

## Izražaj receptora epidermalnog čimbenika rasta (EGFR) u nesitnostaničnom raku pluća

*The manifestation of epidermal growth factor receptor (EGFR )  
in non-small-cell lung cancer*

Ivan Bačić, Ana Stipčević, Neven Skitarelić\*

---

### Sažetak

Rak pluća je najčešća maligna bolest, kao i najčešći uzrok smrti od malignih bolesti na svijetu. Standardni oblici liječenja su operacijsko liječenje, te liječenje kemoterapijom i zračenjem. Određivanje receptora epidermalnoga čimbenika rasta (EGFR) u tumorskim stanicama omogućava primjenu specifičnih lijekova koji blokiraju taj receptor, što ima povoljan terapijski učinak.

U ovom smo radu ispitali učestalost proteinske ekspresije EGFR u stanicama nesitnostaničnoga raka pluća i njegov utjecaj na histološku zrelost tumora kod bolesnika koji su operirani na Odjelu za kirurgiju OB Zadar.

Zaključak: Proteinska ekspresija EGFR u našem materijalu nije povezana sa zrelošću tumora. Ipak, određivanje EGFR statusa svakog tumora je važno zbog adekvatne primjene anti EGFR lijekova.

**Cljučne riječi:** rak pluća, EGFR, histološka zrelost tumora, inhibitori tirozin kinaze

---

### Summary

Lung cancer is the most frequent malignant disease, and most often the cause of death from malignant disease in the world. Standard forms of treatment are surgery, chemotherapy and radiation treatment. Determining the epidermal growth factor receptor (EGFR) in tumor cells enables the application of specific medication that blocks the mentioned receptor and which has a favorable therapeutic effect.

We have described, in this work, the frequency of EGFR protein expression in cells of non-small-cell lung cancer and its impact on the histological maturity of the tumor in patients that have undergone surgery at Zadar General Hospital Department of Surgery.

Conclusion: Protein EGFR expression in our material is not connected with tumour maturity. However, it is important to determine the EGFR status of every tumour due to adequate application of anti EGFR medications.

**Key words:** lung cancer, EGFR, histological maturity of the tumor, tyrosine kinase inhibitors

*Med Jad 2013;43(3):155-157*

### Uvod

Rak pluća je najčešća maligna bolest, kao i najčešći uzrok smrti od malignih bolesti u svijetu.<sup>1</sup> Operacijsko liječenje je u ranijim stadijima nesitnostaničnoga raka pluća (NSCLC) potencijalno kurativno, dok su u uznapredovanim (IIIA, IIIB i IV) stadijima bolesti kemoterapija i radioterapija standardni oblici liječenja.

Kao dodatak ovim metodama liječenja uvedena je ciljana molekularna terapija za liječenje raka pluća u uznapredovalim stadijima. Prototip ciljne molekule u liječenju nesitnostaničnog raka pluća je receptor za epidermalni čimbenik rasta (Epidermal growth factor receptor (EGFR)).<sup>2</sup>

U nesitnostaničnom raku pluća često postoji pojačana ekspresija EGFR. Ovaj receptor ima značajnu ulogu u proliferaciji tumorskih stanica, invaziji, metastaziranju i inhibiciji apoptoze.<sup>3,4</sup>

---

\* **Opća bolnica Zadar**, Odjel za kirurgiju, Torakalni odsjek (Dr. sc. Ivan Bačić, dr. med.; Ana Stipčević, bacc. ms); Odjel za otorinolaringologiju i maksilofacijalnu kirurgiju (Prof. dr. sc. Neven Skitarelić, dr. med.)

Adresa za dopisivanje / *Correspondence address:* Dr. sc. Ivan Bačić, dr. med., Opća bolnica Zadar, Odjel kirurgije, Torakalni odsjek, Bože Peričića 5, 23000 Zadar

Primljeno / *Received* 2013-02-15; Ispravljeno / *Revised* 2013-03-14; Prihvaćeno / *Accepted* 2013-03-26

Brojni su radovi koji su pokušali dokazati povezanost pretjerane ekspresije EGFR i lošijeg preživljenja, ali su rezultati proturječni i zbunjujući.<sup>5,6,7</sup> Ukupna EGFR ekspresija u nesitnostaničnom raku pluća je 51%. Češća je kod planocelularnog (52%), nego kod adenokarcinoma (46%).<sup>8</sup>

Određivanje proteinske ekspresije EGFR u tumorskim stanicama raka pluća je važno radi procjene terapijskoga odgovora na lijekove koji ciljano blokiraju EGFR – gefitinib, erlotinib.<sup>9</sup> Ovi lijekovi su inhibitori tirozin kinaze i dokazano su učinkoviti kod uznapredovalog nesitnostaničnoga raka pluća. Primjenjuju se kao druga ili treća farmakološka linija terapije nesitnostaničnoga raka pluća kod bolesnika kod kojih kemoterapija bazirana na platini nije polučila željeni terapijski učinak. Ova procjena je apsolutno nužna da bismo odredili bolesnike koji bi mogli imati koristi od primjene ovih lijekova, maksimalizirajući terapijski učinak i reducirajući toksične nuspojave i troškove liječenja.<sup>10,11</sup>

Sini i autori su na eksperimentalnim modelima in vitro pokazali da inhibicija EGFR blokira proliferaciju tumorskih i endotelinih stanica. Kod in vitro izazvane angiogeneze, EGF je stimulirao angiogenezu. Stoga, simultana blokada angiogeneze i EGFR signalnih putova rezultira antitumorskim efektom, upućujući na ovu kombinaciju kao dobru terapijsku strategiju.<sup>15</sup>

### Materijal i metode

U ovoj studiji analizirano je 50 bolesnika koji su operirani od nesitnostaničnoga karcinoma pluća u vremenskom razdoblju od 1. 3. 2007. do 1. 3. 2008. godine na Odsjeku torakalne kirurgije Opće bolnice Zadar. Niti jedan bolesnik nije preoperativno liječen kemoterapijom ili radioterapijom. Histopatološke osobine tumora su klasificirane prema kriterijima Svjetske zdravstvene organizacije, a stadij svakoga tumora određen je prema odrednicama međunarodnog sustava za određivanje stadija raka pluća.<sup>15</sup> Svaki tumor podvrgnut je imunohistokemijskoj analizi na EGFR.

### Imunohistokemija

Iz svakog uzorka tumorskog tkiva uzeti su uzorci s tri različita područja, u svrhu formiranja tkivnog mikroareja (TMA) koji je omogućio pregled i analizu 50 uzoraka karcinoma pluća. Svi uzorci su fiksirani u 10% formalinu, uklopljeni u parafin i obojani hemalaun eozinom (HE) radi patohistološke analize preparata. Neoplazme su klasificirane prema SZO klasifikacijskoj skali.

Od prethodno odabranih parafinskih blokova s uklopljenim tumorskim tkivom, iz arhive Zavoda za patologiju, prvo se napravi novi rez i oboji HE da bi patolog mogao odrediti reprezentativno područje tumora na preparatu koje će biti uzeto za istraživanje. Odabrana zona tumorskoga tkiva se označi na staklu vodootpornim flomasterom i potom se to isto područje prenese na prateći parafinski blok davatelj. Pomoću aparata MTA Booster OI (Alphelys, Plaisir, Francuska), s označenoga mjesta na bloku davatelju, uzmu se po 3 cilindra tumorskoga tkiva, promjera 1 mm i premjeste u novi parafinski blok primatelj (mikroarej blok primatelj) po zadanim koordinatama. Parafinski blok primatelj se potom ostavi preko noći u termostatu na temperaturi od 45°C da bi se cilindri s bloka davatelja povezali i uklopili u blok primatelj, te potom narezali za daljnje imunohistokemijske analize. S TMA bloka narežu se rezovi debljine 4µm i prebace na stakla s pozitivno nabijenom površinom za bolju adheziju tkiva (DakoREAL<sup>TM</sup>, Glostrup, Danska). Nakon sušenja, preparati se deparafiniziraju u ksilenu, te rehidriraju u etanolu. Imunohistokemijsko bojanje specifičnim protutijelima na EGFR (Dako, Glostrup, Danska) napravljena su na uređaju za automatizirano bojanje Dako Autostainer (Dako Cytomation, Glostrup, Danska).

### Evaluacija rezultata

Imunohistokemija EGFR evaluirana je na sljedeći način: "-" nema imunoreaktivnosti ili imunoreaktivnost na < 10% tumorskih stanica; i "+" - membransko bojanje u > 10% tumorskih stanica.<sup>16</sup>

### Rezultati

Srednja životna dob bolesnika bila je 66 godina (46-80), bilo je 8 (16%) žena i 42 (84%) muškaraca.

Od 50 preparata nesitnostaničnih karcinoma pluća, bilo je 26 (52%) adenokarcinoma i 24 (48%) planocelularnih karcinoma. Proteinska ekspresija EGFR izražena je u 17 (34%) bolesnika. Među adenokarcinomima ekspresija EGFR je evidentna u 8 (47%) bolesnika, a kod planocelularnog karcinoma u 9 (56%) bolesnika.

### Rasprava

Uloga EGFR-a u malignoj transformaciji i tumorskoj progresiji prepoznata je još 1984. godine. Prekomjerna ekspresija ovoga proteina može se naći u velikom broju solidnih tumora i najčešće upućuje na agresivnije tumore s posljedično lošijom prognozom.

Brojne studije izvještavaju o pojačanoj ekspresiji EGFR u 40-80% bolesnika s nesitnostaničnim rakom pluća. Lijekovi koji ciljano inhibiraju receptorsku tirozin kinazu pokazuju učinak na apoptozu, inhibiciju rasta i redukciju stanične proliferacije u tumoru.

Kod jednoga broja bolesnika koji boluju od nesitnostaničnog raka pluća u uznapredovalom stadiju došlo je do regresije bolesti nakon primjene anti EGFR lijekova.

Klinička primjena molekularne dijagnostike omogućava razumijevanje mehanizma djelovanja i predviđanje terapijskoga učinka anti-EGFR lijekova. Zato je evaluacija EGFR ekspresije u svakom tumoru nužna prije donošenja odluke o terapiji inhibitorima tirozin kinaze.

U ovoj studiji smo ispitali proteinsku ekspresiju EGFR kod 50 nesitnostaničkih karcinoma pluća.

U našoj studiji dokazali smo proteisku ekspresiju EGFR u 34% tumora. Ekspresija EGFR u našoj studiji je nešto niža u odnosu na do sada publicirane studije, ali govori u prilog tvrdnji da je određivanje proteiske ekspresije EGFR važno, kako za terapijski pristup, tako i za prognozu bolesti.

### Zaključak

Zaključno možemo reći da se proteinska ekspresija EGFR lako određuje imonohistokemijski i da je izvediva u svakoj bolnici u kojoj se liječe bolesnici koji boluju od raka pluća. Takva evaluacija svakog tumora omogućava racionalnu primjenu anti-EGFR lijekova, čime se izbjegavaju nepotrebne toksične nuspojave liječenja kod bolesnika koji su EGFR negativni, kao i troškovi takvoga liječenja.

### Literatura

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thum MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin.* 2009;59:225-49.
2. Dancey JE, Freidlin B. Targeting epidermal growth factor receptor – are we missing the mark? *Lancet.* 2003;362:62-4.
3. Shields TW, LoCicero III J, Reed CE, et al. *General thoracic surgery*, 7th edition. Lippincot, Williams & Wilkins. 2009.
4. Scagliotti GV, Selvaggi G, Novello S, Hirsch FR. The biology of epidermal growth factor receptor in lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2004;305:4227-32.
5. Greatens TM, Niehans GA, Rubins JB, et al. Do molecular markers predict survival in non-small-cell lung cancer? *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;157:1093-97.
6. Watzka SB, Rauscher-Pötsch I, Nierlich P, Setinek U, Köstler WU, et al. Concordance between epidermal

growth factor receptor status in primary non-small-cell lung cancer and metastases: a post-mortem study. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2010;38:34-37.

7. Nicholson RI, Gee JM, Harper ME. EGFR and cancer prognosis. *Eur J Cancer.* 2001;37 Suppl 4:S9-15.
8. Holbro T, Civenni G, Hynes NE. The ErbB receptors and their role in cancer progression. *Exp Cell Res.* 2003;284:99-110.
9. Doroshow JH. Targeting EGFR in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2005;353:200-2.
10. West HL, Franklin WA, McCoy J, et al. Gefitinib therapy in advanced bronchioloalveolar carcinoma: Southwest Oncology Group Study S0126. *J Clin Oncol.* 2006;24:1807-13.
11. Paez JG, Janne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science.* 2004;304:1497-500.
12. Sivridis E, Giatromanolaki A, Koukourakis MI. The vascular network of tumours what is it not for? *J Pathol.* 2003;201:173-180.
13. Bergers G, Benjamin LE. Tumorigenesis and angiogenic switch. *Nat Rev Cancer.* 2003;3:401-410.
14. Gjini E. Tumor angiogenesis a review on established and innovative concepts in antiangiogenic therapy. [msc dissertation] University of Utrecht, Drug Innovation Faculty of Pharmaceutical Sciences, 2005.
15. Sini P, Wyder L, Schnell C, et al. The antitumor and antiangiogenic activity of vascular endothelial growth factor receptor inhibition is potentiated by ErbB1 blockade. *Clin Cancer Res.* 2005;11:4521-32.
16. Tsao MS. Erlotinib in lung cancer-molecular and clinical predictors of outcome. *N Engl J Med.* 2005;353:133-44.
17. Matsuyama K, Chiba Y, Sasaki M, Tanaka H, Muraoka R, Tanigawa N. Tumor angiogenesis as a prognostic marker in operable non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg.* 1998;65:1405-9.

