

## ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ORIGINAL PAPER

# Αποτελεσματικότητα του cetuximab και μεταλλάξεις του γονιδίου KRAS στον καρκίνο του παχέος εντέρου

ΣΚΟΠΟΣ Η διενέργεια μιας πολυμεταβλητής μετα-ανάλυσης των μελετών που διερεύνησαν την προβλεπτική αξία των μεταλλάξεων του γονιδίου KRAS σχετικά με την αποτελεσματικότητα του cetuximab στον καρκίνο του παχέος εντέρου. ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ Διενεργήθηκε συστηματική ηλεκτρονική έρευνα στις βάσεις δεδομένων PubMed, Medline και στη βιβλιοθήκη Cochrane για την ανεύρεση όλων των ανάλογων δημοσιευμένων άρθρων. Για την έρευνα χρησιμοποιήθηκε συνδυασμός των ακόλουθων λέξεων-κλειδιών (key words): "cetuximab", "anti-EGFR", "kras or k-ras" και "colorectal cancer". Αναλύθηκαν ταυτόχρονα οι ευαισθησίες (sensitivities) και οι ειδικότητες (specificities), χρησιμοποιώντας ένα διδιάστατο (bivariate) μοντέλο τυχαίων επιδράσεων. Τα δεδομένα από κάθε μελέτη εξήχθησαν σε πίνακες 2x2. Υπολογίστηκαν οι ευαισθησίες, οι ειδικότητες και οι προβλεπτικές (αρνητικές και θετικές) τιμές. Για όλες τις αναλύσεις χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα Stata 10 (StataCorp), ενώ αξιοσημείωτα αποτελέσματα θεωρήθηκαν εκείνα με τιμή  $p < 0,05$ . ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ Από τον έλεγχο της βιβλιογραφίας βρέθηκαν 26 αναφορές, από τις οποίες μόνο οι 13 μελέτες ήταν κατάλληλες για τη μετα-ανάλυση. Στις περισσότερες μελέτες, οι ειδικότητες ήταν κατά πολύ υψηλότερες έναντι των αντίστοιχων ευαισθησιών. Συνδυάζοντας τα δεδομένα από τις 13 μελέτες προκύπτει, πρώτον, ότι οι μεταλλάξεις στο γονίδιο KRAS αποτελούν αρνητικό προβλεπτικό παράγοντα για την αποτελεσματικότητα του cetuximab με πολύ μεγάλη ειδικότητα 0,96 (0,84–0,99) και χαμηλή ευαισθησία 0,47 (0,43–0,50) και, δεύτερον, ότι η ύπαρξη σφάλματος δημοσίευσης (publication bias) είναι πολύ πιθανή. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ Η κλινική σημασία των εν λόγω ευρημάτων είναι ότι το cetuximab πρέπει να χορηγείται μόνο σε ασθενείς που έχουν wild type KRAS. Οι μεταλλάξεις του συγκεκριμένου γονιδίου αποτελούν αρνητικό προβλεπτικό παράγοντα για την ανταπόκριση στο cetuximab, με πολύ υψηλή ειδικότητα και χαμηλή ευαισθησία. Η πιθανότερη ερμηνεία της χαμηλής ευαισθησίας είναι η ύπαρξη επιπρόσθετων μηχανισμών αντίστασης στις αντι-EGFR θεραπείες, όπως είναι π.χ. οι μεταλλάξεις του BRAF.

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου αποτελεί μείζον πρόβλημα δημόσιας υγείας και μια από τις κύριες αιτίες θνητότητας από κακοήθεις νεοπλασίες στο δυτικό κόσμο. Είναι το δεύτερο σε συχνότητα νεόπλασμα που εμφανίζεται στις αναπτυγμένες χώρες. Κατ'έτος, περίπου 700.000 νέες περιπτώσεις διαγιγνώσκονται ενώ, παγκόσμια, καταγράφονται 400.000–500.000 θάνατοι οφειλόμενοι σε καρκίνο παχέος εντέρου.<sup>1</sup>

Το μονοπάτι μεταγωγής σήματος μέσω του υποδοχέα του EGF (EGFR) είναι συχνά ενεργοποιημένο στον κολορικό καρκίνο και έχει ερευνηθεί εκτενώς ως στόχος

αντικαρκινικής θεραπείας.<sup>2</sup> Οι θεραπευτικοί παράγοντες οι οποίοι στοχεύουν τον EGFR είναι τα μονοκλωνικά αντισώματα cetuximab και panitumumab. Το cetuximab είναι ένα χιμαιρικό μονοκλωνικό αντίσωμα IgG1, το οποίο έχει μεγάλη συγγένεια με τον EGFR και τα ετεροδιμερή του. Η σύνδεσή του με τον EGFR προλαμβάνει-παρεμποδίζει τη σύνδεση του υποδοχέα με τους κατάλληλους προσδέτες και διεγείρει την ενσωμάτωση του υποδοχέα στο κύτταρο. Με αυτόν τον τρόπο παρεμποδίζει το διμερισμό του υποδοχέα και συνακόλουθα τη μεταγωγή του σήματος. Οι παραπάνω δράσεις έχουν ως αποτέλεσμα να διακό-

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2011, 28(5):674–679  
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2011, 28(5):674–679

Ν. Τσουκαλάς,<sup>1</sup>  
Α. Τζοβάρας,<sup>1</sup>  
Μ. Τόλια,<sup>1</sup>  
Α. Παπακωστίδη,<sup>1</sup>  
Ι. Κωστάκης,<sup>2</sup>  
Α. Αρδαβάνης,<sup>1</sup>  
Β. Μπαρμπούνης<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Αντικαρκινικό Ογκολογικό Νοσοκομείο «Άγιος Σάββας», Αθήνα

<sup>2</sup>B' Χειρουργική Κλινική, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

<sup>3</sup>Γενικό Νοσοκομείο «Ιπποκράτειο», Αθήνα

The efficacy of cetuximab and mutations of the KRAS gene in colorectal cancer

Abstract at the end of the article

### Λέξεις ευρετηρίου

Anti-EGFR  
Αποτελεσματικότητα  
Cetuximab  
Καρκίνος παχέος εντέρου  
Kras ή k-ras

Υποβλήθηκε 18.1.2011

Εγκρίθηκε 30.1.2011

πτεται ο πολλαπλασιασμός των καρκινικών κυττάρων, να παραβλάπεται η αγγειογένεση και η μετάσταση και να διεγείρεται το καρκινικό κύτταρο προς απόπτωση.<sup>3</sup> Το cetuximab έχει δείξει αποτελεσματικότητα στη θεραπεία του κολο-ορθικού καρκίνου.<sup>4</sup>

Σημειακές μεταλλάξεις στα κωδικόνια 12 και 13 του ογκογονιδίου KRAS αποτελούν προβλεπτικό παράγοντα πτωχής ή και μη ανταπόκρισης σε αντι-EGFR θεραπείες.<sup>5</sup> Το ογκογονίδιο KRAS κωδικοποιεί μια μικρή GTP-δεσμευτική πρωτεΐνη, η οποία δρα ως μεταγωγέας σήματος μετά από τη σύνδεση του προσδέτη και την ενεργοποίηση του συμπλόκου EGFR-προσδέτης στην επιφάνεια του κυττάρου. Στην περίπτωση κατά την οποία το ογκογονίδιο KRAS είναι μεταλλαγμένο, τότε το προϊόν αυτού (πρωτεΐνη KRAS) παραμένει συνεχώς ενεργό ανεξάρτητα από την ενεργοποίηση του EGFR.<sup>6</sup> Μεταλλάξεις του γονιδίου KRAS μπορούν να ενεργοποιήσουν κατιούσα μεταγωγή σήματος (downstream signal transduction) και να προβάλλουν με αυτόν τον τρόπο αντίσταση στην ανιούσα αναστολή του EGFR (upstream inhibition) από τα μονοκλωνικά αντισώματα. Οι μεταλλάξεις του KRAS αποτελούν πρώιμο συμβάν στην εξέλιξη του κολο-ορθικού καρκίνου και συναντώνται περίπου στο 40% των ασθενών.<sup>7</sup>

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η εφαρμογή μιας διδιάστατης (bivariate) μετα-ανάλυσης των μελετών που διερεύνησαν την προβλεπτική αξία των μεταλλάξεων του γονιδίου KRAS για την αποτελεσματικότητα του μονοκλωνικού αντισώματος cetuximab σε ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου.

## ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Αρχικά, διεξήχθη συστηματική ηλεκτρονική έρευνα στις βάσεις δεδομένων PubMed, Medline και στη βιβλιοθήκη Cochrane για την ανεύρεση δημοσιευμένων άρθρων (έως και τον Απρίλιο του 2009) που να αναφέρονται στη χορήγηση του μονοκλωνικού αντισώματος cetuximab σε ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου και να αξιολογούν την αποτελεσματικότητά του σε σχέση με την κατάσταση του γονιδίου KRAS (wild type, KRASw ή mutant, KRASm). Για την έρευνα χρησιμοποιήθηκε συνδυασμός των ακόλουθων λέξεων-κλειδιών (key words): "cetuximab", "anti-EGFR", "kras or k-ras" και "colorectal cancer".

Τα δεδομένα από την κάθε μελέτη εξήχθησαν σε πίνακες 2x2. Από τους πίνακες αυτούς υπολογίστηκαν οι ευαισθησίες, οι ειδικότητες και οι προβλεπτικές (αρνητικές και θετικές) τιμές. Η ευαισθησία (sensitivity) και η ειδικότητα (specificity) είναι στατιστικές μετρήσεις της απόδοσης μιας δυαδικής εξέτασης κατηγοριοποίησης. Ορίζονται ως "tp" (true positives) τα αληθώς θετικά, ως "fp" (false positives) τα ψευδώς θετικά, ως "fn" (false negatives) τα ψευδώς αρνητικά και ως "tn" (true negatives) τα αληθώς αρνητικά.

Η ευαισθησία και η ειδικότητα μπορεί να υπολογιστούν ως:

$$\text{Ευαισθησία} = \frac{tp}{tp+fn}, \quad \text{Ειδικότητα} = \frac{tn}{fp+tn}$$

(sensitivity) (specificity)

Συνήθως, οι ευαισθησίες και οι ειδικότητες μεταβάλλονται χρησιμοποιώντας το μετασχηματισμό logit (logit transformation), με σκοπό να αναλυθούν σωστά σε μια μετα-ανάλυση, όπου εφαρμόζονται μέθοδοι με καθορισμένες ή τυχαίες επιδράσεις (standard fixed or random effects methods).<sup>8,9</sup>

Στην παρούσα μετα-ανάλυση αναλύονται ταυτόχρονα οι ευαισθησίες (sensitivities) και οι ειδικότητες (specificities), χρησιμοποιώντας ένα διδιάστατο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων (2-dimensional random-effects model). Η διδιάστατη (δι-μεταβλητή) προσέγγιση (bivariate approach) για μετα-ανάλυση είναι περισσότερο ενδειγμένη.<sup>10,11</sup> Έχουν προταθεί διάφορες εναλλακτικές μέθοδοι,<sup>12-14</sup> αλλά σε πρόσφατες μελέτες έχει αποδειχθεί ότι είναι ισότιμες σε στατιστικό επίπεδο.<sup>15,16</sup> Εδώ, χρησιμοποιήθηκε μια διδιάστατη προσέγγιση βασισμένη στα δυαδικά δεδομένα.<sup>17</sup> Δεν συγκεντρώθηκαν ξεχωριστές διαγνωστικές αναλογίες πιθανοτήτων (LR<sup>+</sup> ή LR<sup>-</sup>) γιατί δεν συνιστάται από τις σύγχρονες προσεγγίσεις.<sup>18</sup>

Ακολούθως, υπολογίστηκε η διαγνωστική αναλογία πιθανοτήτων (odds ratio ή dOR), η οποία συγκρίνει τις πιθανότητες για ευαισθησία με τις πιθανότητες για ειδικότητα (odds for sensitivity to the odds for specificity):<sup>19</sup>

$$dOR = \frac{\text{sens}/(1-\text{sens})}{(1-\text{spec})/\text{spec}} = \frac{(tp)/(tn)}{(fp)/(fn)} = \frac{LR^+}{LR^-}$$

Η διαγνωστική αναλογία πιθανοτήτων (dOR) μπορεί να συγκεντρωθεί σε μια μετα-ανάλυση, χρησιμοποιώντας βασικές μεθόδους (standard methods).<sup>8,9</sup> Όμως, η διδιάστατη προσέγγιση προσφέρει επίσης τη δυνατότητα να ληφθούν εκτιμήσεις μετασχηματίζοντας κατάλληλα τις εξαγόμενες εκτιμήσεις.<sup>15,16</sup> Η διαγνωστική αναλογία πιθανοτήτων (dOR) μετρά τη διακριτική ικανότητα μιας εξέτασης.

Τα σφάλματα δημοσίευσης (publication bias) ή άλλες μεροληψίες που σχετίζονται με μικρές μελέτες (small study-related bias) υπολογίστηκαν αρχικά χρησιμοποιώντας τη rank correlation μέθοδο των Begg και Mazumdar,<sup>20</sup> την Egger's fixed effect regression μέθοδο<sup>21</sup> και την αναλογία τυχαίων επιδράσεων.<sup>22</sup> Για όλες τις αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν εδώ, χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα Stata 10 (StataCorp), ενώ αξιοσημείωτα αποτελέσματα θεωρήθηκαν εκείνα με τιμή p<0,05.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από τον έλεγχο της βιβλιογραφίας, με τον τρόπο που προαναφέρθηκε στην προηγούμενη ενότητα, εντοπίστηκαν 26 αναφορές. Μετά από εκτενή μελέτη των άρθρων, μόνο οι 13 μελέτες ήταν κατάλληλες για τη συγκεκριμένη μετα-ανάλυση και περιγράφονται στον πίνακα 1. Στον πίνακα 2, επεξηγούνται οι ορισμοί των tp, fp, tn και fn για τις δύο καταστάσεις του γονιδίου KRAS και την ανταπόκριση των ασθενών στο cetuximab.

**Πίνακας 1.** Οι μελέτες που συμπεριελήφθησαν στη μετα-ανάλυση.

α/α	Μελέτη	Περιοδικό	Ασθενείς	KRASw	w_RR	fn	tn	KRASm	m_RR	tp	fp
1	Van Cutsem et al <sup>23</sup>	NEJM	277	172	59,30%	70	102	105	36,20%	67	38
2	Bokemeyer et al <sup>24</sup>	JCO	113	61	61,00%	24	37	52	33,00%	35	17
3	Tol et al <sup>25</sup>	NEJM	256	158	61,40%	61	97	98	45,90%	53	45
4	Bibeau et al <sup>26</sup>	JCO	64	37	27,00%	27	10	27	3,70%	26	1
5	Garm Spindler et al <sup>27</sup>	Ann Oncol	64	42	40,00%	25	17	22	0,00%	22	0
6	Perrone et al <sup>28</sup>	Ann Oncol	29	22	45,45%	12	10	7	0,00%	7	0
7	Karapetis et al <sup>33</sup>	NEJM	198	117	12,80%	102	15	81	1,20%	80	1
8	Lièvre et al <sup>29</sup>	JCO	89	65	40,00%	39	26	24	0,00%	24	0
9	De Roock et al <sup>30</sup>	Ann Oncol	108	66	41,00%	39	27	42	0,00%	42	0
10	Di Fiore et al <sup>31</sup>	BJC	59	37	32,00%	25	12	22	0,00%	22	0
11	Khambata-Ford et al <sup>7</sup>	JCO	80	50	10,00%	45	5	30	0,00%	30	0
12	Frattini et al <sup>32</sup>	BJC	27	17	53,00%	8	9	10	10,00%	9	1
13	Lièvre et al <sup>5</sup>	Cancer Res	30	17	64,70%	6	11	13	0,00%	13	0

KRASw: Αριθμός ασθενών με wild type KRAS, KRASm: Αριθμός ασθενών με mutant-KRASm, w\_RR: Ποσοστό ασθενών με wild type KRAS που ανταποκρίθηκαν στο cetuximab, m\_RR: Ποσοστό ασθενών με mutant KRAS που ανταποκρίθηκαν στο cetuximab, fn: Ψευδώς αρνητικά (false negative), tn: Αληθώς αρνητικά (true negative), tp: Αληθώς θετικά (true positive), fp: Ψευδώς θετικά (false positive)

**Πίνακας 2.** Ορισμοί των tp, fp, tn και fn για τις δύο καταστάσεις του γονιδίου KRAS.

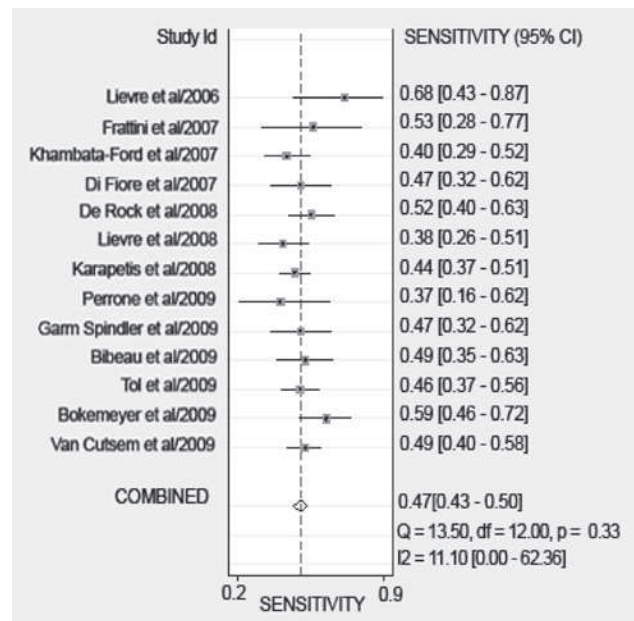
	Μη ανταπόκριση στο cetuximab	Ανταπόκριση στο cetuximab
Mutant-KRASm	tp	fp
Wild type-KRASw	fn	tn

fn: Ψευδώς αρνητικά (false negative), tn: Αληθώς αρνητικά (true negative), tp: Αληθώς θετικά (true positive), fp: Ψευδώς θετικά (false positive)

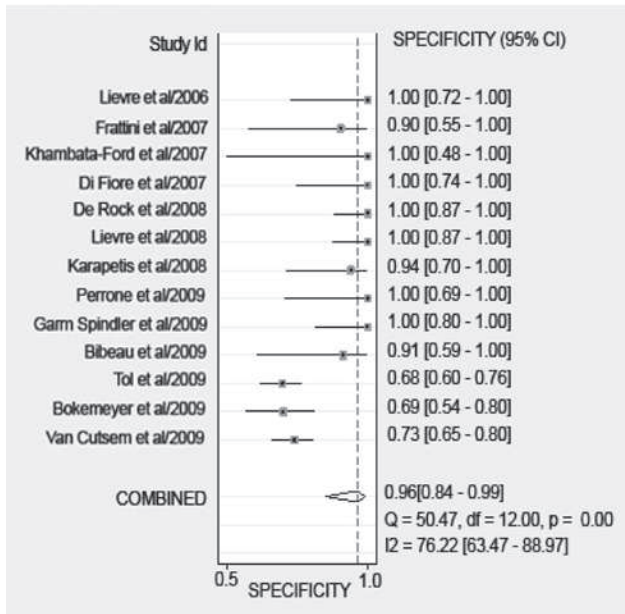
Τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης σχετικά με την ευαισθησία και την ειδικότητα φαίνονται στις εικόνες 1 και 2, αντίστοιχα. Διαπιστώνεται ότι στις διάφορες μελέτες οι ειδικότητες είναι κατά πολύ υψηλότερες από τις αντίστοιχες ευαισθησίες. Συνδυάζοντας τα δεδομένα από τις 13 μελέτες, η ευαισθησία είναι περίπου ίση με 0,47 (0,43–0,50) και η ειδικότητα περίπου ίση με 0,96 (0,84–0,99).

Στο δεύτερο forest plot (εικ. 2) παρατηρείται ότι οι τρεις τελευταίες μελέτες έχουν χαμηλές ειδικότητες (specificities), βρίσκονται προς τα αριστερά και έχουν επίσης μικρότερα διαστήματα εμπιστοσύνης. Οι συγκεκριμένες τρεις μελέτες, κυρίως λόγω του μεγέθους τους, επηρεάζουν σημαντικά τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.<sup>23–25</sup>

Η σημαντικότερη μεροληψία, η οποία εξετάζεται σε μια μετα-ανάλυση, είναι το σφάλμα δημοσίευσης (publication bias), το οποίο οφείλεται στη δυσκολία ανεύρεσης όλων των σχετικών μελετών. Το σφάλμα δημοσίευσης δημιουργείται επειδή αφ' ενός οι περισσότερες μετα-αναλύσεις στηρίζονται σε δημοσιευμένα δεδομένα και μελέτες και αφ' ετέρου

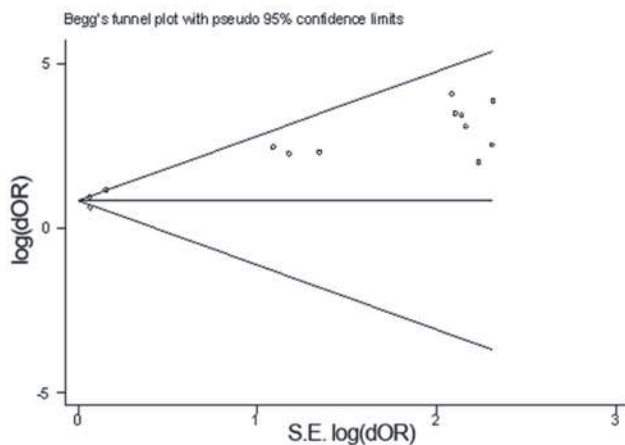
**Εικόνα 1.** Το forest plot, στο οποίο φαίνονται οι ευαισθησίες της προβλεπτικής αξίας της κατάστασης του γονιδίου KRAS για την αποτελεσματικότητα του cetuximab σε ασθενείς με καρκίνο του παχέως εντέρου.

γιατί οι περισσότεροι θεωρούν ότι είναι ευκολότερο να δημοσιεύονται μελέτες που έχουν κάποιο αξιολογικό αποτέλεσμα σε σχέση με εκείνες που δεν καταλήγουν σε κάποιο αξιοσημείωτο συμπέρασμα. Τα αποτελέσματα από τους διάφορους ελέγχους για την εύρεση πιθανού σφάλματος δημοσίευσης είναι πολύ σημαντικά για την ακεραιότητα των διαφόρων εκτιμήσεων μιας μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 2.** Το forest plot, στο οποίο φαίνονται οι ειδικότητες της προβλεπτικής αξίας της κατάστασης του γονιδίου KRAS για την αποτελεσματικότητα του cetuximab σε ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου.

Στην περίπτωση που δεν υπάρχει σφάλμα δημοσίευσης, τότε το γράφημα χοάνης (funnel plot) θα πρέπει να είναι συμμετρικό. Αυτό δεν συνέβη στην παρούσα περίπτωση, καθώς όλες σχεδόν οι μελέτες (εκτός από μία) βρίσκονταν αθροισμένες στο άνω μισό του διαγράμματος στην εικόνα 3. Συνεπώς, είναι πολύ πιθανό να υπάρχει σφάλμα δημοσίευσης. Τα αποτελέσματα του ελέγχου για την ύπαρξη του σφάλματος δημοσίευσης με την εφαρμογή των μεθόδων των Begg και Mazumdar<sup>20</sup> και των Egger et al<sup>21</sup> είναι στατιστικώς σημαντικά για την ύπαρξη σφάλματος δημοσίευσης.



**Εικόνα 3.** Το γράφημα χοάνης (funnel plot), για το συνδυασμένο δείγμα των 13 μελετών με τη μέθοδο του Begg.

**ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

Το πρώτο βασικό συμπέρασμα της παρούσας μετα-ανάλυσης αφορά στο γεγονός ότι η ύπαρξη μεταλλάξεων στο γονίδιο KRAS αποτελεί αρνητικό προβλεπτικό παράγοντα για την ανταπόκριση στο αντι-EGFR μονοκλωνικό αντίσωμα cetuximab σε ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου. Η ειδικότητα αυτού του αρνητικού προβλεπτικού παράγοντα είναι πολύ υψηλή, 0,96 (0,84–0,99), σε αντίθεση με την ευαισθησία του, που είναι χαμηλή, 0,47 (0,43–0,50). Το 2008 δημοσιεύτηκε μια μετα-ανάλυση σχετική με τις σωματικές μεταλλάξεις του KRAS και την αντίσταση στις αντι-EGFR θεραπείες –μονοκλωνικά αντισώματα (MA) και αναστολείς τυροσινικής κινάσης (TKIs)– τόσο στον προχωρημένο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, όσο και στο μεταστατικό κολο-ορθικό καρκίνο, με παρόμοια αποτελέσματα.<sup>34</sup>

Η πιο πιθανή ερμηνεία της χαμηλής ευαισθησίας είναι η ύπαρξη επιπρόσθετων μηχανισμών αντίστασης στις αντι-EGFR θεραπευτικές προσεγγίσεις.<sup>35</sup> Τέτοιοι πιθανοί μηχανισμοί αντίστασης περιλαμβάνουν μεταλλάξεις του BRAF (κατασταλτικός παράγοντας του KRAS), την έκφραση των προσδετών του EGFR epiregulin (EREG) και amphiregulin (AREG) και μεταλλάξεις των PI3KCA, EGFR και PTEN.

Το δεύτερο βασικό αποτέλεσμα-συμπέρασμα της παρούσας μετα-ανάλυσης ήταν η μεγάλη πιθανότητα ύπαρξης σφάλματος δημοσίευσης (publication bias). Αρχικά, αυτό φάνηκε από την ασυμμετρία στα funnel plots. Επίσης, τα αποτελέσματα του ελέγχου για την ύπαρξη του σφάλματος δημοσίευσης με βάση τις δοκιμασίες των Begg και Mazumdar<sup>20</sup> καθώς και των Egger et al<sup>21</sup> ήταν θετικά και στατιστικώς σημαντικά. Το σφάλμα δημοσίευσης προέκυψε γιατί οι δημοσιευμένες έρευνες δεν αντιπροσώπευαν επαρκώς όλες τις μελέτες που εκπονήθηκαν για ένα συγκεκριμένο θέμα.

Πολλοί παράγοντες μπορούν να δημιουργήσουν αυτό το σφάλμα, αλλά ο πλέον γνωστός αναφέρεται στην τάση που υπάρχει να δημοσιεύονται μελέτες μόνο με στατιστικώς σημαντικά (p<0,05) ή κλινικά αξιολογα αποτελέσματα. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν το σφάλμα δημοσίευσης είναι το μέγεθος του δείγματος, ο τρόπος οργάνωσης της έρευνας, η χρηματοδότηση της έρευνας, η πιθανή σύγκρουση συμφερόντων και η δυναμική προκατάληψη για μια παρατηρούμενη συσχέτιση.

Συμπερασματικά, λοιπόν, η χορήγηση μονοκλωνικών αντισωμάτων τα οποία στοχεύουν στον EGFR, όπως το cetuximab ή το panitumumab, σε επιλεγμένους μόνο ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου πρέπει να θεωρείται πλέον ως βασική κλινική πρακτική, καθώς οι συγκεκριμέ-



νοι παράγοντες είναι αναποτελεσματικοί σε ασθενείς με ενεργείς μεταλλάξεις στο γονίδιο *KRAS*.<sup>36</sup> Αυτά τα δεδομένα δρουν προσθετικά στους οικονομικούς και τους ηθικούς περιορισμούς, οι οποίοι εμπλέκονται στην ανάπτυξη και την εφαρμογή νέων στοχευμένων θεραπειών. Στο μέλλον, οι νέες υποδομές υψηλής τεχνολογίας, οι οποίες έχουν τη

δυνατότητα να παρέχουν μια συνολική και περιληπτική εκτίμηση του καρκινικού γονιδιώματος, θα επιτρέψουν την εφαρμογή της εξατομικευμένης θεραπείας, η οποία θα συμβαδίζει με τη μοριακή παθολογία του όγκου, καθώς και με την ιστολογία και τον κυτταρικό τύπο του νεοπλάσματος κάθε ασθενούς.

## ABSTRACT

### The efficacy of cetuximab and mutations of the *KRAS* gene in colorectal cancer

N. TSOUKALAS,<sup>1</sup> A. TZOVARAS,<sup>1</sup> M. TOLIA,<sup>1</sup> A. PAPAKOSTIDI,<sup>1</sup> I. KOSTAKIS,<sup>2</sup> A. ARDAVANIS,<sup>1</sup> V. BARBOUNIS<sup>3</sup>

<sup>1</sup>"Agios Savvas" Anticancer Hospital, Athens, <sup>2</sup>Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, Athens,

<sup>3</sup>"Hippokratio" General Hospital, Athens, Greece

*Archives of Hellenic Medicine* 2011, 28(5):674–679

**OBJECTIVE** The aim of this study was to carry out a multivariate meta-analysis of studies which investigated the predictive value of *KRAS* mutations in the efficacy of cetuximab in patients suffering from colorectal cancer. **METHOD** A systematic literature search was made in the PubMed, Medline and Cochrane databases using a combination of the key words "cetuximab", "anti-egfr", "*KRAS* or *K-RAS*" and "colorectal cancer". A 2-dimensional random-effects model was used for the analysis of sensitivity and specificity. Data from each study was entered in 2x2 tables from which sensitivities, specificities and predictive values (negative and positive) were estimated. The statistical program Stata 10 (StataCorp) was used for all the statistical analyses and significant results were considered those with p-value <0.05. **RESULTS** A total of 26 relevant reports were found from the search of the databases, of which 13 were appropriate for this specific meta-analysis. Initially, it was found that in these studies the specificities were much higher than the sensitivities. On combining the data from the 13 studies, it was found that mutations in the *KRAS* gene constitute a negative predictive biomarker for the response to cetuximab, with very high specificity, 0.96 (0.84–0.99), but low sensitivity, 0.47 (0.43–0.50), and that publication bias may often occur. **CONCLUSIONS** The clinical importance of these findings is that cetuximab should be administered only to patients who have the wild type *KRAS* oncogene. Mutations in the *KRAS* gene are a negative predictive factor for the response to cetuximab, with very high specificity and low sensitivity. The low value of sensitivity is probably due to the presence of additional mechanisms of resistance to anti-EGFR therapies, such as mutations in *BRAF*.

**Key words:** Anti-EGFR, Cetuximab, Colorectal cancer, Efficacy, *KRAS* or *K-RAS*

## Βιβλιογραφία

- JEMAL A, SIEGEL R, XU J, WARD E. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2010, 60:277–300
- ΚΟΥΝΤΟΥΡΑΚΗΣ Π, ΑΡΔΑΒΑΝΗΣ Α, ΡΗΓΑΤΟΣ Γ. Υποδοχείς της οικογένειας HER και καρκίνος. *Βήμα Κλινικής Ογκολογίας* 2007, 6:196–204
- EL-RAYES BF, LoRUSSO PM. Targeting the epidermal growth factor receptor. *Br J Cancer* 2004, 91:418–424
- CUNNINGHAM D, HUMBLET Y, SIENA S, KHAYAT D, BLEIBERG H, SANTORO A ET AL. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004, 351:337–345
- LIÈVRE A, BACHET JB, Le CORRE D, BOIGE V, LANDI B, EMILE JF ET AL. *KRAS* mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer Res* 2006, 66:3992–3995
- MALUMBRES M, BARBACID M. *RAS* oncogenes: The first 30 years. *Nat Rev Cancer* 2003, 3:459–465
- KHAMBATA-FORD S, GARRETT CR, MEROPOL NJ, BASIK M, HARBISON CT, WU S ET AL. Expression of epiregulin and amphiregulin and *K-ras* mutation status predict disease control in metastatic colorectal cancer patients treated with cetuximab. *J Clin Oncol* 2007, 25:3230–3237
- NORMAND SL. Meta-analysis: Formulating, evaluating, combining, and reporting. *Stat Med* 1999, 18:321–359
- PETITTI DB. *Meta-analysis, decision analysis and cost-effectiveness analysis*. Oxford University Press, New York, 1994
- VAN HOUWELINGEN HC, ZWINDERMAN KH, STIJNEN T. A bivariate approach to meta-analysis. *Stat Med* 1993, 12:2273–2284
- VAN HOUWELINGEN HC, ARENDS LR, STIJNEN T. Advanced methods in meta-analysis: Multivariate approach and meta-regres-

- sion. *Stat Med* 2002, 21:589–624
12. RUTTER CM, GATSONIS CA. A hierarchical regression approach to meta-analysis of diagnostic test accuracy evaluations. *Stat Med* 2001, 20:2865–2884
  13. MACASKILL P. Empirical Bayes estimates generated in a hierarchical summary ROC analysis agreed closely with those of a full Bayesian analysis. *J Clin Epidemiol* 2004, 57:925–932
  14. REITSMA JB, GLAS AS, RUTJES AW, SCHOLTEN RJ, BOSSUYT PM, ZWINDERMAN AH. Bivariate analysis of sensitivity and specificity produces informative summary measures in diagnostic reviews. *J Clin Epidemiol* 2005, 58:982–990
  15. HARBORD RM, DEEKS JJ, EGGER M, WHITING P, STERNE JA. A unification of models for meta-analysis of diagnostic accuracy studies. *Biostatistics* 2007, 8:239–251
  16. ARENDS LR, HAMZA TH, VAN HOUWELINGEN JC, HEIJENBROK-KAL MH, HUNINK MG, STIJNEN T. Bivariate random effects meta-analysis of ROC curves. *Med Decis Making* 2008, 28:621–638
  17. CHU H, COLE SR. Bivariate meta-analysis of sensitivity and specificity with sparse data: A generalized linear mixed model approach. *J Clin Epidemiol* 2006, 59:1331–1332
  18. ZWINDERMAN AH, BOSSUYT PM. We should not pool diagnostic likelihood ratios in systematic reviews. *Stat Med* 2008, 27:687–697
  19. GLAS AS, LIJMER JG, PRINS MH, BONSEL GJ, BOSSUYT PM. The diagnostic odds ratio: A single indicator of test performance. *J Clin Epidemiol* 2003, 56:1129–1135
  20. BEGG CB, MAZUMDAR M. Operating characteristics of a rank correlation test for publication bias. *Biometrics* 1994, 50:1088–1101
  21. EGGER M, DAVEY SMITH G, SCHNEIDER M, MINDER C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *Br Med J* 1997, 315:629–634
  22. THOMPSON SG, SHARP SJ. Explaining heterogeneity in meta-analysis: A comparison of methods. *Stat Med* 1999, 18:2693–2708
  23. VAN CUTSEM E, KÖHNE CH, HITRE E, ZALUSKI J, CHANG CHIEN CR, MAKHSON A ET AL. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009, 360:1408–1417
  24. BOKEMEYER C, BONDARENKO I, MAKHSON A, HARTMANN JT, APARICIO J, DE BRAUD F ET AL. Fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin with and without cetuximab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2009, 27:663–671
  25. TOL J, KOOPMAN M, CATS A, RODENBURG CJ, CREEMERS GJ, SCHRAMA JG ET AL. Chemotherapy, bevacizumab, and cetuximab in metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009, 360:563–572
  26. BIBEAU F, LOPEZ-CRAPEZ E, Di FIORE F, THEZENAS S, YCHOU M, BLANCHARD F ET AL. Impact of Fc $\gamma$ R1IIa-Fc $\gamma$ R1IIa polymorphisms and *KRAS* mutations on the clinical outcome of patients with metastatic colorectal cancer treated with cetuximab plus irinotecan. *J Clin Oncol* 2009, 27:1122–1129
  27. GARM SPINDLER KL, PALLISGAARD N, RASMUSSEN AA, LINDEBJERG J, ANDERSEN RF, CRÜGER D ET AL. The importance of *KRAS* mutations and EGF61A>G polymorphism to the effect of cetuximab and irinotecan in metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2009, 20:879–884
  28. PERRONE F, LAMPIS A, ORSENIGO M, DI BARTOLOMEO M, GEVORGYAN A, LOSA M ET AL. PI3KCA/PTEN deregulation contributes to impaired responses to cetuximab in metastatic colorectal cancer patients. *Ann Oncol* 2009, 20:84–90
  29. LIÈVRE A, BACHET JB, BOIGE V, CAYRE A, Le CORRE D, BUC E ET AL. *KRAS* mutations as an independent prognostic factor in patients with advanced colorectal cancer treated with cetuximab. *J Clin Oncol* 2008, 26:374–379
  30. DE ROOCK W, PIESSEVAUX H, DE SCHUTTER J, JANSSENS M, DE HERTOGH G, PERSONENI N ET AL. *KRAS* wild-type state predicts survival and is associated to early radiological response in metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *Ann Oncol* 2008, 19:508–515
  31. Di FIORE F, BLANCHARD F, CHARBONNIER F, Le PESSOT F, LAMY A, GALAIS MP ET AL. Clinical relevance of *KRAS* mutation detection in metastatic colorectal cancer treated by cetuximab plus chemotherapy. *Br J Cancer* 2007, 96:1166–1169
  32. FRATTINI M, SALETTI P, ROMAGNANI E, MARTIN V, MOLINARI F, GHISLETTA M ET AL. PTEN loss of expression predicts cetuximab efficacy in metastatic colorectal cancer patients. *Br J Cancer* 2007, 97:1139–1145
  33. KARAPETIS CS, KHAMBATA-FORD S, JONKER DJ, O'CALLAGHAN CJ, TU D, TEBBUTT NC ET AL. *K-ras* mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *N Engl J Med* 2008, 359:1757–1765
  34. LINARDOU H, DAHABREH IJ, KANALOUPITI D, SIANNIS F, BAFALOUKOS D, KOSMIDIS P ET AL. Assessment of somatic *k-RAS* mutations as a mechanism associated with resistance to EGFR-targeted agents: A systematic review and meta-analysis of studies in advanced non-small-cell lung cancer and metastatic colorectal cancer. *Lancet Oncol* 2008, 9:962–972
  35. SARIDAKI Z, GEORGOULIAS V, SOUGLAKOS J. Mechanisms of resistance to anti-EGFR monoclonal antibody treatment in metastatic colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2010, 16:1177–1187
  36. ARNOLD D, SEUFFERLEIN T. Targeted treatments in colorectal cancer: State of the art and future perspectives. *Gut* 2010, 59:838–858
- Corresponding author:  
N. Tsoukalas, 10–12 N. Gennimata street, GR-115 24 Athens, Greece  
e-mail: tsoukn@yahoo.gr