006;13:15-24.

125. Nahta R, Esteva FJ: HER-2-targeted therapy: lessons learned and future directions. *Clin Cancer Res* 2003;9:5078-84.

126. Chan S, Scheulen ME, Johnston S, Mross K, Piccart M, Hess D, Bouxin N, Azli N, for the CESAR/European CCI-779 Breast Group: Phase 2 study of two dose levels of CCI-779 in locally advanced or metastatic breast cancer (MBC) failing prior anthracycline and/or taxane regimens. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003;22. Abstract 774.

127. Ellard S, Gelmon KA, Chia S, Clemons M, Kennecke H, Norris B, McIntosh L, Seymour L: A randomized phase II study of two different schedules of RAD001C in patients with recurrent/metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2007;25(18s):. Abstract 3513

128. Baselga J, Semiglazov V, van Dam P, Manikhas A, Bellet M, Mayordomo J, Campone M, Kubista E, Greil R, Bianchi G, Steinseifer J, Molloy B, Tokaji E, Gardner H, Phillips P, Stumm M, Lane HA, Dixon JM, Jonat W, Rugo HS: Phase II randomized study of neoadjuvant everolimus plus letrozole compared with placebo plus letrozole in patients with estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:2630-37.

129. Awada A, Cardoso F, Fontaine C, Dirix L, De Greve, Sotiriou C, Steinseifer J, Wouters C, Tanaka C, Zoellner U, Tang P, Piccart M: The oral mTOR inhibitor RAD001 (everolimus) in combination with letrozole in patients with advanced breast cancer: results of a phase I study with pharmacokinetics. *Eur J Cancer* 2008;44:84-91.

130. Andre F, Campone M, Hurvitz SA, Vittori L, Pylvaenäinen I, Sahmoud T, O'Regan RM: Multicenter phase I clinical trial of daily and 77. weekly RAD001 in combination with weekly paclitaxel and trastuzumab in patients with HER2-overexpressing metastatic breast cancer with prior resistance to trastuzumab. *J Clin Oncol* 2008;26. Abstract 1003.

131. Jerusalem GH, Vieras V, Cardoso F, Bergh J, Fasolo A, Rorive A, Manlius C, Pylvaenäinen I, Sahmoud T, Gianni L: Multicenter phase I clinical trial of daily and weekly RAD001 in combination with vinorelbine and trastuzumab in patients with HER2-overexpressing metastatic breast cancer with prior resistance to 79. trastuzumab. *J Clin Oncol* 2008;26. Abstract 1057.

132. NCT00876395: Everolimus in Combination With Trastuzumab and Paclitaxel in the Treatment of HER2 Positive Locally Advanced or Metastatic Breast Cancer (BOLERO-1) 80.[<http://www.clinicaltrials.gov>]. Accessed July 15, 2009.

133. Witzig E, Habermann T, Reeder C, Micallef I, Ansell S, Porrata L, Johnston P, LaPlant B, Kabat B, Zent C, Zeldenrust S, Inwards D, Colgan J, Cali T, Markovic S, Tun H: A Phase II trial of the oral mTOR inhibitor everolimus in relapsed non-Hodgkin lymphoma (NHL) and Hodgkin disease (HD). *Hematologica* 2009;94(suppl 2):436. Abstract 1081.

134. Johnston PB, Ansell SM, Colgan JP, Habermann TM, Inwards DJ, Micallef INM, Porrata LF, Reeder CB, Roy V, LaPlant BR, Witzig TE: mTOR inhibition for relapsed or refractory Hodgkin lymphoma: promising single agent activity with everolimus (RAD001). *Blood* 2007;110. Abstract 2555.

135. NCT00702052: Safety and Efficacy of RAD001 in Patients With Velcade® Refractory Mantle Cell Lymphoma (PILLAR-1) [<http://www.clinicaltrials.gov>]. Accessed August 11, 2009.

136. NCT00790036: Phase III Study of RAD001 Adjuvant Therapy in Poor Risk Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL) of RAD001 Versus Matching Placebo After Patients Have Achieved Complete Response With First-Line Rituximab-Chemotherapy (PILLAR-2) [<http://www.clinicaltrials.gov>]. Accessed July 15, 2009.

137. European Medicines Association. Document Number: EMEA/CHMP/464665/2009 [<http://www.europa.eu/htms/human/opinion/htm>]. Accessed August 11, 2009.

138. Rizzieri DA, Feldman E, DiPersio JF, Gabrail N, Stock W, Strair R, Rivera VM, Albitar M, Bedrosian C L, Giles FJ: A phase 2 clinical trial of deforolimus (AP2 MK-8669), a novel mammalian target of rapamycin inhibitor, in patients with relapsed or refractory hematologic malignancies. *Clin Cancer Res* 3573, 14:2756-62.

139. Muro K, Boku N, Yamada Y, Nishina T, Doi T, Takiuchi H, Tajima T, Takahashi A, Fujita Y, Ohtsu A: Multicenter phase II study of RAD001 for previously treated metastatic gastric cancer (MGC): preliminary results. *J Clin Oncol* 2008;26. Abstract 4541.

140. Yamada Y, Doi T, Muro K, Boku N, Nishina T, Takiuchi H, Komatsu Y, Hamamoto Y, Ohno N, Fujita Y, Ohtsu A: Multicenter phase II study of everolimus in patients with previously treated metastatic gastric cancer: main results. *ASCO 2009, Gastrointestinal Cancers Symposium* . Abstract 77.

141. NCT00879333: Safety and Efficacy of RAD001 (Everolimus) Monotherapy Plus Best Supportive Care in Patients With Advanced Gastric Cancer (AGC) (GRANITE-I) [<http://www.clinicaltrials.gov>]. Accessed July 15,2009.

142. Milton DT, Riely GJ, Azzoli CG, Gomez JE, Heelan RT, Kris MG, Krug LM, Pao W, Pizzo B, Rizvi NA, Miller VA: Phase I trial of everolimus and gefitinib in patients with advanced nonsmall-cell lung cancer. *Cancer* 2007, 110:599-605.

143. Kris MG, Riely GJ, Azzoli CG, Heelan RT, Krug LM, Pao W, Milton DT, Moore E, Rizvi NA, Miller VA: Combined inhibition of mTOR and EGFR with everolimus (RAD001) and gefitinib in patients with non-small cell lung cancer who have smokedcigarettes: a phase II trial. *J Clin Oncol* 2007;25. Abstract 7575.

144. Papadimitrakopoulou V, Blumenschein GR, Leighl NB, Bennouna J, Soria JC, Burris HA III, Demitrijevic S, KunzT, Di Scala L, Johnson BE: A phase 1/2 study investigating the combination

of RAD001 (R) (everolimus) and erlotinib (E) as 2nd and 3rd line therapy in patients (pts) with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) previously treated with chemotherapy (C): phase I results. *J Clin Oncol* 2006;24. Abstract 8051.

145. NCT00457119 Combination of RAD001 With Carboplatin, Paclitaxel and Bevacizumab in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Patients Not Treated Previously With Systemic Therapy [<http://www.clinicaltrials.gov>]. Accessed August 11, 2009.

146. Yonemura Y, Sugiyama K, Fujimara T, Kamata T, Fushida S, Yamaguchi A, et al. Epidermal growth factor receptor status and S-phase fractions in gastric carcinoma. *Oncology* 1989;46:158-61.

147. Jang WI, Yang WI, Lee CI, Kim HS, et al. Immunohistochemical detection of p 53 protein, c-erbB-2 protein, epidermal growth factor receptor protein and proliferating cell nuclear antigen in gastric carcinoma. *J Korean Med Sci* 1993;8:293-304.

148. Gamboza-Dominguez A, Dominguez- Fonseca C, Quintanilla- Martinez L, Reyes- Gutierrez E, et al. Epidermal growth factor receptor expression correlates with poor survival in gastric adenocarcinoma from Mexican patients: a multivariate analysis using a standardized immunohistochemical detection system. *Mod Pathol*. 2004;17:579-87.

149. Matsubara J, Nishina T, Yamada Y, Moriwaki T, Shimoda T, et al. (2008a) Impacts of excision repair cross-complementing gene 1 (ERCC1), dihydropyrimidine dehydrogenase, and epidermal

growth factor receptor on the outcomes of patients with advanced gastric cancer. *Br J Cancer* 2008;98: 832-39.

150. Kim J-S, Kim M-A, Kim TM, Lee S-H, et al. Biomarker analysis in stage III-IV (MO) gastric cancer patients who received curative surgery followed by adjuvant 5-fluorouracil and cisplatin chemotherapy: epidermal growth factor receptor(EGFR) associated with favourable survival. *Br J of Cancer* 2009;100: 732-38.

151. Al-Batran SE, Pauligk C, Wirtz R, Steinmetz K, Probst S, Hartmann JT, Hofheinz R, Homann N, et al(2008a) The expression of the epidermal growth factor receptor (EGFR) and related molecules and their impact on survival in patients with metastatic gastric cancer receiving first-line chemotherapy: Results from the FLO versus FLP gastric cancer phase III trial of the AIO. *Proc Am Soc Clin Oncol* 112, GI Symposium, Orlando, Florida(abstract number 86).

152. Ye Y-W, Dong R-Z, Zhou Ye, et al. Prognostic analysis of familial gastric cancer in Chinese population. *J of Sur Onc* 2011;104:76-82.

153. Bang YJ, Van Cutsem E, Fevereislova A, Chung HC, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric-oesophageal junction cancer (TOGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010;376:687-97.

154. Jain S, Filipe MI, Gullick WJ, et al. C-erbB-2 proto-oncogene expression and its relationship survival in gastric carcinoma: an immunohistochemical study on archival material. *Int J Cancer* 1991;48:669-71.
155. Gurel S, Dolar E, Yerci O, et al. The relationship between c-erbB-2 oncogene expression and clinicopathological factors in gastric cancer. *J Int Med Res* 1999;27:74-8.
156. Nakajima M, Sawada H, Yamada Y, et al. The prognostic significance of amplification and overexpression of c-met and c-erb B-2 in human gastric carcinomas. *Cancer* 1999;85:1894-902.
157. Yano T, Doi T, Ohtsu A, et al. Comparison of HER2 gene amplification assessed by fluorescence in situ hybridization and HER2 protein expression assessed by immunohistochemistry in gastric cancer. *Oncol Rep* 2006;15:65-71.
158. Zhang XL, Yang YS, Xu DP, et al. Comparative study on overexpression of Her2/neu and HER3 in gastric cancer. *World J Surg* 2009;33:2112-8.
159. Yonemura Y, Ninomiya I, Yamaguchi A, et al. Evaluation of immunoreactivity for erbB-2 protein as a marker of poor short term prognosis in gastric cancer. *Cancer Res* 1991;51:1034-8.
160. Orita H, Maehara Y, Emi Y, Kakeji Y, et al. C-erbB-2 expression is predictive for lymphatic spread of clinical gastric carcinoma. *Hepato-Gastroenterology*. 1997;44:294-98.

161. Guanzhen Yu, Jiejun Wang , Ying Chen, et al. Overexpression of phosphorylated mammalian target of rapamycin predicts lymph node metastasis and prognosis of Chinese patients with gastric cancer. *Clin Cancer* 2009;15:1821-29.

162. Da-zhi X, Qi-rong G, Ying T, et al. Activated mammalian target of rapamycin is a potential therapeutic target in gastric cancer. *BMC Cancer* 2010;10:536.

163. Murayama T, Inokuchi M, Takagi Y, et al. Relation between outcomes and localization of p-mTOR expression in gastric cancer. *Br J Cancer* 2009;100:782-8.

