



LE NUOVE TERAPIE MIRATE

Prof. Francesco Cognetti *, Dr.ssa Alessandra Felici **

Le nuove conoscenze sui meccanismi coinvolti nel processo di trasformazione e progressione tumorale ed il riconoscimento delle proteine coinvolte nella regolazione di questi processi, ha aperto una nuova era nella formulazione e nella valutazione clinica di nuovi farmaci: le terapie mirate. Le proteine che regolano la proliferazione, la differenziazione, l'apoptosi e l'invasività cellulare sono alla base della trasformazione neoplastica e sono il bersaglio di questo nuovo approccio terapeutico. Come atteso i maggiori sforzi si sono concentrati nel trattamento delle neoplasie più frequenti, quali il tumore della mammella, del colon-retto e del polmone, ma queste molecole hanno trovato ampio spazio anche nel trattamento di tumori meno frequenti, come il carcinoma del rene. Alcuni di questi farmaci sono oggi comunemente utilizzati nel trattamento di diverse neoplasie, come il trastuzumab nel trattamento del tumore della mammella, il bevacizumab ed il cetuximab nel tumore del colon-retto ed il gefitinib e l'erlotinib nel tumore del polmone.

Parola chiave: Terapie mirate, profili proteomici.

Negli ultimi decenni importanti ed applicabili acquisizioni di oncologia molecolare, in particolare la conoscenza dell'intera sequenza del genoma umano, hanno consentito di ridurre il divario tra ricerca di base e pratica clinica. Lo studio di alcuni aspetti della biologia molecolare, come fattori di crescita, molecole coinvolte nella traduzione del segnale, angiogenesi, apoptosi, invasività e ciclo cellulare ha consentito di identificare nuovi bersagli farmacologici in grado di

interferire con eventi chiave della trasformazione e proliferazione della cellula neoplastica. Le cellule normali sono influenzate da una varietà di fattori ambientali e dell'ospite tali da produrre mutazioni "pro-oncogeniche"; ne deriva che da una singola o da una serie di queste mutazioni può risultarne una trasformazione cellulare. Come le cellule normali, la maggior parte delle cellule neoplastiche utilizzano multiple vie di segnale intracellulare al fine di assicurare il

* Direttore Scientifico dell'Istituto Regina Elena per Studio e la Cura dei Tumori – Roma

** Divisione di Oncologia Medica "A" dell'Istituto Regina Elena per Studio e la Cura dei Tumori - Roma

mantenimento e l'attività di funzioni critiche per la loro sopravvivenza. Le proteine che quindi preservano la funzione, la sopravvivenza, la proliferazione ed i recettori espressi sulla superficie cellulare possono costituire il bersaglio di una nuova forma di terapia mirata. Le nuove linee di ricerca farmacologica si sono quindi rivolte alla identificazione di agenti (terapia target) in grado di interferire in maniera selettiva contro bersagli molecolari specifici al fine di aumentare la selettività del bersaglio e di ridurre gli effetti collaterali sistemici.

Il prototipo più classico della molecola target è l'imatinib mesilato, molecola identificata in studi di screening disegnati allo scopo di identificare inibitori della tirosin chinasi Bcr-Abl, lesione molecolare responsabile dello sviluppo della leucemia mieloide cronica. Originariamente sintetizzato come inibitore del recettore per il fattore di crescita delle piastrine (PDGFR), l'imatinib è anche un potente inibitore della tirosin chinasi *c-kit* che agisce legandosi al sito dell'ATP impedendo all'enzima di fosforilare i substrati. Attualmente l'imatinib è approvato per il trattamento della leucemia mieloide cronica resistente alla terapia con interferone e per le forme di tumore dello stroma gastrointestinale (GIST) che esprimono *c-kit* [1]. In queste ultime rare forme di tumore del tratto gastroenterico l'imatinib ha consentito di ottenere un beneficio clinico in oltre l'80% dei pazienti con una risposta obiettiva in oltre il 50% dei casi, modificando radicalmente

l'approccio a questa neoplasia considerata incurabile con i tradizionali farmaci chemioterapici. L'Imatinib viene somministrato per os ad una dose di 400 mg/die e può causare nausea e vomito, edema e ritenzione fluida, mialgie, diarrea e mielosoppressione. Il sorprendente successo ottenuto con imatinib ha lasciato ipotizzare che simili risultati potessero essere raggiunti nel trattamento di altri tumori solidi agendo a livello molecolare su proteine aberranti espresse dalla neoplasia. In realtà la complessità delle alterazioni molecolari inerente i tumori solidi ha, in alcuni casi, deluso le aspettative, ma ha sicuramente offerto una nuova via di attacco e sviluppo farmacologico da associare alla chemioterapia o da utilizzare come trattamento alternativo ai farmaci citotossici.

Nell'ambito del trattamento del tumore della mammella, l'ormonoterapia può essere definita la prima terapia target utilizzata nel trattamento dei tumori endocrino-correlati. L'utilizzo di farmaci che inibiscono la stimolazione ormonale nasce dal presupposto che gli ormoni possano causare un'eccessiva proliferazione nelle cellule ormonoresponsive, fino a determinare una vera e propria trasformazione neoplastica ed ha dimostrato nel tempo di essere una delle armi più potenti a disposizione dell'oncologo medico. Negli ultimi cinque anni una nuova molecola è stata ampiamente studiata e testata in pazienti affette da tumore della mammella: il trastuzumab, anticorpo monoclonale

ricombinante umanizzato con elevata affinità di legame per la proteina HER2/*neu*, membro della famiglia ErbB, espresso in circa il 20-30% delle pazienti con carcinoma mammario ed identificato come indicatore prognostico negativo. Un'accurata determinazione di HER2 è fondamentale per il trattamento ottimale dalla paziente e l'IHC (immunoistochimica) e la FISH (ibridazione a fluorescenza *in situ*) sono gli attuali metodi standard per la determinazione dell'espressione di HER2. Il tumore mammario HER2-positivo viene definito come IHC 3+ o FISH/CISH (ibridazione cromogenica *in situ*) positivo; i casi IHC 2+ devono essere sempre rivalutati con FISH o CISH [2]. Le linee guida per la valutazione delle pazienti con carcinoma mammario raccomandano la determinazione precoce dello stato HER2 del tumore. Due studi randomizzati hanno dimostrato che l'aggiunta del trastuzumab alla chemioterapia con taxani migliora significativamente la sopravvivenza di donne affette da carcinoma della mammella in fase metastatica. Un primo trial randomizzato su 469 pazienti ha dimostrato che la combinazione di trastuzumab e taxolo produce il 49% di risposte obiettive rispetto al 29% ottenuto con la sola chemioterapia. I risultati di questo primo studio hanno consentito la registrazione del farmaco in monoterapia ed in associazione al taxolo [3]. Nel 2004 l'indicazione è stata ampliata anche al trastuzumab in associazione con il taxotere in seguito alla pubblicazione dello studio

M77001 che confermava un vantaggio in termini di risposte obiettive, tempo alla progressione e sopravvivenza globale [4]. Attualmente il trastuzumab viene studiato in combinazione a numerosi agenti chemioterapici come la vinorelbina, la gemcitabina, i derivati del platino, la capecitabina e formulazioni meno cardi tossiche di antracicline. Infatti, seppure l'anticorpo ha un ottimo profilo di tossicità, possiede un effetto cardi tossico, la cui eziopatogenesi è in fase di studio e che ne preclude l'utilizzo in combinazione con le antracicline. Ad oggi oltre 13 mila pazienti sono stati arruolati in studi clinici con trastuzumab in fase adiuvante e le analisi *ad interim* degli studi in corso hanno dimostrato un netto vantaggio sulla sopravvivenza libera da ricadute delle pazienti trattate con l'anticorpo rispetto al gruppo di controllo. Questi dati così incoraggianti, seppur preliminari, consentono oggi di trattare le pazienti che overesprimono HER2 anche in assenza di malattia macroscopica.

Un altro recettore transmembrana tirosin-chinasico e membro della famiglia ErbB è l'EGFR, la cui espressione è stata ampiamente studiata in tutti i tumori ed ha consentito lo sviluppo di diverse molecole target soprattutto nel tumore del polmone e nel tumore del colon. L'EGFR è una glicoproteina di membrana che lega specifici ligandi, come l'EGF (epidermal growth factor) ed il TGF α (transformin growth factor alpha) nel suo dominio extracellulare. Questa interazione

conduce alla omodimerizzazione con altri EGFR o alla eterodimerizzazione con altri recettori della famiglia degli EGFR con conseguente fosforilazione del dominio intracellulare tirosin-chinasico, che è il promotore di una cascata di segnali intracellulari che regolano la proliferazione, la migrazione, l'adesione, la differenziazione e la sopravvivenza della cellula. Nell'ambito degli anti-EGFR sono stati sviluppati anticorpi monoclonali diretti contro il dominio extracellulare del recettore (cetuximab, panitumumab) e piccole molecole inibitori del dominio intracellulare tirosin-chinasico (TKI: gefitinib, erlotinib) [5,6]. Il Gefitinib è stata la prima molecola studiata nel tumore del polmone non a piccole cellule (NSCLC) ed i primi due studi condotti (IDEAL-1 e IDEAL-2) in pazienti con tumore metastatico pretrattato hanno dimostrato una percentuale di risposte fino al 20%, ma soprattutto un netto miglioramento dei sintomi e della qualità di vita di coloro che hanno risposto; in particolare sono stati identificati sottogruppi di pazienti particolarmente sensibili al trattamento con l'anti-tirosin-chinasico: asiatici, non fumatori, donne e pazienti con istotipo di adenocarcinoma. Un successivo studio di confronto verso placebo (Iressa Survival Evaluation in Lung Cancer) ha però fallito nel dimostrare un vantaggio della molecola in termini di sopravvivenza totale e nei pazienti con adenocarcinoma. Due studi internazionali hanno, inoltre, valutato l'efficacia della combinazione del gefitinib

con la chemioterapia standard utilizzata in prima linea in Europa e negli Stati Uniti, cisplatino/gemcitabina (INTACT-1) e carboplatino/paclitaxel (INTACT-2) rispettivamente, verso la chemioterapia da sola [7,8]. Nessun vantaggio sulla sopravvivenza è stato dimostrato con l'aggiunta del TKI, ma un'analisi della sottopopolazione con adenocarcinoma arruolata nell'INTACT-2 ha presentato un vantaggio significativo della sopravvivenza.

L'erlotinib è un altro inibitore tirosin-chinasico che presenta delle piccole differenze farmacologiche rispetto al gefitinib. Un primo studio di confronto tra erlotinib e placebo in pazienti pretrattati per NSCLC ha dimostrato una percentuale di risposte pari a 8,9% ed un miglioramento della sopravvivenza rispetto al placebo [9]. Anche l'erlotinib è stato associato alla chemioterapia come trattamento di prima linea in pazienti affetti da NSCLC. Lo studio TALENT (cisplatino-gemcitabina + erlotinib vs la stessa combinazione chemioterapica + placebo) e lo studio TRIBUTE (carboplatino-paclitaxel + erlotinib vs la stessa combinazione chemioterapica + placebo) hanno fallito nel dimostrare una maggiore efficacia con l'aggiunta del TKI [10,11].

Sono attualmente in corso studi di trattamento sequenziale del TKI al termine della chemioterapia.

In nessuno degli studi citati i pazienti sono stati selezionati sulla base dell'espressione dell'EGFR o di qualunque altro marker di efficacia e questa mancanza può aver

giustificato almeno in parte i risultati degli studi fin qui condotti.

Recentemente mutazioni dell'EGFR in corrispondenza del sito di legame dell'ATP sono state correlate alla risposta al trattamento sia con gefitinib che con erlotinib [12]. In particolare la percentuale di risposte sembra molto più alta in pazienti portatori della mutazione che si riscontra più frequentemente nelle donne, nei non-fumatori, in pazienti con adenocarcinoma e nei giapponesi.

Le maggiori tossicità indotte da questi farmaci si riscontrano in maggior misura nella popolazione asiatica, portatrice della mutazione; si tratta prevalentemente di rash cutaneo, reazione simil-acneiforme della cute e diarrea.

Il cetuximab è un anticorpo monoclonale diretto contro il dominio extracellulare dell'EGFR ed è stato testato prevalentemente nel trattamento del tumore del colon-retto. Modelli preclinici hanno dimostrato che il cetuximab possiede modesta attività se somministrato in monoterapia, ma è in grado di aumentare la sua attività quando somministrato in combinazione alla chemioterapia. Uno studio di fase II ha valutato, in pazienti con tumore del colon metastatico, l'attività del cetuximab in combinazione con l'irinotecan in soggetti refrattari al trattamento con questo chemioterapico, dimostrando una percentuale di risposte obiettive del 22,5%. In considerazione di questi risultati incoraggianti un ampio studio di fase II randomizzato è stato

condotto su pazienti refrattari all'irinotecan confrontando cetuximab + irinotecan con cetuximab in monoterapia; la combinazione ha dimostrato un vantaggio in risposte obiettive e tempo alla progressione [13].

Nell'ambito del trattamento del tumore del colon-retto un'altra classe di molecole ha dimostrato una promettente attività clinica, gli inibitori dell'angiogenesi. Mentre la vascolarizzazione nell'adulto sano è generalmente quiescente, i tumori richiedono una costante crescita ed un costante rimaneggiamento vascolare. Il processo dell'angiogenesi è regolato da un delicato bilancio tra fattori proangiogenici e fattori antiangiogenici, che vengono rilasciati dal tumore e dalle cellule sane, tra cui cellule endoteliali, periciti, cellule del sistema immunitario; il più potente fattore proangiogenico è il vascular endothelial growth factor (VEGF). Si tratta di un ligando in grado di interagire con un recettore transmembrana (VEGFR) presente prevalentemente sulla superficie delle cellule endoteliali; il legame con lo specifico recettore conduce ad un'aumentata permeabilità delle strutture vascolari e ad un aumento della migrazione e della proliferazione delle cellule endoteliali. Altri fattori proangiogenici sono il PDGF (platelet-derived growth factor), l'FGF-1 e 2 (fibroblast growth factor), le integrine, l'angiogenina ed altri.

Il bevacizumab è un anticorpo monoclonale umanizzato diretto contro il VEGF che è stato approvato dall'FDA nel trattamento di prima

linea del tumore del colon metastatico in combinazione con una chemioterapia contenente fluorouracile. L'approvazione è avvenuta a seguito dei risultati di un trial randomizzato che confrontava la combinazione irinotecan/5-fluorouracile/leucovorin con e senza bevacizumab [14]; i pazienti che hanno ricevuto anche l'anticorpo monoclonale hanno riportato un aumento significativo della percentuale di risposte, della durata delle risposte e della mediana di sopravvivenza. Più recentemente i risultati di uno studio di fase II che confrontava la combinazione fluorouracile/leucovorin con e senza bevacizumab in pazienti non candidati a ricevere irinotecan, ha ottenuto risultati simili al precedente studio di fase III con un vantaggio in termini di risposte e tempo libero da progressione per il braccio che riceveva anche l'anticorpo [15]. Mentre l'efficacia del bevacizumab è stata provata nel trattamento del tumore del colon-retto, il regime chemioterapico ottimale con cui associarlo è ancora in studio.

Sempre nel trattamento del tumore del colon-retto, un altro anti-angiogenico testato in due ampi studi di fase III è il vatalanib (PTK787), che, al contrario di quanto atteso, non ha prodotto vantaggi in termini di sopravvivenza rispetto alla sola chemioterapia [16]. Il vatalanib, come l'SU11248, agisce inibendo l'attività tirosin-chinasica del recettore per il VEGF (VEGFR).

I maggiori effetti collaterali legati alla somministrazione di agenti anti-angiogenici sono: la proteinuria, l'ipertensione arteriosa, l'anemia, la pastrinopenia e gli eventi tromboembolici, oltre quelli comuni agli altri agenti target, come il rash e la diarrea.

Il bevacizumab è stato testato con successo anche nel trattamento del carcinoma renale in fase metastatica, in cui, insieme ad altre molecole ad attività -anti - angiogenica, ha dimostrato di avere un'attività superiore rispetto al placebo in pazienti pretrattati. Numerosi studi sono in corso al fine di confrontare queste nuove molecole con il trattamento con citochine ritenuto ad oggi il trattamento standard per il tumore del rene. Un'altra molecola, oltre il già citato bevacizumab e l'SU11248, ha dimostrato un'interessante attività nel trattamento del tumore del rene: il sorafenib (BAY 43-9006), un inibitore di Raf chinasi attiva sulla via Raf/MEK/ERK. Si tratta di un'importante via di convergenza dei segnali di traduzione inviati attraverso il VEGFR, il PDGFR e l'EGFR [17].

Sono state riportate le principali patologie nell'ambito delle quali i farmaci sono stati inizialmente testati ed hanno riportato i maggiori successi clinici, ma sono stati condotti e sono ancora in corso numerosi studi che prevedono l'utilizzo di questi nuovi agenti in tutte le neoplasie più frequenti.

I farmaci citati in questo articolo sono solo alcuni dei multipli agenti continuamente in studio nel trattamento dei tumori e la ricerca

biologica e farmacologia è in continuo sviluppo al fine di identificare agenti con la maggiore efficacia e la minore tossicità. Gli studi futuri potranno portare allo sviluppo di un database contenente profili proteomici

con i quali il profilo del paziente può essere confrontato e dal quale si potrà selezionare una terapia individualizzata, la più sensibile e specifica possibile.

Bibliografia

1. Pazdur R, Coia LR, Hoskins WJ, Wagman LD. Cancer Management: A Multidisciplinary Approach. CMP United Business Media. 8th Edition 2004, 26-38
2. Arnould L, Denoux Y, MacGrogan G, et al. Agreement between chromogenic in situ hybridisation (CISH) and FISH in the determination of HER2 status in breast cancer. *Br J Cancer* 2003; 88:1587-91
3. Seidman AD, Fornier MN, Esteva FJ, et al. Weekly trastuzumab and paclitaxel therapy for metastatic breast cancer with analysis of efficacy by HER2 immunophenotype and gene amplification. *J Clin Oncol* 2001; 19:2587-95
4. Marty M, Cognetti F, Maraninchi D, et al.: Efficacy and safety of trastuzumab combined with docetaxel in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer given as first-line treatment: results of a randomized phase II trial (M77001). *J Clin Oncol* 2005;
5. Fukuoka M, Yano S, Giaccone G, et al.: Multi-institutional randomized phase II trial of gefitinib for previously treated patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 2237-2246
6. Kris MG, Natale RB, Herbst RS, et al.: Efficacy of gefitinib, an inhibitor of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase, in symptomatic patients with non-small cell lung cancer: A randomized trial. *JAMA* 2003; 290: 2149-2158
7. Giaccone G, Herbst RS, Manegold C, et al.: Gefitinib in combination with gemcitabine and cisplatin in advanced non-small-cell lung cancer: A phase III trial-INTACT 1. *J Clin Oncol* 2004; 22: 777-784
8. Herbst RS, Giaccone G, Schiller JH, et al.: Gefitinib in combination with paclitaxel and carboplatin in advanced non-small-cell lung cancer: A phase III trial-INTACT 2. *J Clin Oncol* 2004; 22: 785-794
9. Shepherd FA, Pereira J, Cileanu TE, et al.: A randomized placebo-controlled trial of erlotinib in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) following failure on 1st line or

- 2nd line chemotherapy. A National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group (NCICCTG) trial. *J Clin Oncol* 2004; 22:622s (abstr 7022)
10. Gatzemeier U, Pluzanska A, Szczesna A, et al.: Results of a phase III trial of erlotinib (OSI-774) combined with cisplatin and gemcitabine (GC) chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol* 2004; 22:619s (abstr.7010)
 11. Herbst RS, Prager D, Hermann R, et al.: TRIBUTE- A phase III trial of erlotinib HCl (OSI-774) combined with carboplatin and paclitaxel (CP) chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol* 2004; 22:619s (abstr. 7011)
 12. Pao W, Miller V, Zakowski M, et al.: EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from “never smokers” and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. *PNAS* 2004; 101: 13306-13311
 13. Saltz LB, Meropol NJ, Leohrer PJ Sr et al.: Phase II trial of cetuximab in patients with refractory colorectal cancer that express the epidermal growth factor receptor *J Clin Oncol* 2004; 22: 1201-1208
 14. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al.: Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2004; 350: 2335-2342
 15. Kabbinavar FF, Schulz J, McCleod M, et al.: Bevacizumab (a monoclonal antibody to vascular endothelial growth factor) to prolong progression-free survival in first-line colorectal cancer (CRC) in subjects who are not suitable candidates for first-line CPT-11. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2004; 23:249
 16. Steward WP, Thomas A, Morgan B, et al.: Expanded phase I/II study of PTK787/ZK 222584 (PTK/ZK), a novel, oral angio-genesis inhibitor, in combination with FOLFOX-4 as first-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2004; 23: 259
 17. Stadler WM. Targeted agents for the treatment of advanced renal cell carcinoma. *Cancer* 2005 Dec 1; 104(11): 2323-33