

Sviluppo e applicazione delle terapie oncologiche: basi farmacologiche e tossicità.

Alessandro Comandone

SC Oncologia

Ospedale Humanitas Gradenigo

Torino

Le terapie anticancro: classificazione

- Ormonoterapia
- Chemioterapia
- Terapie a bersaglio molecolare
- Immunoterapia
- Terapia Genica

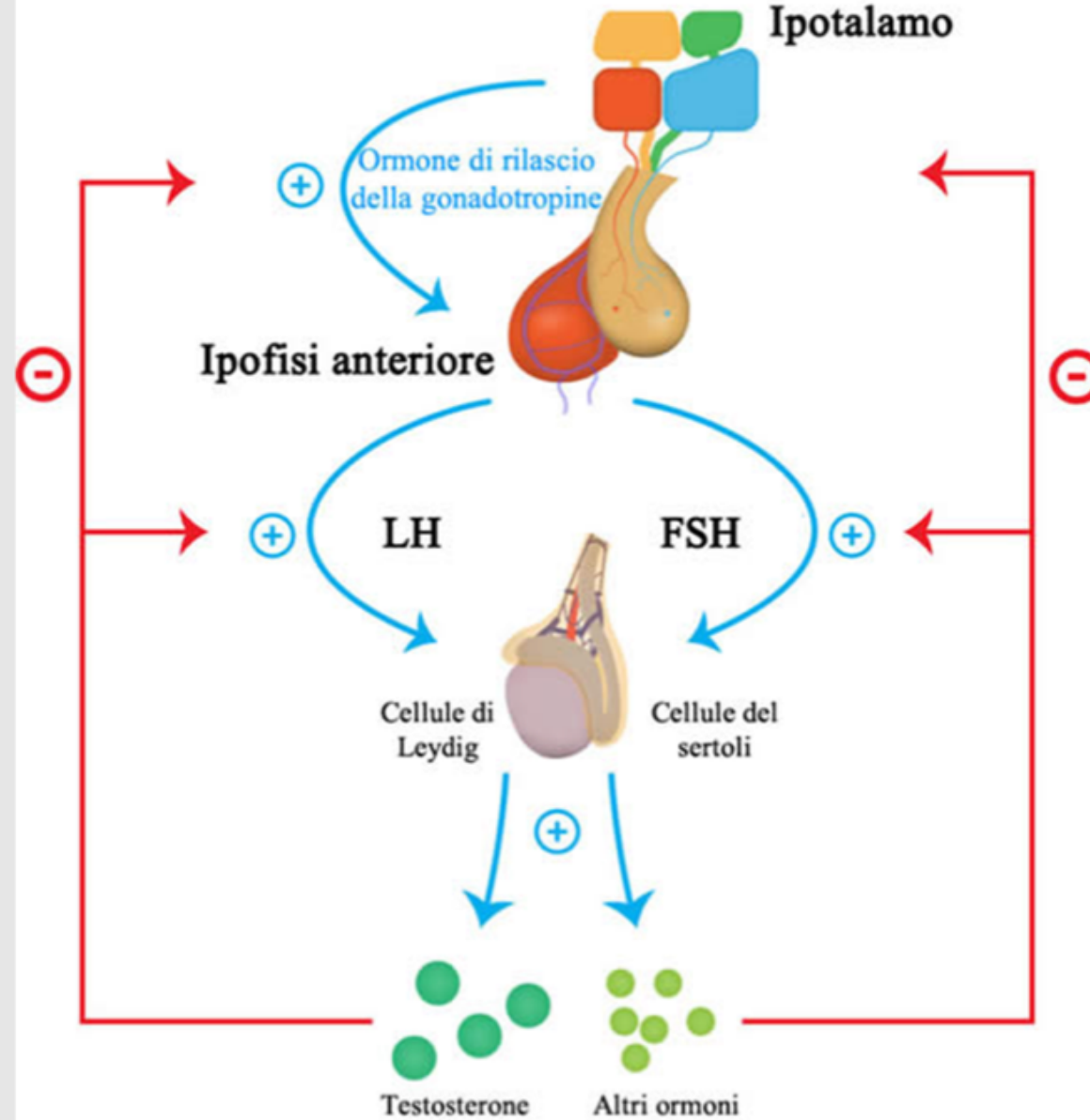
Ormonoterapia

- Ablativa
- Additiva
- Soppressiva

Farmaci ormonali usati in Oncologia.

- Antiestrogeni non steroidei Tamoxifene, Toremifene, Droloxifene
- Antiestrogeni steroidei: Faslodex
- Antiaromatasici non steroidei:
Aminoglutetimide, Anastrozolo, Letrozolo
- Antiaromatasici steroidei: Formastane, Examestane
- LHRH analoghi: Buserelin, Goserelin, Leuprorelina
- LHRH Antagonisti: Cetrolerix, Ganilerix
- Progestinici: Megestrol, Medroxyprogesterone
- Antiandrogeni: Flutamide, Bicalutamide, Abiraterone, Enzalutamide

ASSE IPOTALAMO-IPOFISI-GONADI



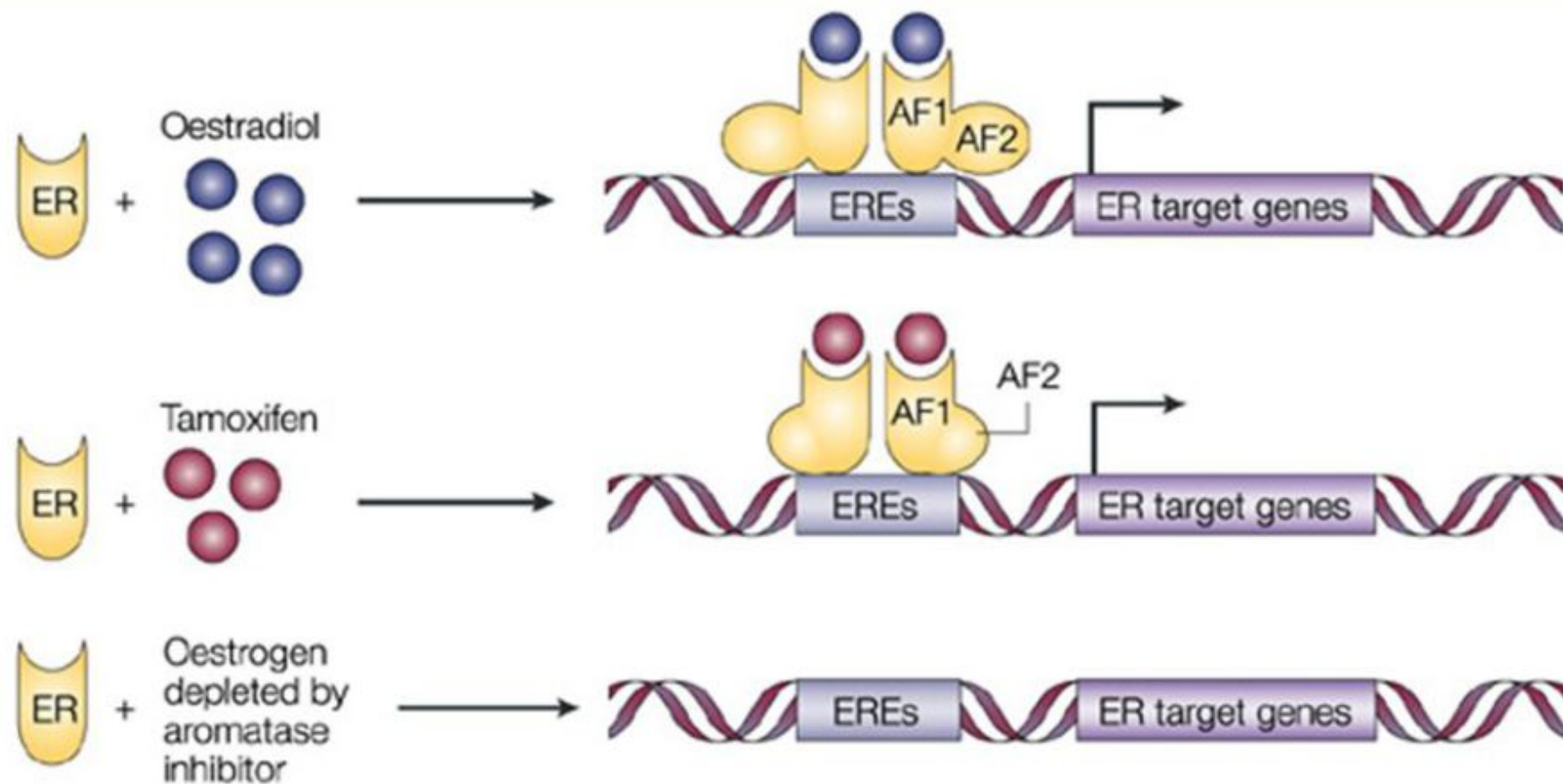
Finalità terapia ormonale

- Creare un microambiente sfavorevole alla replicazione delle cellule neoplastiche
- L'azione degli ormoni si esplica attraverso l'interazione con uno specifico recettore che trasmette il segnale all'interno della cellula e del nucleo dove avviene la trascrizione di geni specifici per proteine effettrici

Tumori che si giovano della terapia ormonale

- Carcinoma della mammella (ablativa,soppressiva,additiva)
- Carcinoma della prostata (ablativa,soppressiva,*additiva*)
- Carcinoma dell'endometrio (additiva)
- Carcinomi neuroendocrini (soppressiva)
- Carcinoma della tiroide (additiva)
- Tentativi: ca ovaio, HCC, sarcoma utero, ca rene

EFFETTI MOLECOLARI DEL TAMOXIFEN E DELLA DEPRIVAZIONE DI ESTROGENI



Studi con Antiaromatasici

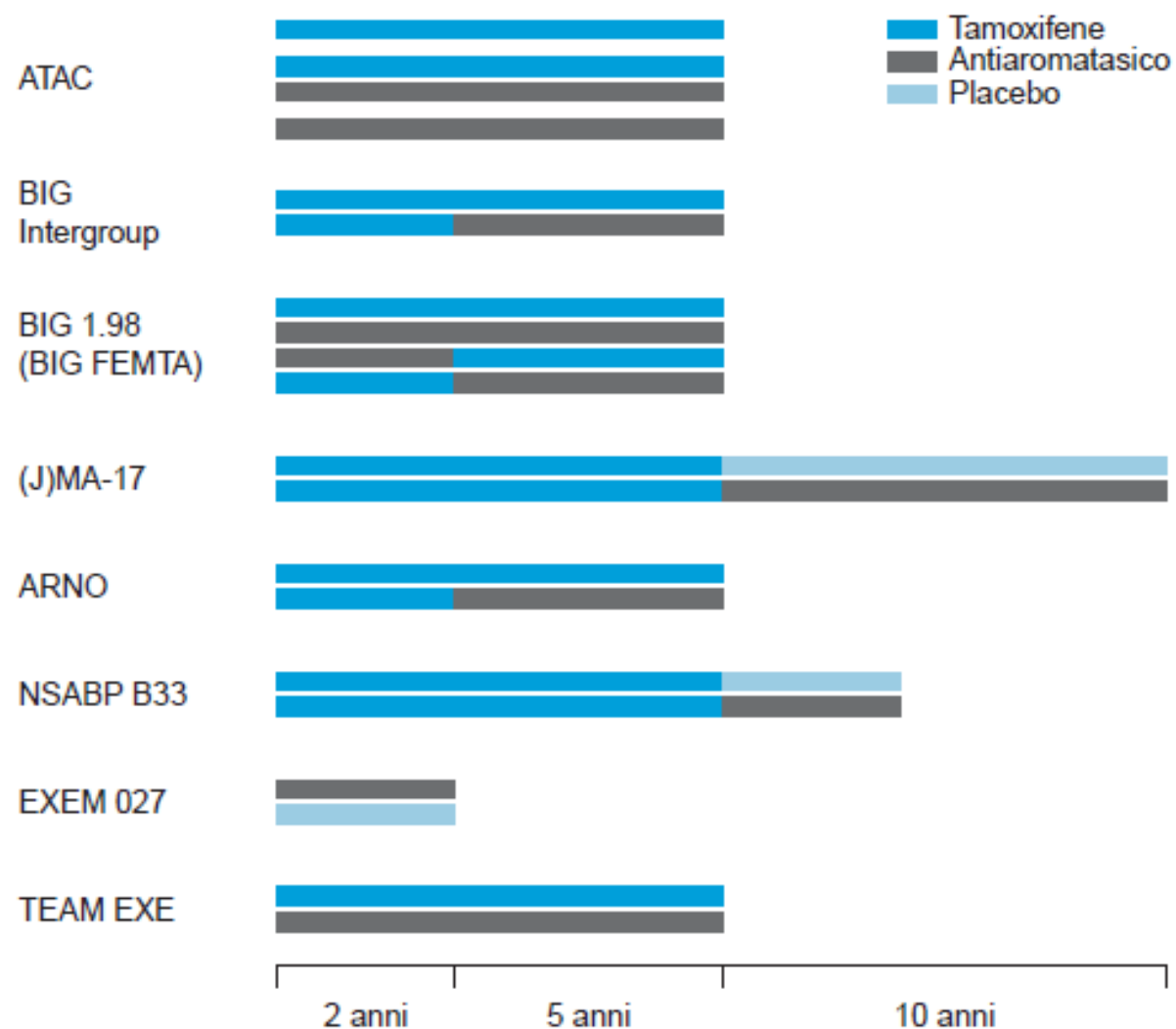


Figura 1 - Trial clinici che utilizzano gli antiaromatasici steroidei e non steroidei in adiuvante.

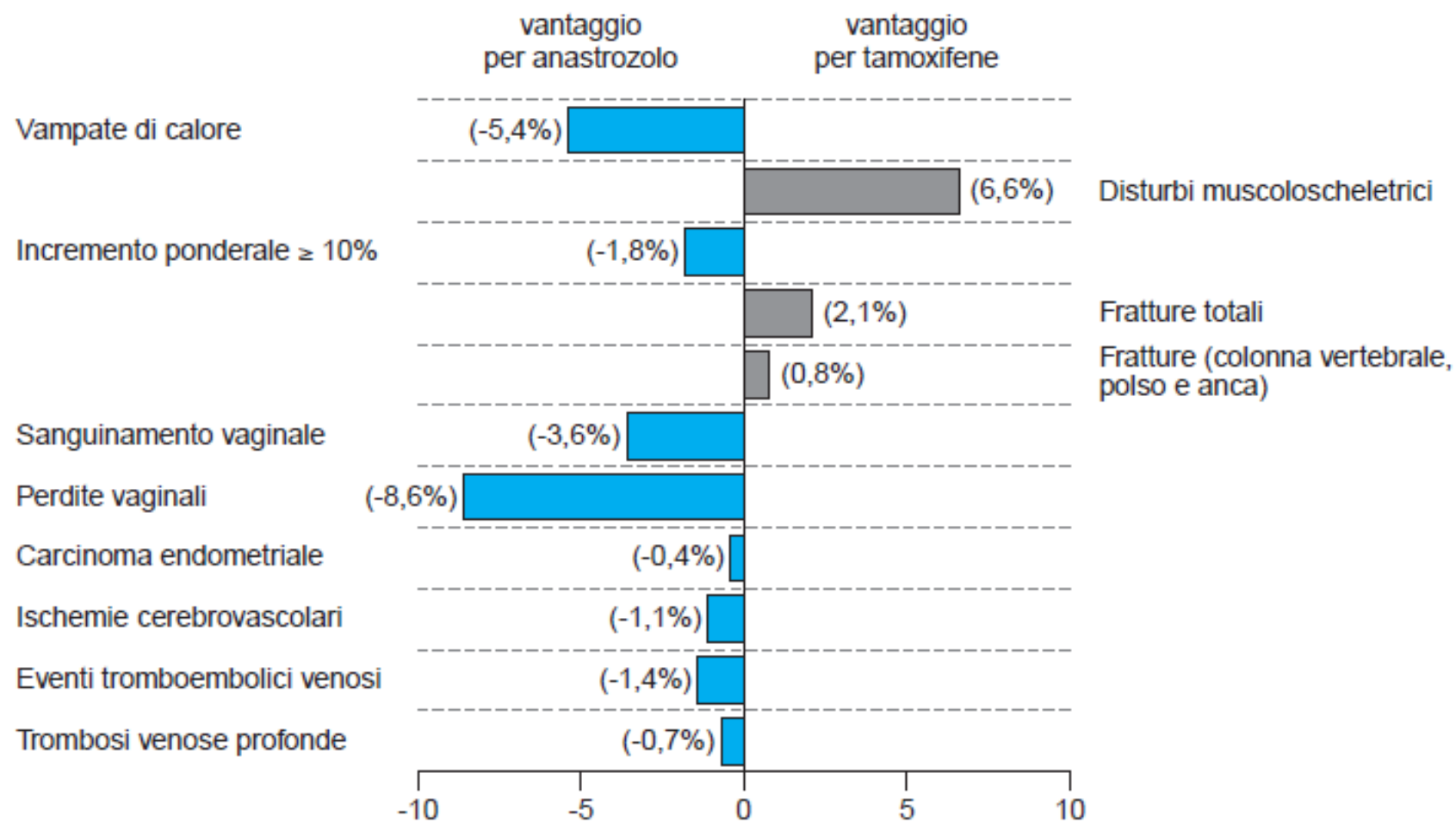
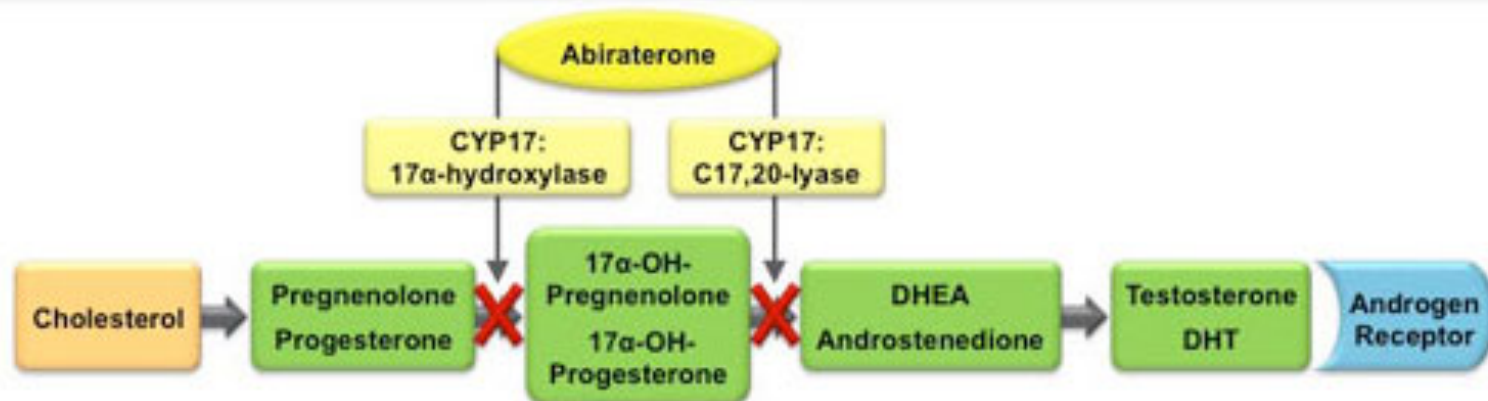


Figura 2 - Anastrozolo versus tamoxifene: incidenza degli effetti collaterali.

Abiraterone, an Androgen Biosynthesis Inhibitor: Mechanism of Action¹



- Abiraterone acetate is converted *in vivo* to abiraterone—an androgen biosynthesis inhibitor that inhibits the CYP17 enzyme complex²

Abbreviation: CYP17 enzyme complex= cytochrome P450 17 α -hydroxylase/C17,20-lyase (CYP17) enzyme complex.

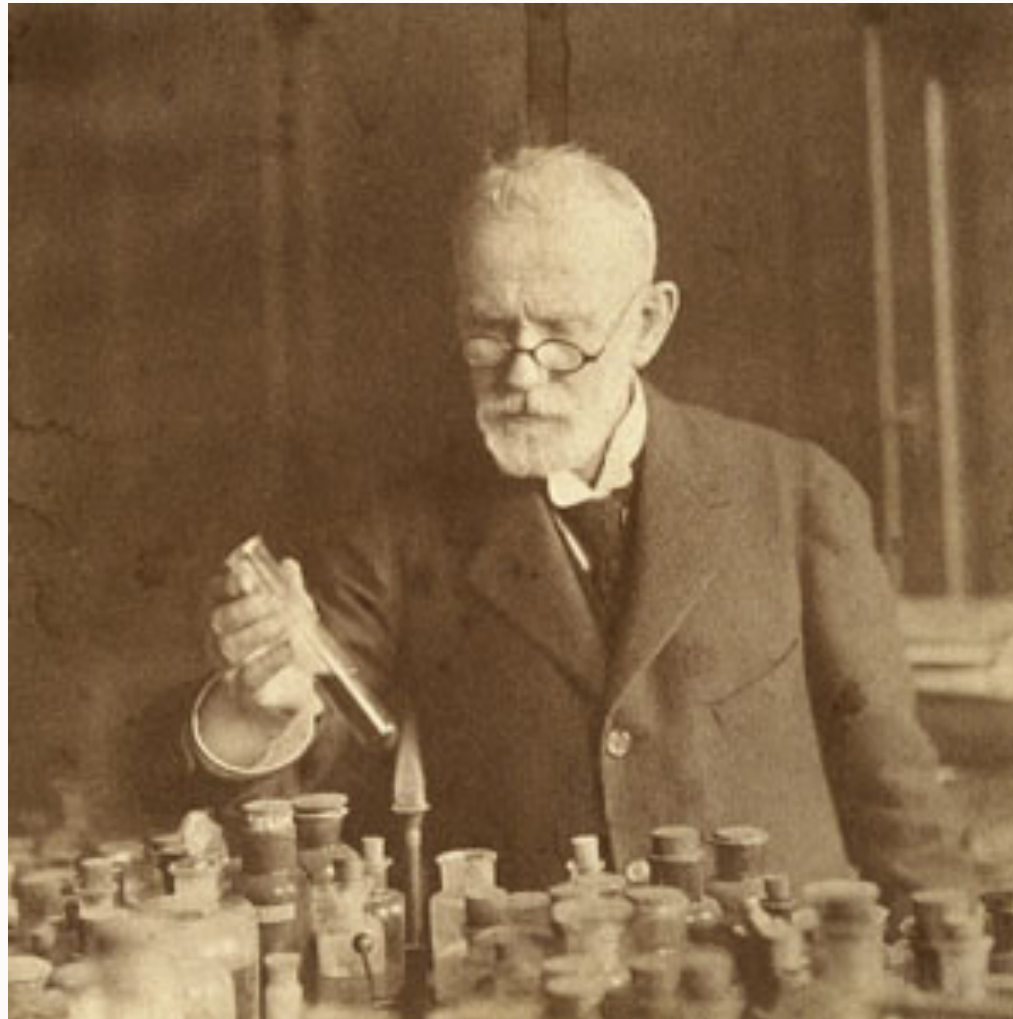
1. Attard G, et al. *J Clin Oncol*. 2008;26:4563-4571.

2. ZYTIGA® (abiraterone acetate) [package insert]. Horsham, PA: Janssen Biotech, Inc.; 2011.

I trattamenti chemioterapici

- **Chemotherapy:** treatment of disease by means of chemical substances or drugs.
(Goodman & Gilman's X Ed.)
- Paul Erlich coined the term Chemotherapy observing that certain stains were selectively concentrated in microorganisms and reasoned that such specificity might be used in the cure of infections and neoplastic diseases as a magic bullet (Perry, 2001)

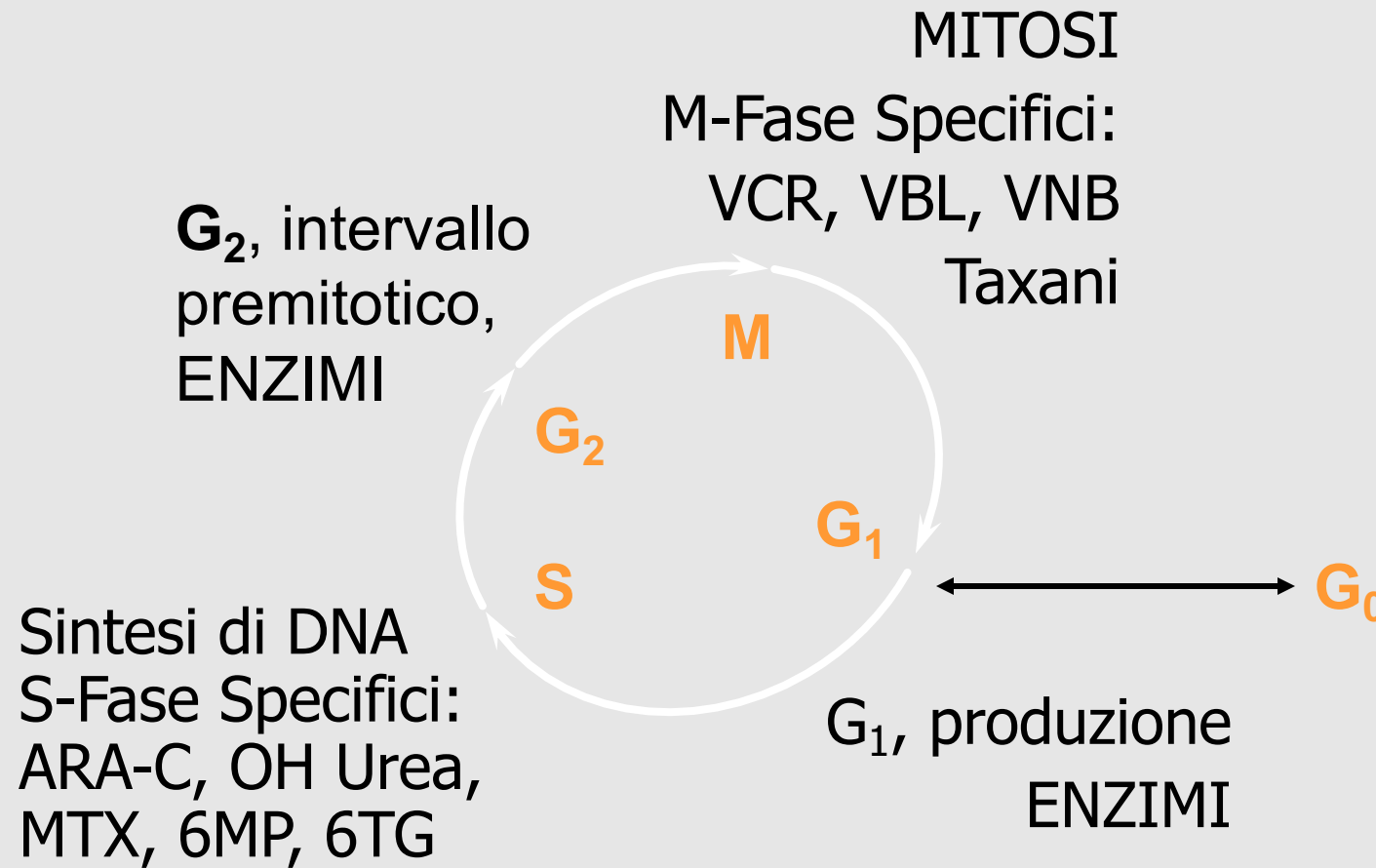
Paul Ehrlich: la terapia selettiva



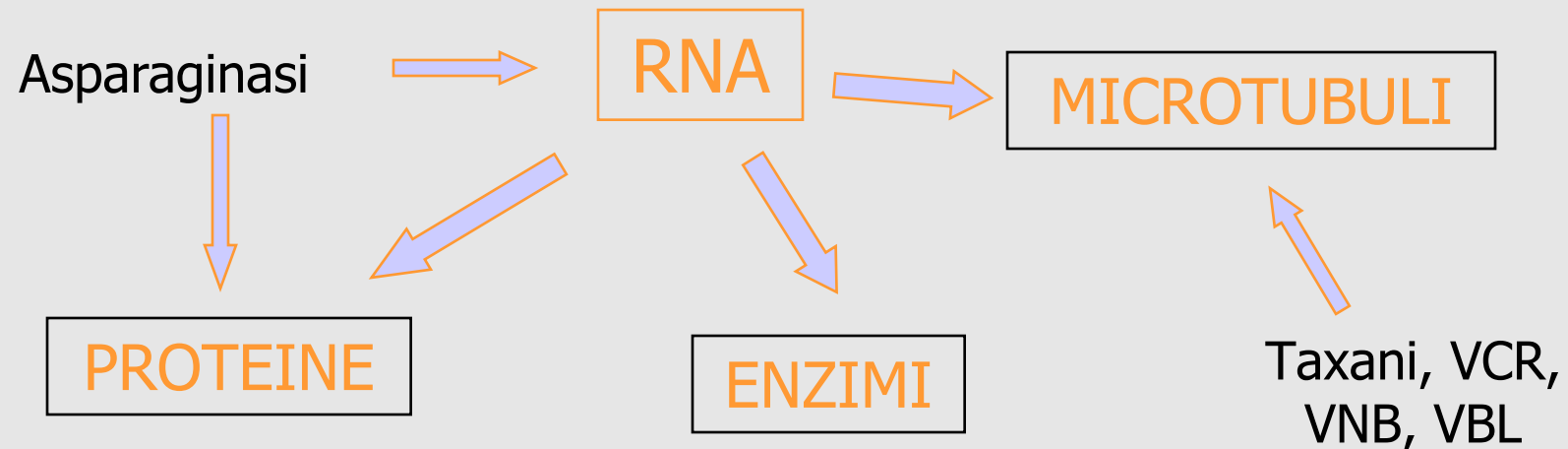
Basi razionali della chemioterapia antitumorale

- La CT agisce di preferenza sulle cellule neoplastiche a causa della loro cinetica proliferativa più accelerata rispetto ai tessuti normali. Antimetaboliti come farmaci target ante litteram
- Ma si stanno scoprendo attività anche di vecchi farmaci che si basano su una selettività di azione sui tessuti tumorali (differenze nel metabolismo, reinduzione apoptosi, azione sullo stroma e sulla niche)
- I pathways molecolari intracellulari sono però immuni dall'azione della CT

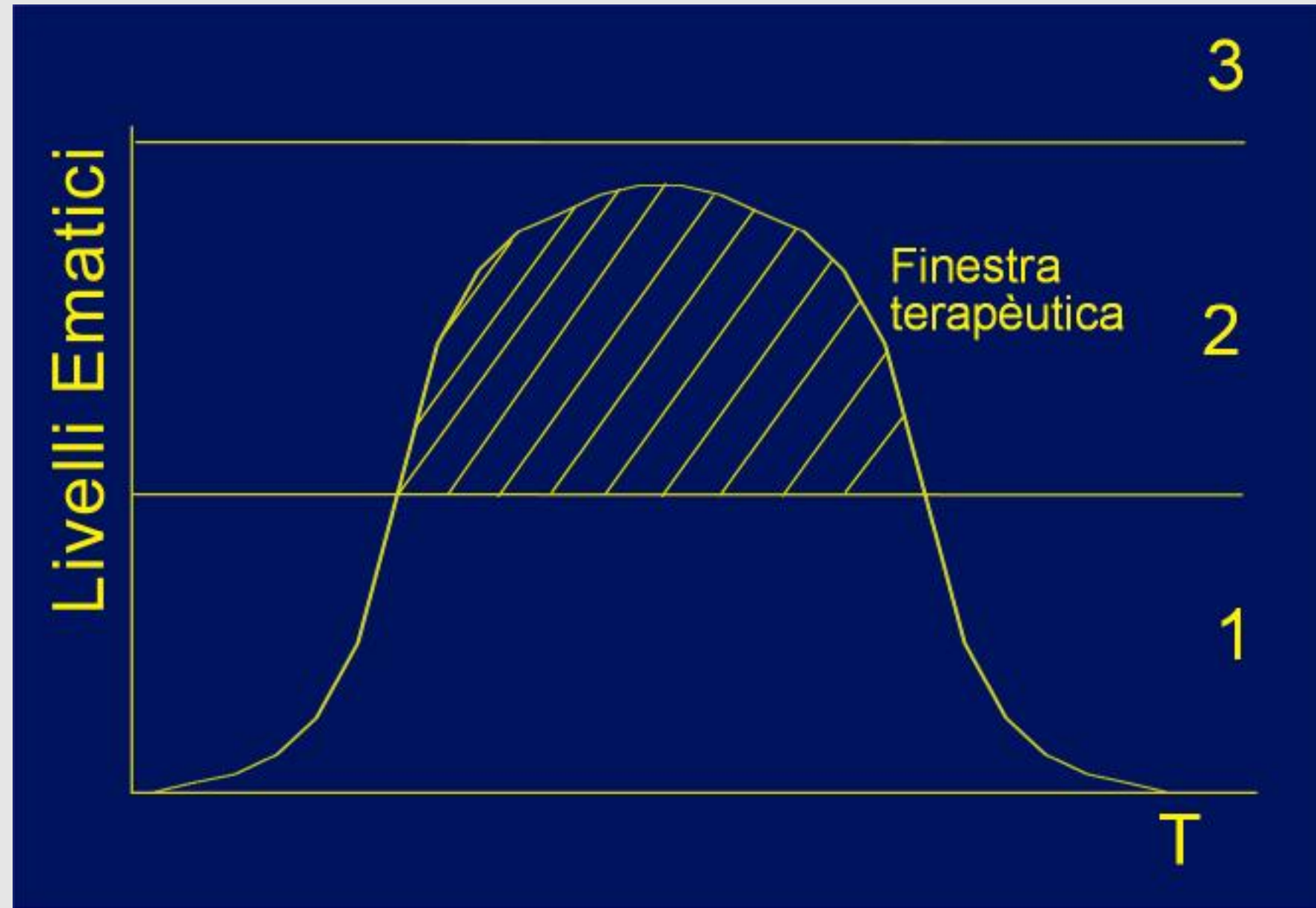
Il ciclo cellulare e l'azione dei farmaci antineoplastici



Fase non specifici: Alchilanti, Nitrosouree, antibiotici, DDP, DTIC, Epipodofillotossine, CPT11

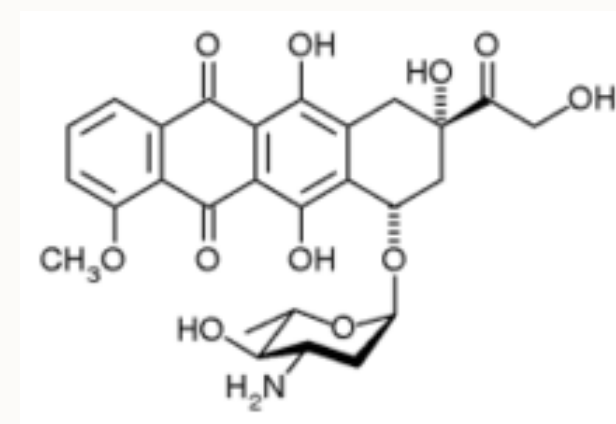
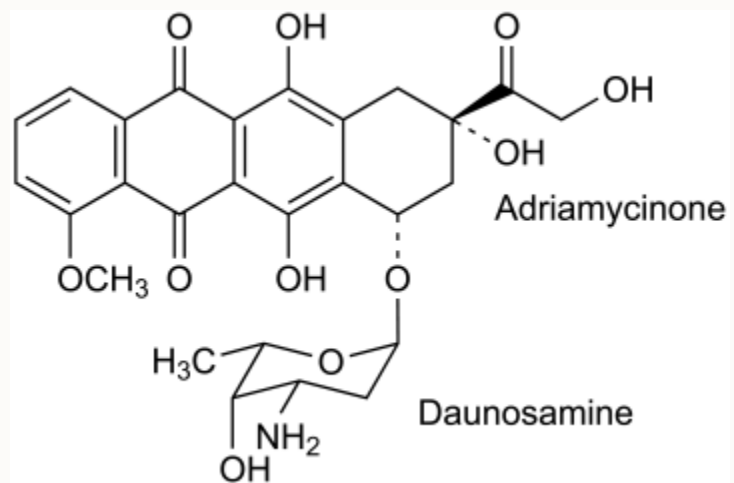


Finestra terapeutica



Classificazione dei farmaci antitumorali

- **Alchilanti** (Mostarde azotate, Alcansolfonati, Nitrosouree, Aziridine, Epossidi, Procarbazina, Dialchiltriazeni Metilmelamine)
- **Complessi del Platino** (Cis-, Carbo-, Ipro-, Oxaliplatino)
- **Antimetaboliti** (Antagonisti acido folico, Analoghi purine, pirimidine)
- **Alcaloidi di origine vegetale** (alcaloidi della Vinca, Epipodofille, Taxani, Camptotecina)
- **Antibiotici** (Antracicline, Mitoxantrone, Antrapirazolici)
- **Miscellanei** (Asparaginasi, Idrossiurea, Mitotane, Gallio Nitrato, Suramina, Trabectedina, Eribulina)
- **Ormoni**
- **Immunomodulatori**



POLICHEMIOTERAPIA:

razionale della combinazione tra farmaci

- Devono essere impiegati solo farmaci singolarmente attivi sul tipo di tumore preso in esame;
- Quando diversi farmaci di una stessa classe sono attivi, si deve scegliere il farmaco più attivo ma anche quello meno tossico o almeno la cui tossicità non si sinergizza con la tossicità di altri farmaci della combinazione;
- I singoli farmaci devono essere impiegati alla dose, cadenza periodica e sequenza ottimale;
- La tossicità midollare è quella che determina i giusti intervalli tra i cicli. Tali intervalli devono essere ridotti al minimo per non perdere di efficacia. Farmaci con nadir diversi sono difficilmente combinabili

DANNI DA FARMACI

Rispetto alla cronologia

- A) IMMEDIATI (da minuti a 6 giorni)
- B) PRECOCI (da 7 a 20 giorni)
- C) RITARDATI (da 1 mese a 1 anno)
- D) TARDIVI (a distanza di anni)

Examples of potentially cardiotoxic anticancer drugs, their mechanisms of toxicity, and of potential protective agents

Anticancer drugs with possible cardiotoxicity

Doxorubicin and other
anthracyclines

5-Fluorouracil, Capecitabine
Paclitaxel and vinca alkaloids
Cyclophosphamide

TK Inhibitors:

Trastuzumab

Imatinib

Bevacizumab

Sorafenib, sunitinib etc

COX-2 inhibitors

Estrogen receptor modulators

Irradiation to the thorax

Mechanisms of cardiotoxicity

Mitochondrial dysfunction

Apoptosis of cardiomyocytes

ROS generation

DNA damage

Endothelial cell damage, spasms

Antibody directed cellular cytotoxicity

ATP block

Cell signaling, survival block

Hypertension

Fibrosis

Sinus bradycardia

atrium-ventricular block

ventricular tachycardia

Arrhythmias

thromboembolism

Potential protective agents

ACE inhibitors

Beta-blockers

Statins

Dexrazoxane

L-Carnitine

Coenzyme Q10

N-Acetyl-L-Cysteine

Glutathione

Erdosteine

Selenium

Zinc

Melatonin

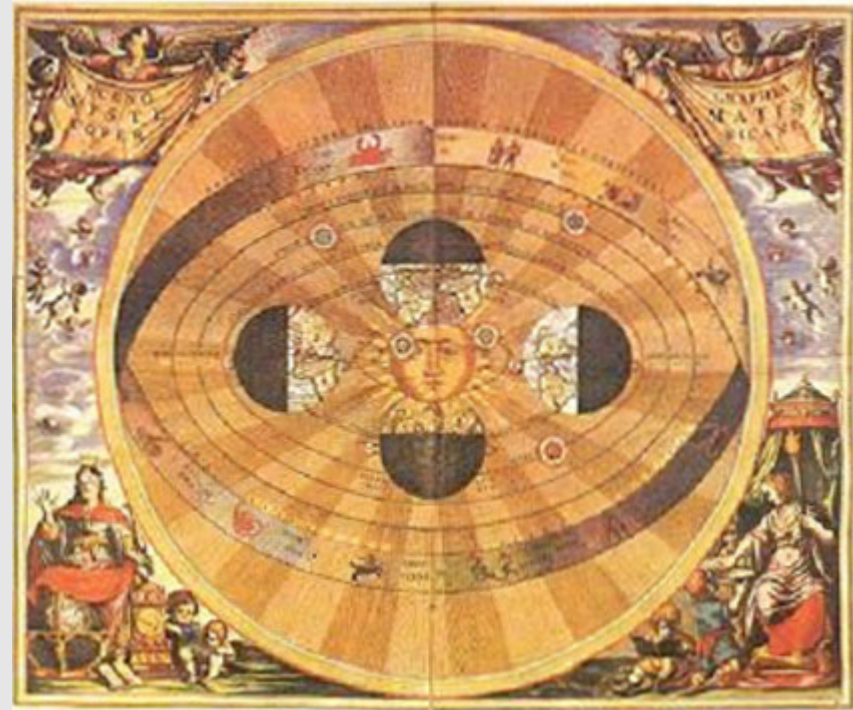
Falvonoids and polyphenols

Platelet antiaggregants

Drugs associated with CHF	Anthracyclines/ anthraquinolones Cyclophosphamide Trastuzumab and other monoclonal antibody-based tyrosine kinase inhibitors
Drugs associated with ischaemia or thromboembolism	Antimetabolites (fluorouracil, capecitabine) Antimicrotubule agents (paclitaxel, docetaxel) Cisplatin Thalidomide Bevacizumab
Drugs associated with hypertension	Cisplatin Sunitinib, sorafenib
Drugs associated with other toxic effects	
Tamponade and endomyocardial fibrosis	Busulfan
Haemorrhagic myocarditis (rare)	Cyclophosphamide (high- dose therapy)
Bradyarrhythmias	Paclitaxel
Raynaud's phenomenon	Vinblastine, bleomycin
Autonomic neuropathy	Vincristine
QT prolongation or torsades de pointes	Arsenic trioxide
Pulmonary fibrosis	Bleomycin, methotrexate, busulfan, high- dose cyclophosphamide

Farmaci a bersaglio molecolare o Target therapy

La Rivoluzione Copernicana in Farmacologia



LE CELLULE NEOPLASTICHE ACQUISISCONO NUOVE CARATTERISTICHE IN:

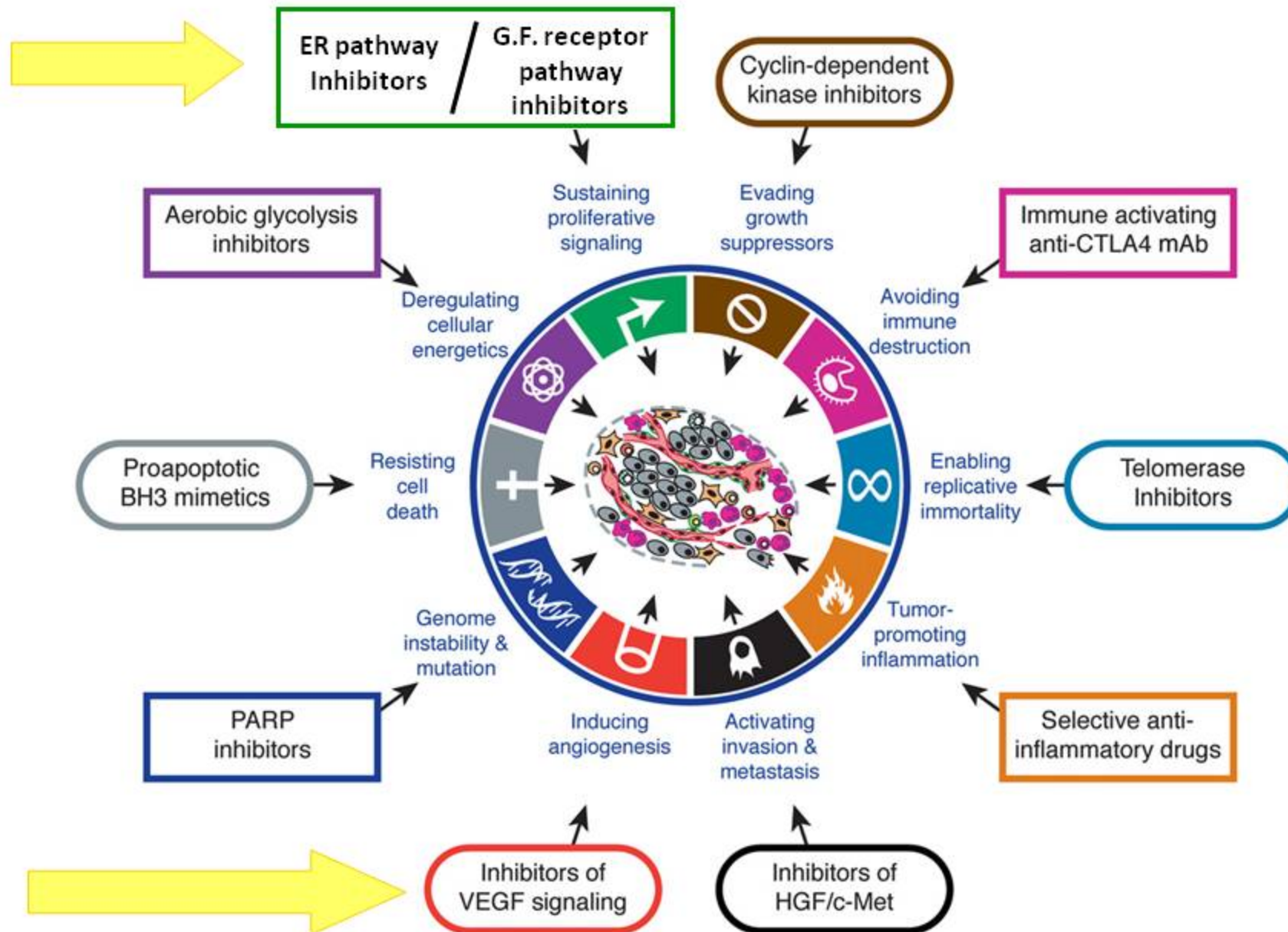
- PROLIFERAZIONE
- ADESIONE
- INVASIONE E MIGRAZIONE
- METASTATIZZAZIONE
- NEOANGIOGENESI
- INIBIZIONE DELLA APOPTOSI
- CRESCITA INCONTROLLATA
- IMMORTALITA' REPLICATIVA
- PROGRAMMAZIONE DI NUOVE VIE METABOLICHE ED ENERGETICHE

THERAPEUTIC TARGETING OF THE HALLMARKS OF CANCER

T
O
D
A
Y
'
S

T
A
R
G
E
T
E
D

D
R
U
G
S

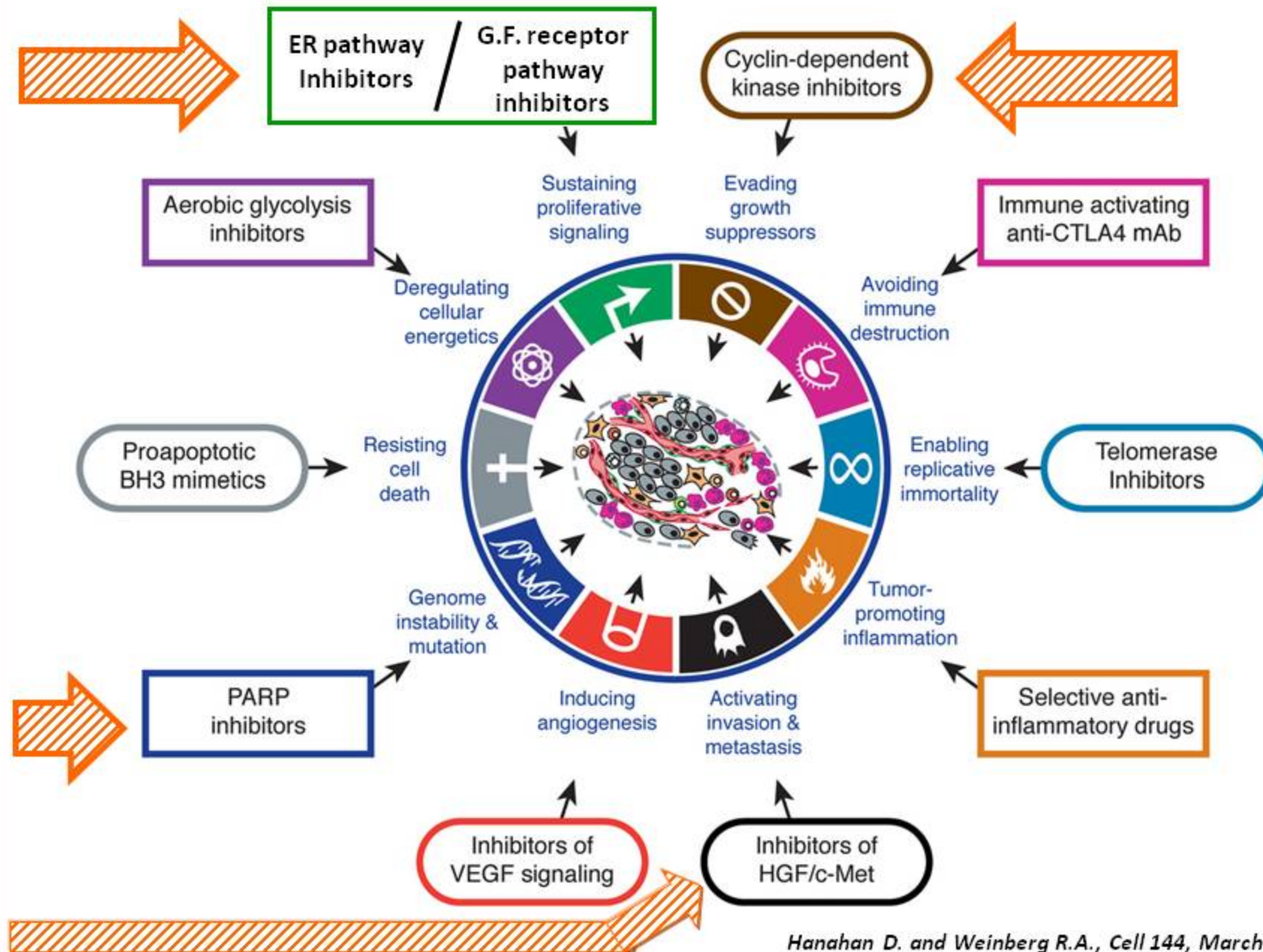


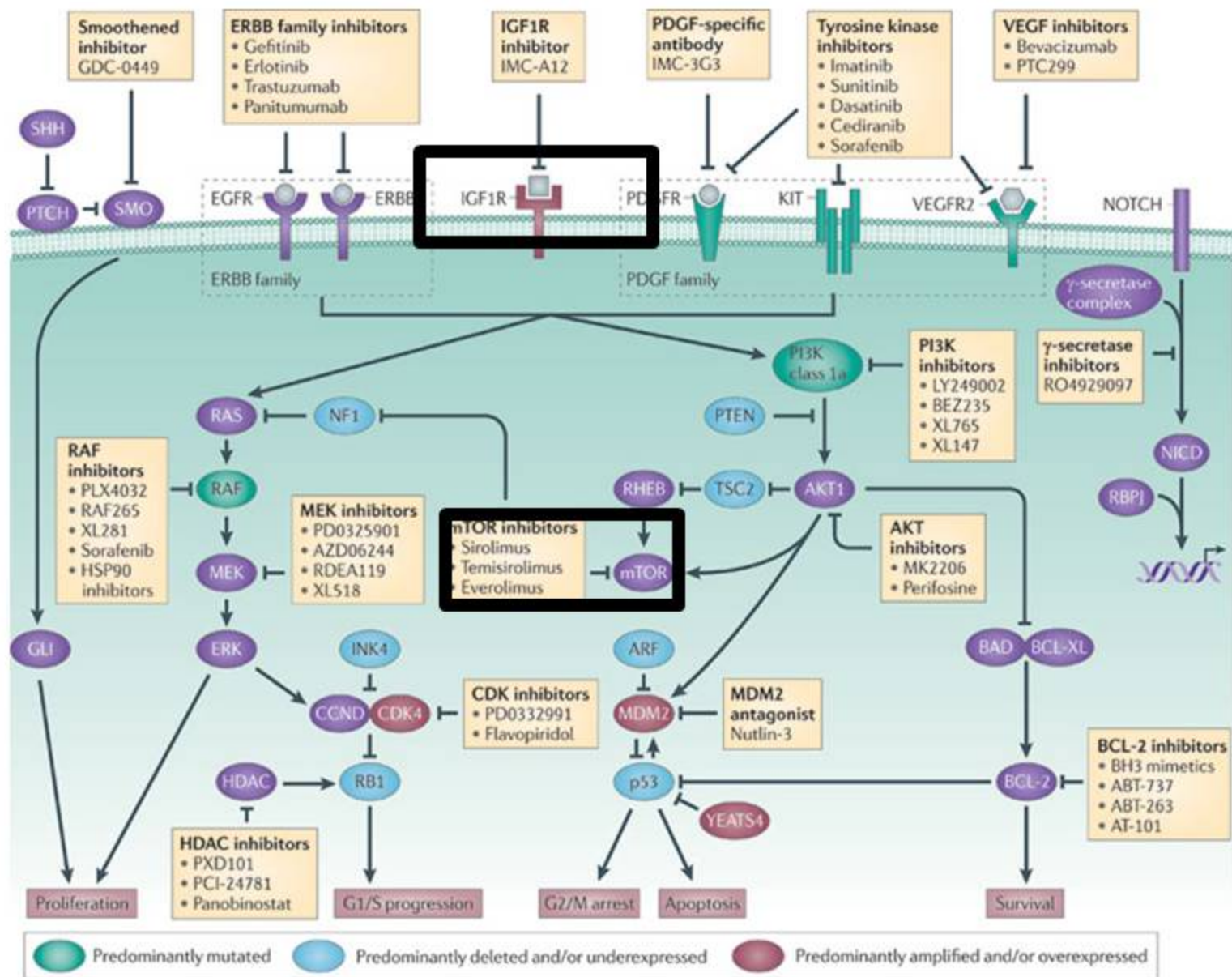
THERAPEUTIC TARGETING OF THE HALLMARKS OF CANCER

T
O
M
O
R
R
O
W
'
S

T
A
R
G
E
T
E
D

D
R
U
G
S





FARMACI A BERSAGLIO MOLECOLARE: CHE COSA CAMBIA

TARGET: le conoscenze dei meccanismi molecolari della trasformazione neoplastica hanno identificato delle aberrazioni specifiche o legate in parte allo sviluppo tumorale.

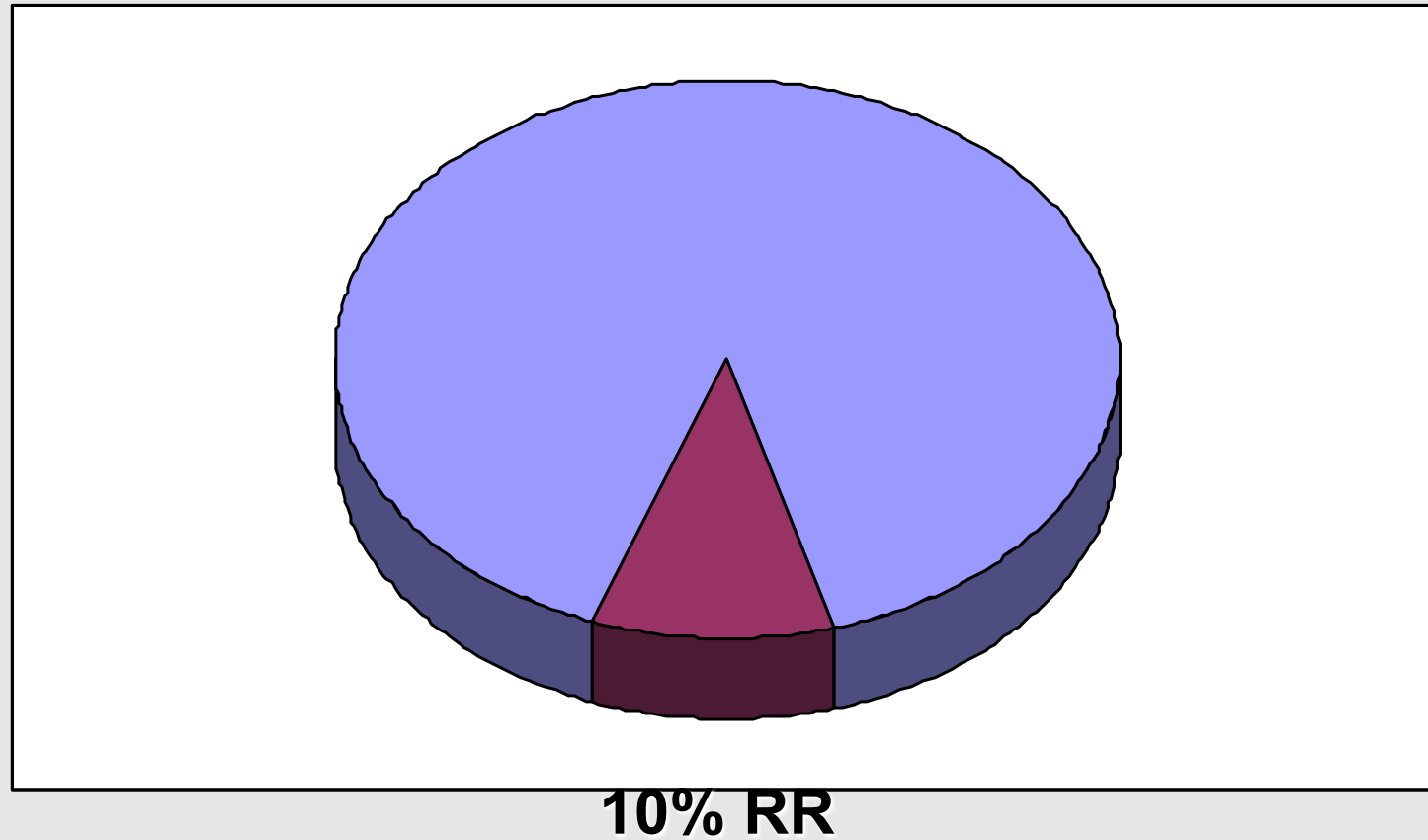
FARMACI

La Chimica combinatoriale ha introdotto il concetto di “druggable” target.

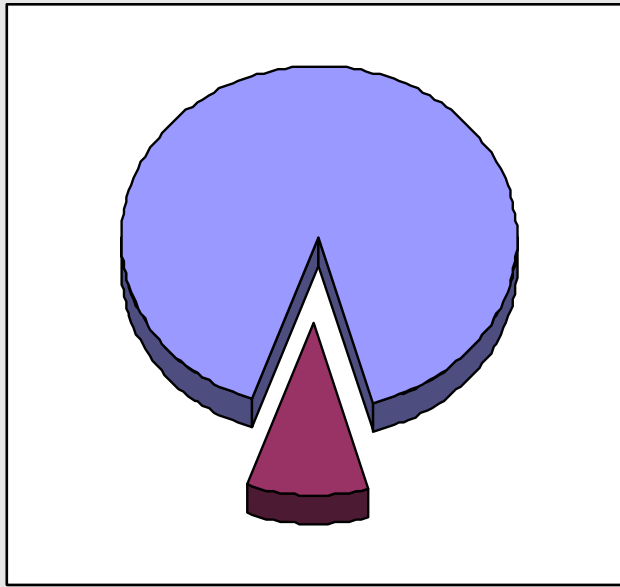
Bersagli della terapia molecolare

- Fattori di crescita e recettori
- Trasduttori di segnali
- Regolatori del ciclo cellulare
- Modulatori di apoptosi
- Fattori di trascrizione
- Fattori angiogenetici
- Interazioni cellula stroma

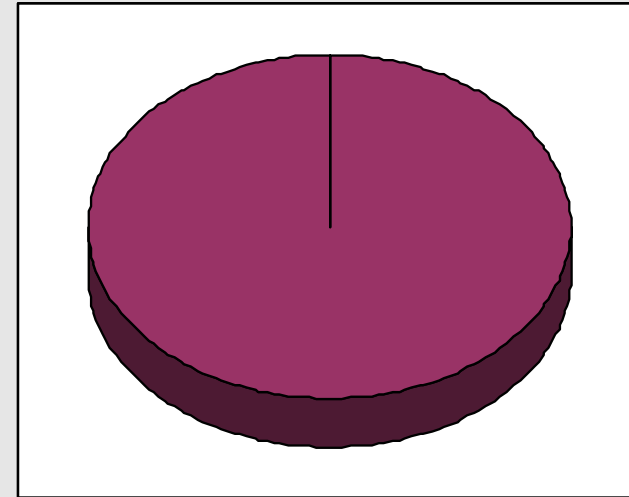
Oncologia tradizionale: effetto diluizione del risultato



Da target therapy a terapia personalizzata



Identificare il 10% dei
pazienti con
alterazioni molecolari



100%
Risposte

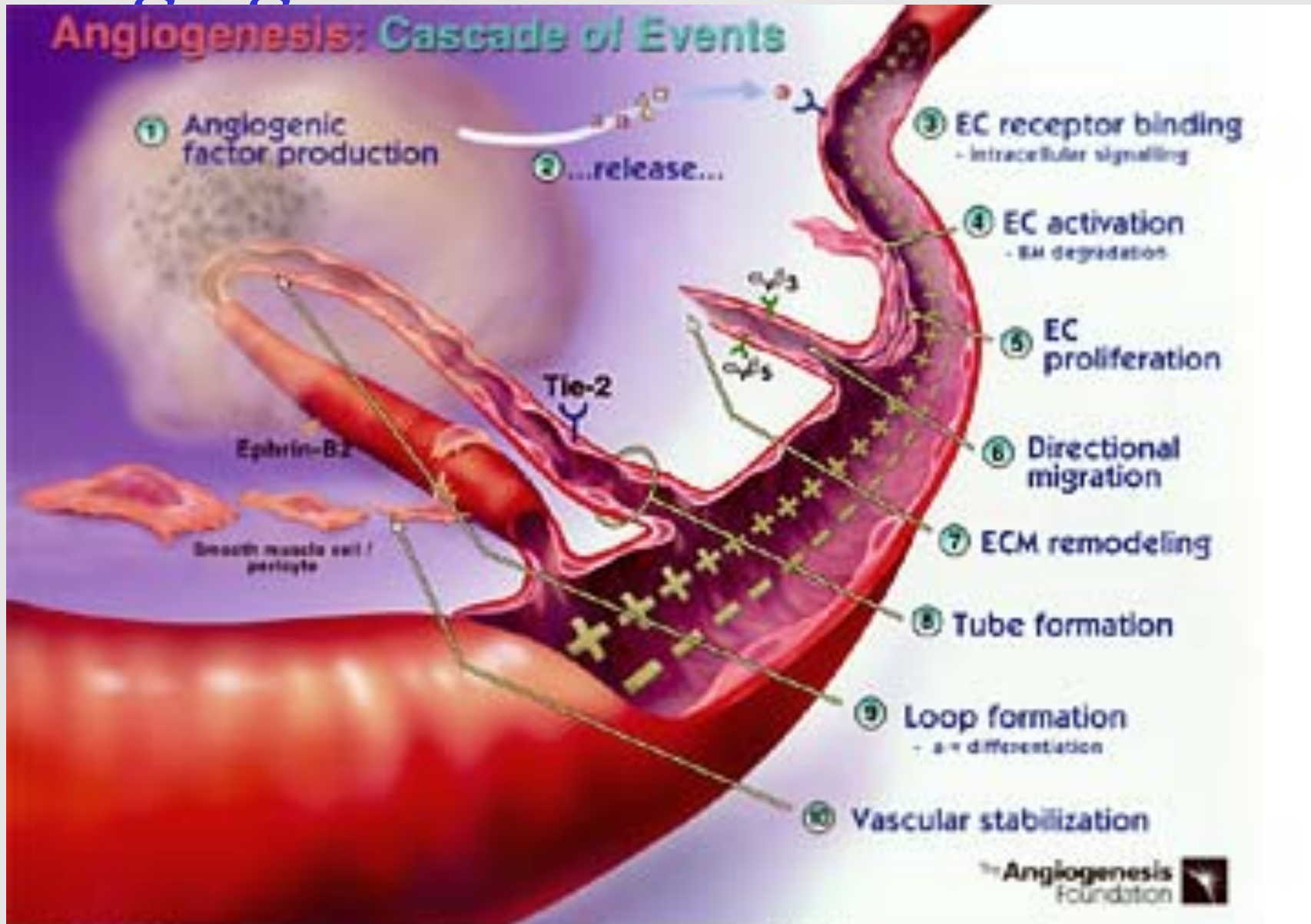
I Target potenziali: signaling pathways target

1. **Recettori di membrana:** EGFR,HER,HGF/Met,IGFR, Kit, PDGFR,
2. **Pathways intracellulari:** PI3K/Akt/mTOR;MAPK, Hedgehog
3. **Modificatori della struttura delle proteine:** Heat shock Protein;
Inibitori Ubiquitina-proteasomi
4. **Anormalità epigenetiche:** DNAmetiltrasferasi,Istone deacetilasi
5. **Fattori circolanti :** VEGF, caloni

I Target pluripotent:angiogenesi

- **Antiangiogenetici:** Talidomide, Lenolidamide, Angiostatina, Fibronectina, Eparinoidi, Endostatina, Interferoni, Fattori inibitori plasminogeno(PAI), Retinoidi, Inibitori metalloproteinasasi, TGFRbeta, Trombospondina, Bevacizumab, Sunitinib, mTORi

Angiogenesis cascade of events



TOSSICITA' DEI NUOVI
FARMACI A BERSAGLIO
MOLECOLARE

Stage of Clinical Development & relevant toxicities

	Phase I	Phase II	Phase III	Toxicities					
				Fatigue	G.I	Rash	H&F	Myelo	Other
Anti-IGF1R mAbs	→			+	+	+		+	Glucose ↑
Anti-FGF Agents	→			+	+				Phosphate ↑
Anti-cMET Agents	→			+	+		+		
MEK Inhibitors	→			+	+	+			Visual
mTOR Inhibitors	→								
Akt Inhibitors	→								
Dual PI3K/mTOR Inhibitors	→			+	+	+			Mood
PI3K selective inhibitors	→								
PanPI3K Inhibitors	→								
PARP Inhibitors	→			+	+				
CDK Inhibitors	→			+	+			+	
γ-Secretase Inhibitors	→								
Hedgehog Inhibitors	→			+	+	+		+	Sodium ↓
Wnt Inhibitors	→								
Angiogenesis Inhibitors	→			+	+		+	+	
Multitargeted TKIs	→			+	+				Hypertension /thrombosis

Immunità e tumori: tappe di una scoperta incompleta

- Burnet anni 1950: Immunosorveglianza e cancro
- Dume 1990: Immunoediting (l'immunità protegge dal cancro ma nel contempo può favorirne lo sviluppo)
- Schreiber 2010 : tre livelli di Immunoediting
 - eliminazione del tumore (prevale l'immunità)
 - fase di equilibrio (honey moon)
 - progressione e sopravvento del tumore (sbilanciamento)

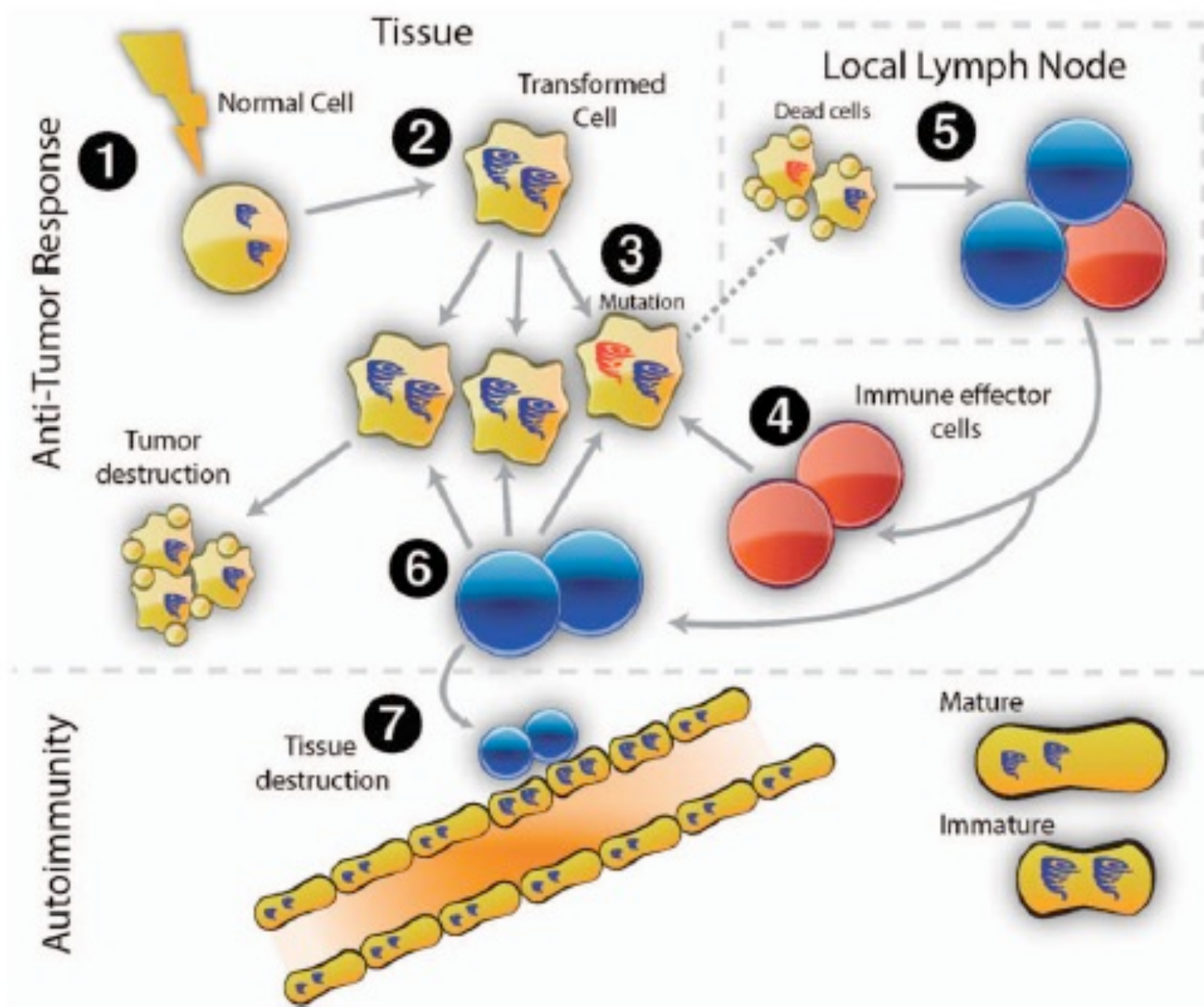


Immunoterapia

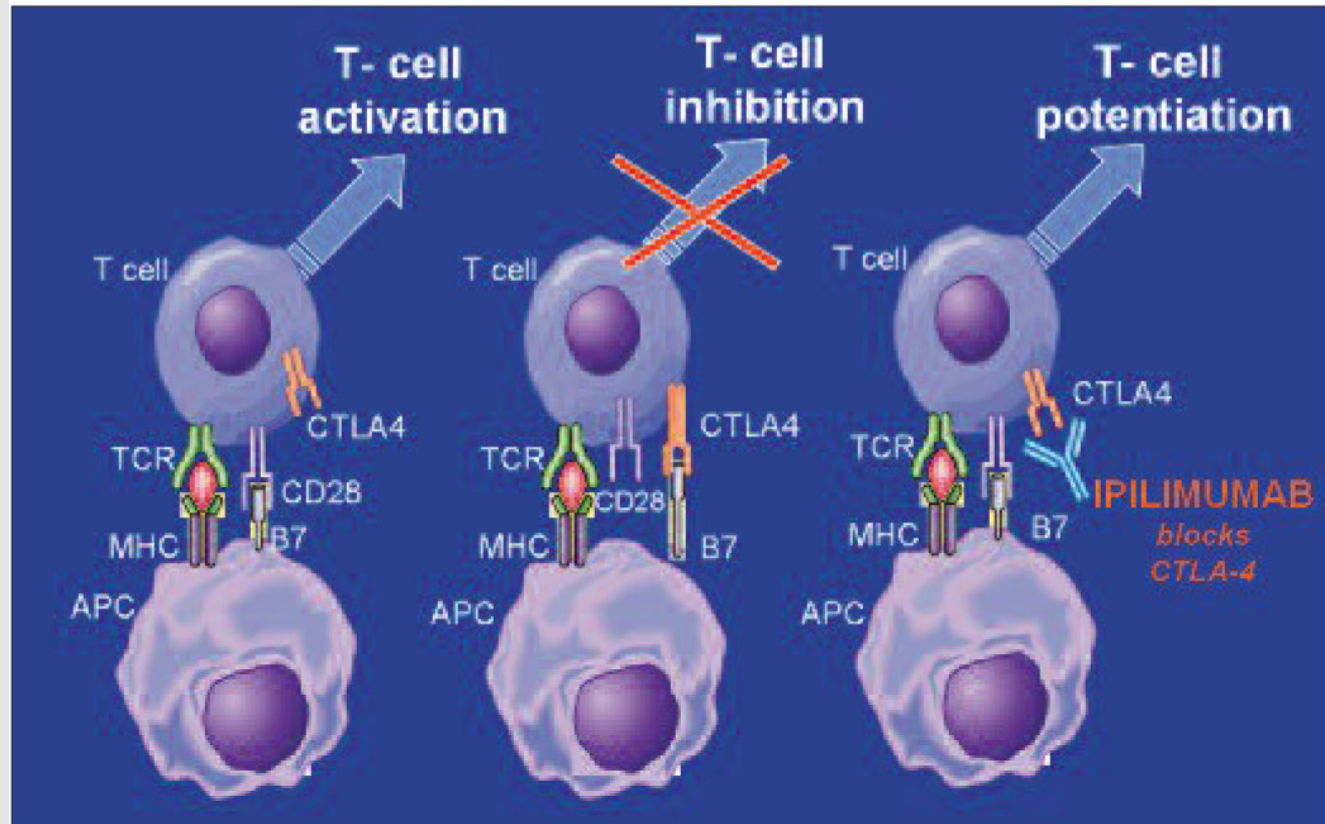
- Attiva naturale: nessun risultato
- Attiva artificiale: BCG nel ca vescica (????)
- Passiva naturale: nessun risultato
- Passiva artificiale: Ipilimumab, Nivolumab

Immunità e cancro: fondamenti

- Negli ultimi decenni sono aumentate le segnalazioni sul complesso rapporto tra immunità e cancro.
- I rapporti sono bidirezionali
- La risposta anticancro può essere molto forte e impedire alla malattia di svilupparsi
- Per contro possono subentrare eventi permissivi che favoriscono la fuga del tumore dai controlli immunitari e la sua progressione
- Alcune malattie autoimmuni si correlano ad una elevata manifestazione di tumori



IPILIMUMAB TAKES THE BRAKES OFF THE IMMUNE SYSTEM



By blocking the binding between CTLA4 and B7, this new type of drug allows the immune system to do its job

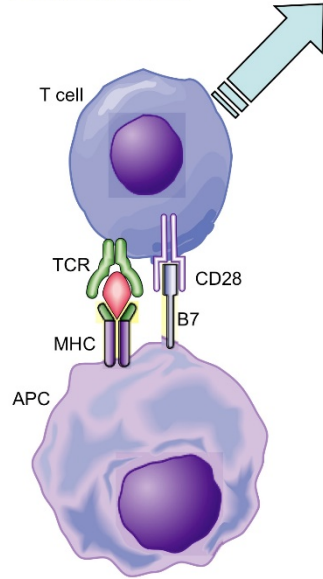
Source: Adapted from Lebbe et al, oral presentation 769O at ESMO 2008

CTLA4 PD1: concetti fondamentali

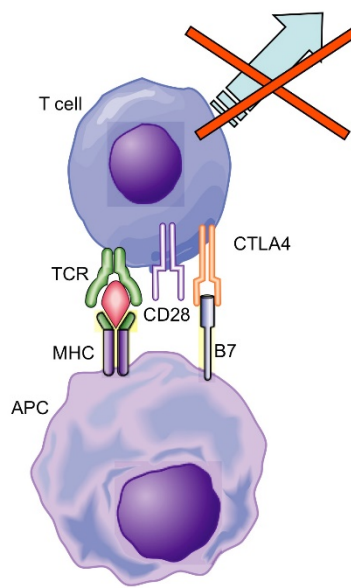
- Sono sistemi di regolazione immunitaria che riducono le possibilità di innesco di **processi autoimmuni**
- Esiste un processo di **TOLLERANZA CENTRALE** e di **TOLLERANZA PERIFERICA**
- I processi immunitari delle cellule T sono attivati dalla esposizione ad antigeni **MHC** e dalla presentazione di un antigene da parte di cellule **APC**
- Per prevenire eventi di innesco di autoimmunità sono previsti numerosi **check point** regolatori. CTLA4 interviene precocemente, PD1 più tardivamente.

Ipilimumab Blocks Negative Signaling From CTLA-4

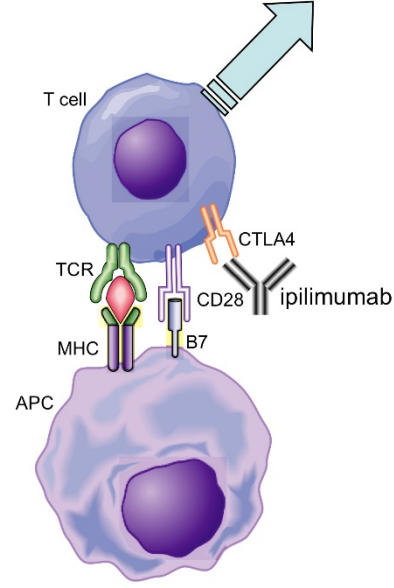
Co-stimulation via CD28:
T-cell activation



CTLA-4 blocks co-stimulation:
No T-cell activation



Ipilimumab blocks CTLA-4:
T-cell activation

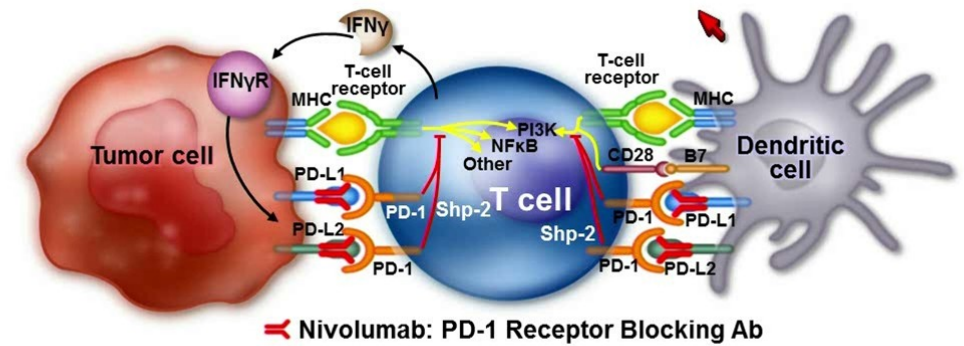


Adapted from Lebbe et al. ESMO 2008

APC, antigen-presenting cell; CTLA-4, cytotoxic T-lymphocyte antigen-4; MHC, major histocompatibility complex; TCR, T-cell receptor.

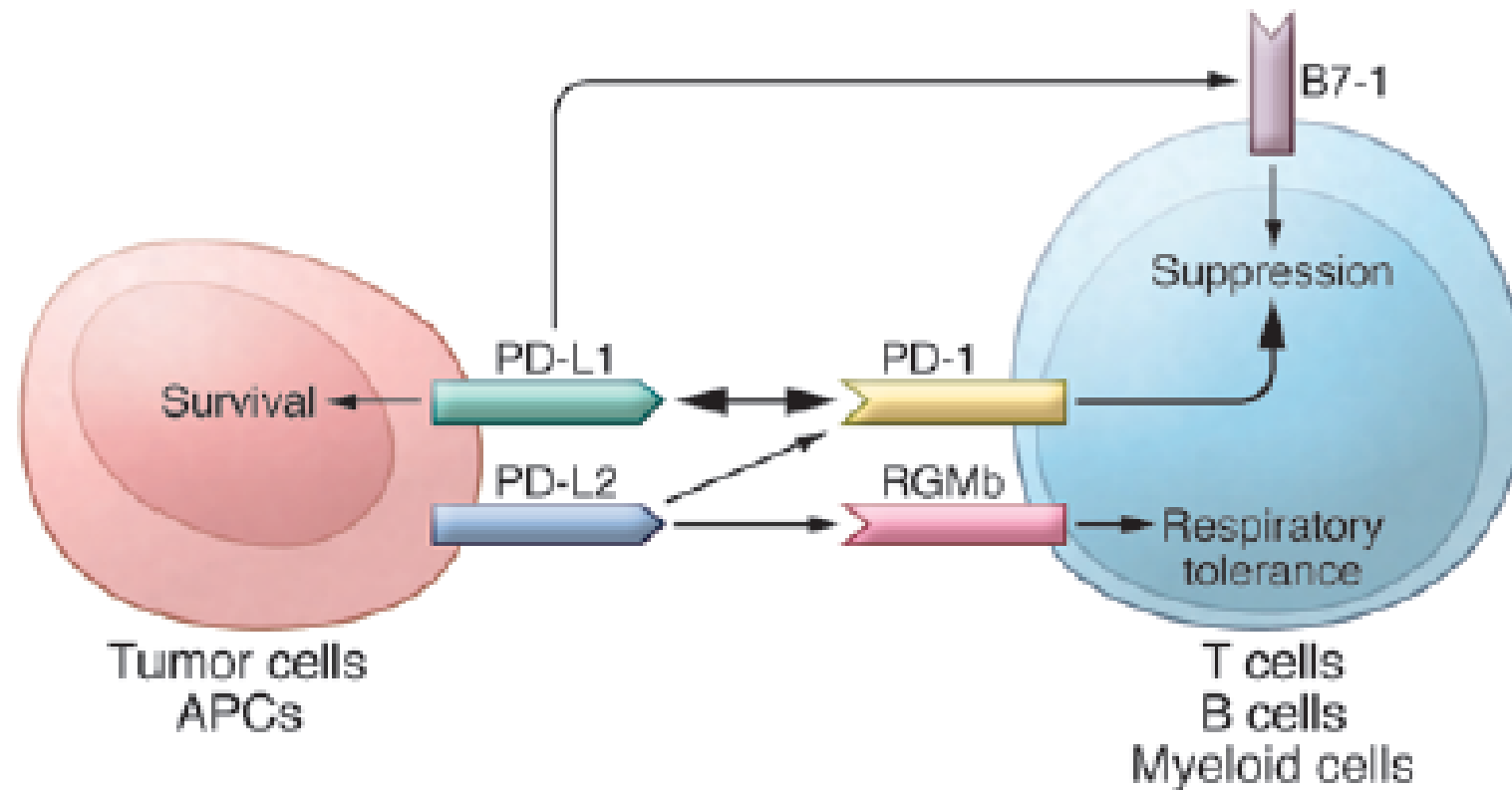
Nivolumab Mechanism of Action

- PD-1 expression on tumor-infiltrating lymphocytes is associated with decreased cytokine production and effector function¹⁰
- Nivolumab binds PD-1 receptors on T cells and disrupts negative signaling triggered by PD-L1/PD-L2 to restore T-cell antitumor function¹¹⁻¹³



Fondamenti dell'attività di PD PDL 1

The Journal of Clinical Investigation



CTLA4 /PD1:similitudini

- Sono recettori della famiglia recettoriale B7
- Sono espressi da cellule T attivate
- L'espressione è regolata da TCRReceptor
- Modulano l'espressione di proteine e effettori intracellulari
- Riducono la proliferazione delle cellule T
- Riducono la fosforilazione ossidativa delle cellule T
- Riducono la produzione di citochine (IL2 e INF)
- Aumentano l'apoptosi delle cellule T

CTLA4/PD1: differenze

CTLA4

- Espresso solo da cellule T
- Presente nei linfociti dei linfonodi
- Il ligando è solo B7 di APC
- Determina tolleranza immunitaria in una fase più precoce
- Azione su T regolatori certa

PD 1

- Espresso da T cell, B cell, cellule mieloidi
- Presente nelle cellule dei tessuti periferici
- Ligandi: B7, PDL1, PDL2
- Azione su effettori più tardivi del pathway
- Azione su T regolatori sporadica

Ipilimumab tossicità

- Diarrea, nausea e vomito, dolori addominali
- Epatopatia
- Rash cutaneo
- Ipotiroidismo
- Disturbi neurologici

Toxicities of Immunotherapy for the Practitioner

Jeffrey S. Weber, James C. Yang, Michael B. Atkins, and Mary L. Disis

Jeffrey S. Weber, Moffitt Cancer Center, Tampa, FL; James C. Yang, National Cancer Institute, Bethesda, MD; Michael B. Atkins, Lombardi Cancer Center, Georgetown University, Washington, DC; and Mary L. Disis, The Fred Hutchinson Cancer Center, University of Washington, Seattle, WA.

Published online ahead of print at www.jco.org on April 27, 2015.

Authors' disclosures of potential conflicts of interest and author contributions are found at the end of this article.

Corresponding author: Jeffrey S. Weber, MD, PhD, Moffitt Cancer Center, 12902 Magnolia Dr, SRB-2, Tampa, FL 33612; e-mail: jeffrey.weber@moffitt.org.

© 2015 by American Society of Clinical Oncology

0732-183X/15/3318w-2092w/\$20.00

DOI: 10.1200/JCO.2014.60.0379

A B S T R A C T

The toxicities of immunotherapy for cancer are as diverse as the type of treatments that have been devised. These range from cytokine therapies that induce capillary leakage to vaccines associated with low levels of autoimmunity to cell therapies that can induce damaging cross-reactivity with normal tissue to checkpoint protein inhibitors that induce immune-related adverse events that are autoinflammatory in nature. The thread that ties these toxicities together is their mechanism-based immune nature and the T-cell-mediated adverse events seen. The basis for the majority of these adverse events is a hyperactivated T-cell response with reactivity directed against normal tissue, resulting in the generation of high levels of CD4 T-helper cell cytokines or increased migration of cytolytic CD8 T cells within normal tissues. The T-cell immune response is not tissue specific and may reflect a diffuse expansion of the T-cell repertoire that induces cross-reactivity with normal tissue, effectively breaking tolerance that is active with cytokines, vaccines, and checkpoint protein inhibitors and passive in the case of adoptive cell therapy. Cytokines seem to generate diffuse and nonspecific T-cell reactivity, whereas checkpoint protein inhibition, vaccines, and adoptive cell therapy seem to activate more specific T cells that interact directly with normal tissues, potentially causing specific organ damage. In this review, we summarize the toxicities that are unique to immunotherapies, emphasizing the need to familiarize the oncology practitioner with the spectrum of adverse events seen with newly approved and emerging modalities.

J Clin Oncol 33:2092-2099. © 2015 by American Society of Clinical Oncology

Table 1. Immunotherapy Toxicity

Type of Immunotherapy	General Symptoms	Skin Toxicity	GI Toxicity	Hepatotoxicity	Endocrinopathy	Other Toxicities
Vaccines	Fevers, chills, lethargy	Maculopapular, vitiligo ¹	Rare diarrhea ⁵	Rare ⁵	None	Local reactions, back pain, ¹ rare hypotension ⁵
Cytokines: IFN	Fevers, chills, and flu-like symptoms ¹⁹	Maculopapular ¹⁹	Nausea, diarrhea, and rare vomiting ²²	Elevated LFTs common ²³	Thyroiditis; often associated with benefit ²⁴	Congestive heart failure, ¹⁹ anemia, ²⁶ thrombocytopenia, ²⁶ leukopenia, ²⁶ depression ²¹
Cytokines: IL-2	Fevers, chills, and lethargy ²¹	Petechial and macular ²¹	Transient nausea, vomiting, and diarrhea ²¹	Elevated LFTs and bilirubin common ²¹	Thyroiditis; often associated with benefit ²⁶	Pulmonary edema, ²² hypotension, ²² azotemia, ²² myocarditis, ²² altered mental status ²¹
Cell therapy: TILs	Fevers, chills, and fatigue ⁴³⁻⁴⁵	Maculopapular ⁴³	Rare diarrhea ⁴³⁻⁴⁵	Elevated LFTs rare ⁴³⁻⁴⁵	Thyroiditis; often associated with benefit ⁴³⁻⁴⁵	Prolonged lymphopenia, CMV infections ⁴³⁻⁴⁵
Cell therapy: CAR	Fevers, chills, and lethargy	Maculopapular	Rare diarrhea	Elevated LFTs with CA-IX CAR ⁶⁶	None	Cytokine release with tachycardia, hypotension, oliguria; B-cell aplasia ⁶⁴ ; pulmonary edema ⁶⁵
Cell therapy: TCR	Fevers, chills, and lethargy ⁴⁷	Maculopapular, ⁴⁷ vitiligo ⁶²	Colitis with CEA TCR ⁶³	Elevated LFTs rare ⁴⁷	None	Encephalopathy ⁶³ and carditis ⁶² with MAGE-3 TCR
Checkpoint protein inhibition: CTLA-4	Fevers, chills, and lethargy ⁶²	Maculopapular ⁶²	Diarrhea and colitis with ulceration ⁶²	Elevated LFTs ⁶²	Hypophysitis, thyroiditis, and adrenal insufficiency ⁶²	Neuropathy, nephritis, Guillain-Barré, myasthenia gravis, sarcoid, and thrombocytopenia all rare ^{62,63}
Checkpoint protein inhibition: PD-1	Fevers, chills, and lethargy ⁶⁹⁻⁷²	Maculopapular ⁶⁹⁻⁷²	Diarrhea and colitis with ulceration: uncommon ⁶⁹⁻⁷²	Elevated LFTs uncommon ⁶⁹⁻⁷²	Hypophysitis, thyroiditis more common, adrenal insufficiency ⁶⁹⁻⁷²	Pneumonitis not common; neuropathy, Guillain-Barré, myasthenia gravis, nephritis, all rare ⁶⁹⁻⁷²
Checkpoint protein inhibition: PD-L1	Fevers, chills, and lethargy ^{81,82}	Maculopapular ^{81,82}	Diarrhea and colitis with ulceration: rare ^{81,82}	Elevated LFTs rare ^{81,82}	Hypophysitis, thyroiditis more common, adrenal insufficiency ^{81,82}	Pneumonitis rare; anemia rare ^{81,82}
Combination checkpoint protein inhibition	Fevers, chills, and lethargy ¹⁰⁰	Maculopapular ¹⁰⁰	Diarrhea and colitis with ulceration; pancreatic lab elevation common ¹⁰⁰	Elevated LFTs common ¹⁰⁰	Hypophysitis, thyroiditis more common, adrenal insufficiency ¹⁰⁰	Pneumonitis not common ¹⁰⁰ ; neuropathy, Guillain-Barré, myasthenia gravis, nephritis, all rare ¹⁰⁰

Abbreviations: CA-IX, carbonic anhydrase IX; CAR, chimeric antigen receptor; CEA, carcinoembryonic antigen; CMV, cytomegalovirus; IFN, Interferon; IL-2, Interleukin-2; LFTs, liver function tests; TCR, T-cell receptor; TILs, tumor-infiltrating lymphocytes.

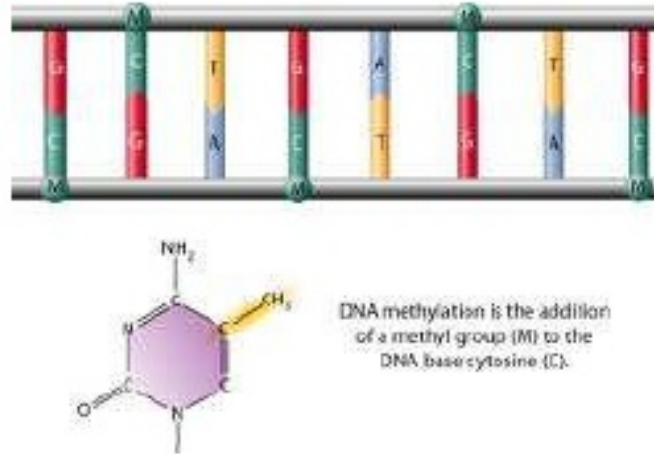
Terapia Genica

Nessuna terapia ad oggi disponibile,
MA...

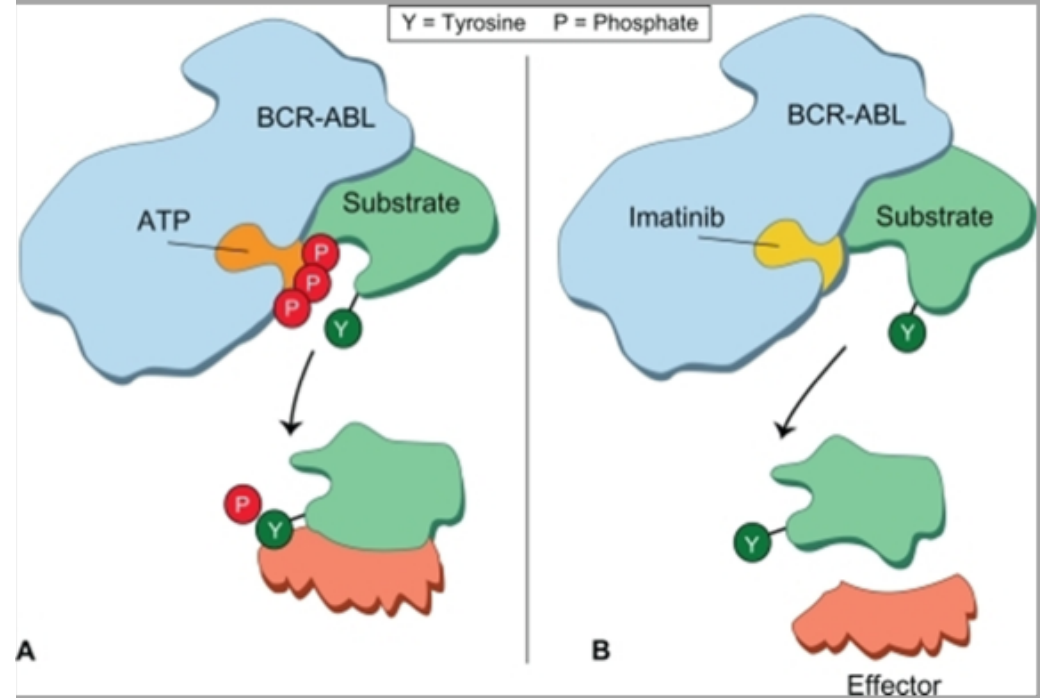
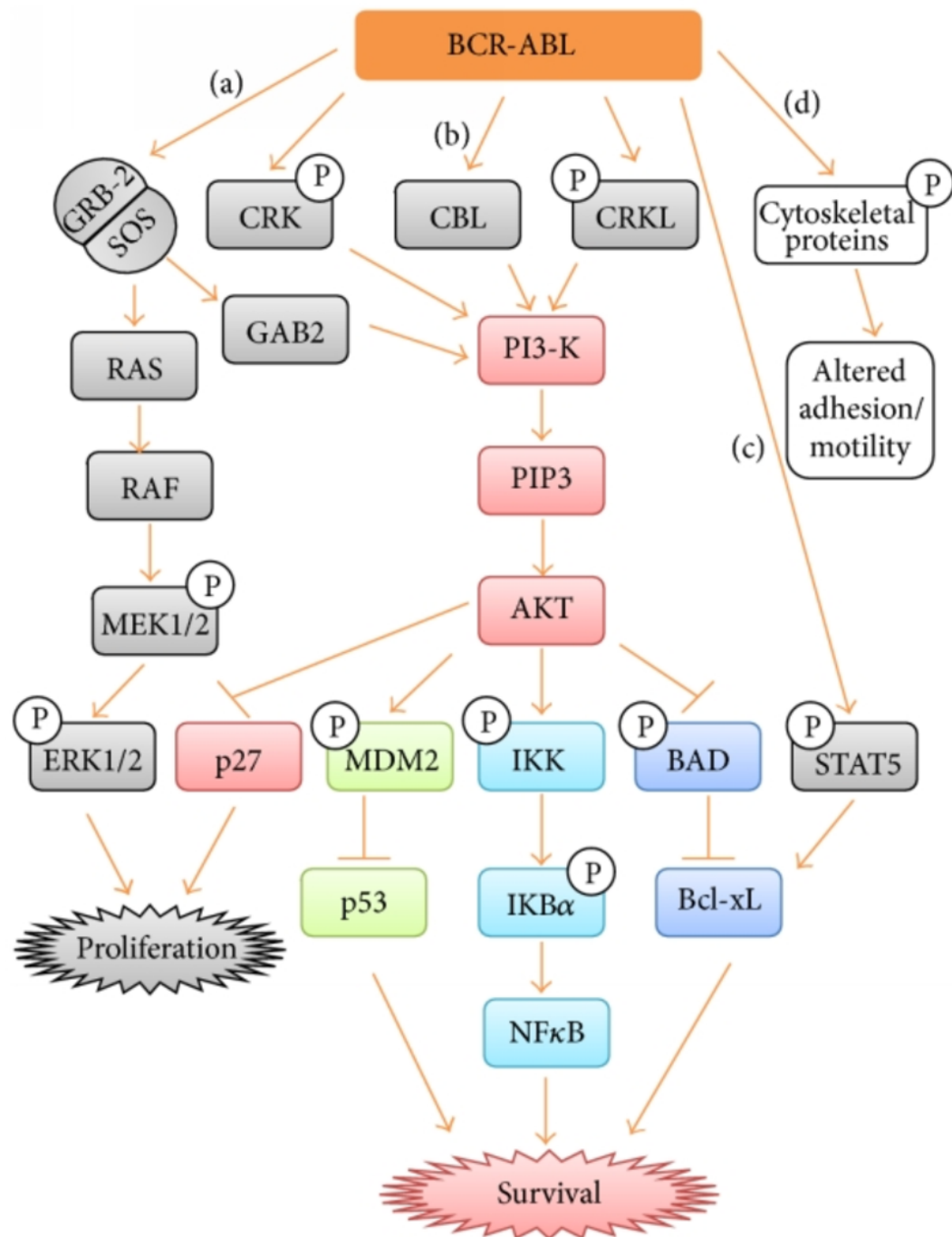
EPIGENETICA

- Possiamo interferire sull'epigenetica.
- La Cromatina è un complesso di macromolecole costituite da DNA, RNA e proteine
- La sua funzione è di potenziare la macromolecola del DNA prevenendo i danni e facilitando la mitosi
- L'epigenetica studia la modificazione di alcuni geni senza alterare le sequenze del DNA, ma controllando l'espressione genica attraverso modificazioni delle proteine

Introduction: DNA Methylation



- CH₃ inhibits transcription factors from attaching to DNA
- Gene(s) silenced/inactivated**, esp. if promoter region is methylated
- Hypermethylation -> inactivated genes;
- Hypomethylation -> genomic instability
- Catalyzed by presence of DNA Methyltransferase (**DNMT**) enzymes



Conclusioni

- Ormonoterapia: raggiunto un plateau
- Chemioterapia: minor impegno dell'industria soprattutto nel campo della sintesi estrattiva
- Target therapy: circa 400 molecole stanno giungendo sul mercato. Come faremo a valutarle per efficacia e tossicità?
- Immunoterapia: estrema complessità ma risultati promettenti
- Terapia genica: primi risultati con la terapia epigenetica

Problemi

- Come sperimentare correttamente le decine di nuove molecole
- Come sostenere i costi