

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI CATANIA
FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA

XXIV CICLO DI DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE RADIOLOGICHE ED
ONCOLOGIA RADIOTERAPICA

Direttore: Prof. Giovanni Carlo Ettore

TESI DI DOTTORATO

Dott.ssa Manuela Crispi

LA RADIOTERAPIA
NELL'ERA DELLE TERAPIE
BIOLOGICHE: RAZIONALE DELLE
ASSOCIAZIONI E COMPLIANCE
CLINICHE.

Tutor:

Chiar.mo Prof. G. Petrillo

Anno Accademico 2010/2011

Indice

Premessa	1
Capitolo 1. Targeted Therapy	2
Capitolo 2. Targeted Therapy e Radioterapia : il razionale delle associazioni	5
Capitolo 3. Inibitori di EGFR e radiosensibilizzazione	8
Capitolo 4. Cetuximab: nuovo radiosensibilizzante	11
Capitolo 5. HIF-1	14
Capitolo 6. Bevacizumab e radioterapia	15
Capitolo 7. Targeted Therapy nei tumori del testa-collo	17
7.1 Bevacizumab	18
7.2 <i>Anticorpi monoclonali (Mabs)</i>	20
7.3 <i>Inibitori di tirosin-kinasi</i>	23
7.4 <i>ErbB2</i>	24
7.5 Vascular endothelial growth factor (VEGF) e vascular endothelial growth factor receptor (VEGF)	24
7.6 <i>Discussione</i>	
Capitolo 8. Targeted Therapy nei tumori del retto	23
8.1 Targeted therapy in combinazione con radioterapia preoperatoria	24
8.1.1 <i>ASCO 2007</i>	24
8.1.2 <i>ASCO 2008</i>	25
Capitolo 9. Targeted therapy nel carcinoma polmonare non a piccole cellule	28
9.1 Inibitori dell'EGFR	28
9.2 Inibitori del VEGF	30
9.3 Altri farmaci biologici	31

Capitolo 10. Targeted therapy nel carcinoma polmonare a piccole cellule	32
10.1 C-kit	32
10.2 Bcl-2	33
10.3 Inibitori delle metallo proteasi (MMPi)	33
10.4 Inibitori dell'angiogenesi multitarget	34
10.5 Epidermal growth factor receptor family	35
Capitolo 11. Targeted Therapy nei tumori encefalici	37
11.1 Temozolomide in combinazione con agenti biologici	37
Conclusioni	40
<i>Bibliografia</i>	43

1. Premessa

Le patologie neoplastiche possono essere causate da diverse alterazioni genetiche, che vanno da semplici mutazioni puntiformi fino alle inserzioni, delezioni o traslocazioni cromosomiche presenti nel DNA delle cellule tumorali. Lo studio della sequenza del genoma umano, i rapidi progressi sulla comprensione delle basi molecolari dei tumori, e l'introduzione di nuove tecnologie atte a valutare anomalie genomiche, trascrizionali e proteomiche, forniscono nuove opportunità per rispondere alle problematiche inerenti a queste patologie. La conoscenza di queste anomalie ha permesso di individuare bersagli specifici per nuovi agenti terapeutici.

Le risposte cliniche osservate con la prima generazione di farmaci a bersaglio specifico, come l'inibitore delle chinasi bcr-abl (imatinib) e gli anticorpi monoclonali contro le proteine CD20 (rituximab), HER-2 (trastuzumab), EGFR (cetuximab) e VEGF (bevacizumab), hanno potenziato le aspettative future sulla disponibilità di una generazione completamente nuova di terapie antitumorali per bersagli specifici, caratterizzata non solo da elevata efficacia e specificità, ma anche da un effetto radiosensibilizzante, che fornisce l'opportunità di associarla alla Radioterapia, migliorandone notevolmente l'efficacia.

Capitolo 1

Targeted Therapy

Per targeted therapy si intende l'utilizzo di farmaci che agiscono su bersagli molecolari specifici. L'azione "target" del farmaco influenza positivamente il risultato terapeutico, come è stato dimostrato in studi clinici randomizzati. Questa azione selettiva, inoltre, risparmia le cellule normali dell'organismo dall'azione dei farmaci; in questo modo migliora la tollerabilità al trattamento e la qualità di vita del paziente.

Le nuove terapie si basano su un concetto nuovo: cronicizzare la malattia neoplastica attraverso una protratta inibizione della crescita tumorale, senza perseguire ad ogni costo la completa regressione della malattia quando questa non è possibile. Talvolta, la rapida riduzione della massa tumorale che avviene impiegando la chemioterapia è infatti, solo inizialmente seguita da una inesorabile ripresa, ma spesso subito dopo si può assistere al decesso del paziente.

I nuovi farmaci antitumorali potrebbero invece allungare la sopravvivenza del malato oncologico, interferendo solo con la crescita e la diffusione del tumore, senza produrre importanti tossicità e senza compromettere la qualità di vita e la vita del paziente.

La ricerca scientifica ha fornito informazioni dettagliate sui meccanismi patogenetici, molecolari e biochimici responsabili della proliferazione, della differenziazione e dei processi di riparazione del DNA delle cellule. Le alterazioni di questi meccanismi sono alla base dell'insorgenza e della progressione dei tumori.

Nonostante queste conoscenze, la cura delle neoplasie è ancora basata sull'impiego di farmaci chemioterapici citotossici, che mirano direttamente a

danneggiare il DNA o ad inibire la duplicazione cellulare provocando la morte sia delle cellule tumorali che delle cellule sane in fase di replicazione.

I farmaci definiti come “farmaci con meccanismo d’azione mirato”, a differenza dei farmaci citotossici convenzionali, sono diretti contro uno specifico bersaglio molecolare espresso selettivamente sulle cellule del tumore o su cellule dello stroma tumorale e direttamente implicato nei meccanismi che ne regolano la crescita e la sopravvivenza. Ciò dovrebbe comportare due vantaggi rispetto ai farmaci chemioterapici finora utilizzati: 1) la riduzione degli effetti collaterali a carico dei tessuti sani per la maggiore selettività;

2) l’individualizzazione delle terapie attraverso l’identificazione dei pazienti potenzialmente responsivi ai diversi farmaci in quanto portatori di neoplasie che esprimono alterazioni molecolari bersaglio delle nuove terapie.

Solo recentemente sono state applicate le conoscenze riguardanti le alterazioni a carico di oncogeni e geni oncosoppressori e quelle relative ai processi di trasduzione del segnale intracellulare, per la diagnosi, la prognosi e soprattutto per un trattamento più mirato delle neoplasie.

Le nuove strategie terapeutiche che si avvalgono di agenti citostatici ad azione specifica sono :

- Anticorpi monoclonali diretti al dominio extracellulare del recettore HER-2
- Inibitori delle proteine tirosin kinasi (anticorpi monoclonali, piccole molecole orali)
- Antiangiogenetici (anticorpi monoclonali o piccole molecole)
- Inibitori delle metallo proteasi della matrice extracellulare
- Inibitori della via di attivazione dell’ oncogene *ras*

Tra le varie possibilità, quelle che stanno ricevendo maggiore attenzione sono:

- Piccole molecole inibitrici di segnali oncogenici
- Anticorpi diretti contro componenti di superficie cellulare di trasduzione intracellulare del segnale.

Per quanto concerne la prima possibilità, i bersagli preferiti sono gli oncogeni, in modo particolare quelli ad attività chinasi, a causa del loro coinvolgimento nei processi di oncogenesi. Lo sviluppo di farmaci sintetici e anticorpi specifici con il compito di ridurre la loro attività oncogenica ha avuto successo (es., anticorpi anti EGFR, inibitori delle tirosin chinasi) e costituisce la base per ulteriori progressi in questo senso.

Capitolo 2

Targeted Therapy e Radioterapia: il razionale delle associazioni

La malattia oncologica può essere considerata una malattia genetica delle cellule somatiche con alterazioni dei meccanismi di controllo di progressione del ciclo cellulare, della morte cellulare programmata e della trasmissione intracellulare.

In questi ultimi anni sono stati meglio identificati alcuni meccanismi che modulano l'attività di cruciali proteine bersaglio in grado di influenzare il controllo appropriato del numero di cellule in un determinato tessuto e l'espressione di eventuali mutazioni del genoma cellulare.

Negli organismi pluricellulari si sono inoltre evoluti sistemi per eliminare le cellule danneggiate attraverso un meccanismo di autodistruzione: la morte cellulare programmata o apoptosi.

Molteplici eventi di modulazione delle attività proteiche, mediante interazioni proteina-proteina e modificazioni di proteina, interferiscono con le molecole che controllano la progressione del ciclo cellulare e l'attivazione dell'apoptosi. Alcune di queste interazioni sono attivate da sistemi di comunicazione intercellulare mediate da sostanze, quali ormoni e proteine, che interagiscono con recettori posti sulla membrana cellulare con funzioni di intermediari.

L'attenzione sulle proteine di membrana si è andata sempre più spostando dall'identificazione di siti recettoriali da attaccare con antisieri, magari marcati con isotopi radioattivi, come segnalato già all'inizio del secolo scorso, alla più approfondita conoscenza biologica della complessa interazione tra recettore e substrato metabolico, da utilizzare in associazione con le tradizionali terapie antitumorali.

I recettori transmembrana sono costituiti da una porzione della molecola sporgente all'esterno della cellula (il dominio extracellulare), una porzione che

attraversa una o più volte lo spessore della membrana plasmatica, ed infine, da un'altra porzione sporgente all'interno della cellula (il dominio citoplasmatico).

Il dominio extracellulare del recettore costituisce il sito a cui si lega la molecola trasportatrice del segnale, genericamente identificata con il termine di ligando.

Molti ligandi di natura polipeptidica sono dimeri, possono quindi legarsi simultaneamente a due monomeri dei domini extracellulari dei recettori, determinando un avvicinamento delle subunità intracitoplasmatiche ed avviando così l'attività di segnalazione. I domini citoplasmatici una volta attivati hanno la capacità di autofosforilarsi e di fosforilare residui di tiroxina su proteine bersaglio, o di serina-treonina, o infine di determinare cambiamenti conformazionali di proteine citoplasmatiche ad essi legate. Queste modifiche conformazionali delle proteine bersaglio avviano una cascata di alterazioni nella conformazione di altre proteine, determinando alla fine la modifica di attivatori e repressori della trascrizione con conseguente cambiamento dell'attività di molti geni della cellula bersaglio.

Il recettore per epidermal growth factor (EGFR) appartiene alla famiglia dei c-erb B. Essi rappresentano un gruppo di quattro recettori trans-membrana tirosin-kinasi, che hanno struttura e funzioni simili. L'EGFR è anche conosciuto con il nome di HER-1 o c-erb-B1, ed è stato il primo di tali recettori ad essere descritto. Esso è una glicoproteina di membrana composta da un dominio extracellulare, una porzione transmembrana e un dominio intracellulare; quest'ultimo con funzione tirosin-kinasica.

L'iperespressione di EGFR è stata documentata nei tumori dell'encefalo, della mammella, del polmone, del colon-retto, nel tumore ovarico, del rene e del distretto testa-collo. La sua funzione è responsabile della promozione della crescita tumorale, tramite la proliferazione, la neoangiogenesi e l'acquisizione dell'habitus metastatico [1].

Numerosi sono i ligandi che possono interagire con l'EGFR, i più importanti essendo rappresentati dall'Epidermal Growth Factor (EGF) e dal Trasforming Growth Factor β (TGF β).

Capitolo 3

Inibitori di EGFR e radiosensibilizzazione

Lo studio degli inibitori dell'EGFR come radiosensibilizzanti si basa sulle seguenti osservazioni:

- in numerosi tipi di cellule esiste una correlazione positiva tra espressione di EGFR e radioresistenza;
- il grado di radioresistenza è proporzionale alla iper-espressione di EGFR;
- la sopravvivenza cellulare ed il ripopolamento durante la radioterapia sono influenzati dalla attivazione del EGFR/tgf- α , che è indotto dalla esposizione alle radiazioni;
- l'inibizione di EGFR incrementa la radiosensibilità .

E' stato dimostrato che l'iperespressione dell'EGFR nei tumori solidi è correlato con un incremento della radioresistenza [2]. L'attivazione dell'EGFR produce l'incremento della proliferazione e l'inibizione dell'apoptosi.

L'attivazione dell'EGFR incrementa l'espressione della ciclina D1, principalmente attraverso la cascata proliferativa correlata alla proteina Ras-mitogena dipendente, che in studi murini, ha dimostrato incrementare la radioresistenza [3]. La ciclina D1 è coinvolta nel superamento del blocco che inibisce la progressione della cellula dalla fase G1 alla fase S, attivo principalmente in presenza di alterazioni del DNA. Alcuni

Autori evidenziano che un blocco nella progressione del ciclo cellulare potrebbe consentire la riparazione del danno prodotto dalle radiazioni sul DNA e quindi essere a sua volta causa di radioresistenza [4].

L'EGFR è anche responsabile della diminuzione dell'apoptosi, questo meccanismo è correlato all'attivazione del sistema P13K, e contribuisce alla radioresistenza.

Inoltre la radioterapia sembra in grado di attivare direttamente il segnale di EGFR anche in assenza di EGF, dando luogo ad un'aumentata proliferazione. I meccanismi ritenuti responsabili dell'attivazione di EGFR sembrerebbero essere legati all'attivazione a lungo termine correlata al rilascio del TGF β ed all'incremento dell'autofosforilazione senza alterazione dell'EGFR [5].

In alcuni tumori, principalmente nei gliomi, viene espressa una forma mutata di EGFR, chiamata EGFR VIII. Esso è caratterizzato da un'attivazione costitutiva dell'enzima TK. Questa forma di recettore mutato viene maggiormente stimolato dalla radioterapia rispetto al recettore normale, causando una radioresistenza maggiore [6].

Sono state elaborate diverse modalità per inibire l'EGFR: interazione di anticorpi monoclonali con il dominio extracellulare dell'EGFR; piccole molecole in grado di evitare l'autofosforilazione dell'EGFR tramite l'inibizione del legame con l'ATP; tossine legate ad anticorpi monoclonali o ligandi per l'EGFR.

Come già precisato, il recettore del Fattore di Crescita Epidermoidale insieme ai recettori ErbB2, ErbB3 ed ErbB4 appartiene ad una sottoclasse di recettori della superficie di membrana cellulare che gioca un ruolo fondamentale nell'embriogenesi e nei processi di omeostasi tissutale. L'EGFR è down-regolato in molte neoplasie come i tumori del testa collo, del polmone, dell'encefalo, della mammella, del colon-retto e della prostata. La sovraespressione dell'EGFR è stata associata ad una prognosi peggiore e ad una risposta ridotta ai trattamenti chemio ed radioterapici.

Oltre che dai fattori di crescita extracellulari, l'EGFR può essere attivato dall'esposizione alle radiazioni ionizzanti per un diretto processo d'attivazione della fosforilazione o per una indotta liberazione di fattori di crescita attraverso un "cleavage" dei precursori : questi effetti radio-indotti inducono una omo-

dimerizzazione di due molecole di EGFR o etero-dimerizzazione di una molecola di EGFR con un altro recettore della famiglia ErbB.

Dopo la dimerizzazione e l'internalizzazione dell'EGFR come fattore di trascrizione si attiva un'auto-fosforilazione della tirosino-kinasi intracellulare con attivazione:

- della Ras-Raf-MAPK pathway che porta ad uno stimolo proliferativo cellulare;
- della P13K-AKT pathway che regola la probabilità di sopravvivenza cellulare;
- dell'EGFR come fattore di trascrizione intracellulare implicato nel riparo enzimatico del DNA;
- della fosfo-chinasi DNA dipendente (DNA-PK) implicata nel "DNA double-strand repair".

Pertanto l'esposizione cellulare alle radiazioni ionizzanti può portare ad attivazione dell'EGFR con stimolazione dei processi di ripopolamento accelerato e di radioresistenza intrinseca.

Capitolo 4

Cetuximab: nuovo radiosensibilizzante

L'anticorpo monoclonale Cetuximab è un Moab chimerico umano-murino della sottoclasse IgG1 che si lega al recettore dell'EGF con alta affinità bloccando il legame del recettore stesso con il fattore di crescita ed impedendo gli eventi di trasduzione del segnale intracellulare. Cetuximab può anche provocare l'internalizzazione del recettore, rimuovendolo dalla superficie ed impedendo il suo legame con i ligandi. Cetuximab è pertanto in grado di inibire la proliferazione cellulare e di indurre processi di apoptosi [7].

La maggiore potenzialità dell'anticorpo Cetuximab è stata però quella di modulare la radiosensibilità di alcuni tumori migliorando la risposta delle cellule tumorali alla radioterapia ed inducendo una maggiore probabilità di "cell killing". E' stato pertanto ipotizzato che Cetuximab potrebbe svolgere un ruolo come "radiosensibilizzante" attraverso un'azione "citoplasma-mediata". In studi preclinici, l'associazione del cetuximab alla radioterapia in linee cellulari di tumore squamocellulare ha evidenziato i seguenti effetti biologici di radiosensibilizzazione :

- un effetto antiproliferativo sia attraverso l'inibizione dei processi di ripopolamento accelerato che attraverso un processo di perturbazione del ciclo cellulare con arresto delle cellule in G1 per effetto del cetuximab ed in G2 per effetto delle radiazioni;
- una promozione del processo di morte programmata;
- un effetto antiangiogenetico sia attraverso una "down regulation" della produzione del VEGF, che tramite l'induzione dell'apoptosi delle cellule tumorali endoteliali;
- un'inibizione della riparazione del DNA attraverso un sequestro della protein-kinasi DNA-dipendente nel citoplasma con conseguente blocco dei

meccanismi della riparazione del DNA; Cetuximab potrebbe inoltre ridurre o bloccare il trasporto intranucleare dell' EGFR che porta al complesso nucleolare EGFR-DNA-PK che attiva il DNA-repair;

- una minore induzione del processo di trasduzione del segnale Ras-Raf-ERK implicato nella radioresistenza;
- una minore produzione di metallo proteinasi della matrice extracellulare con minore probabilità di attivazione dei processi di invasività e metastatizzazione;
- un aumento del processo di ri-ossigenazione.

In tumori animali FaDu con elevata espressione di EGFR, Cetuximab associato settimanalmente alla radioterapia ha comportato una riduzione del fattore TCD50 (Tumor Control Dose 50) [fig.1], in presenza di ripopolamento con un sensitizer enhancement ratio (SER) di 1.2; in assenza di ripopolamento cellulare, questo valore di SER si elevava a 1.4- 1.5. [7]. Questi dati indicano il motivo per cui Cetuximab e' considerato un radiosensibilizzante con promettenti prospettive cliniche.

La ricerca sperimentale è attualmente concentrata sullo studio di varianti di EGFR (es. variante tipo III) che possono non rispondere all'azione degli inibitori del recettore, lasciando inalterato il grado di radioresistenza [6].

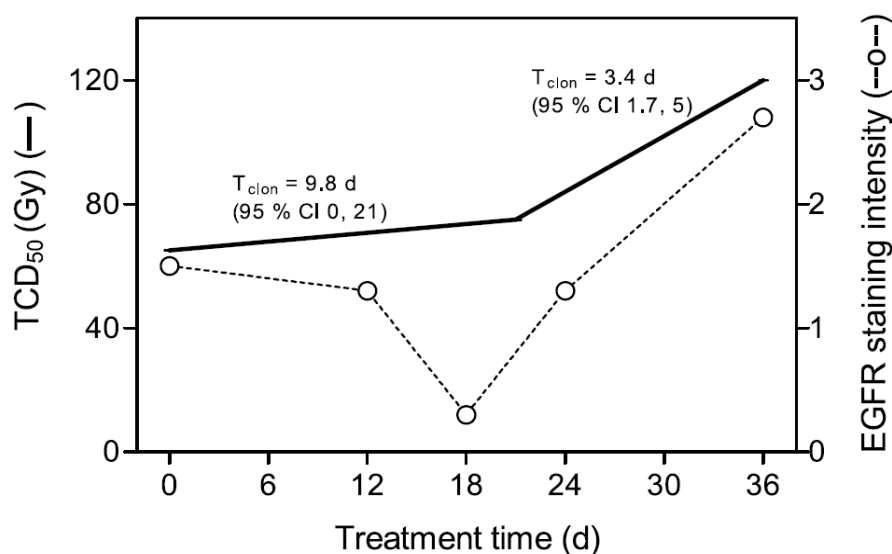


Fig.1

Capitolo 5

HIF-1

L'HIF-1 (hypoxia inducible factor-1), è un fattore di crescita che stimola la produzione di citochine legate al metabolismo, alla crescita tumorale e all'angiogenesi. Si tratta di un fattore iperespresso in numerosi tumori e gli studi clinici hanno dimostrato che la sua iperespressione è correlata con una cattiva prognosi. La maggior parte degli inibitori dell' HIF-1 sono non selettivi poiché agiscono su molecole anche indirettamente correlate con l'HIF-1. Sono state identificate molecole con diverse funzioni quali inibitori dei microtubuli, inibitori di Hsp90, inibitori dei recettori tirosino chinasi, inibitori di mTOR [8,9].

Studi preclinici su modelli murini hanno dimostrato che l'esposizione alle radiazioni ionizzanti aumenta i livelli di HIF-1 con conseguente diminuzione della radiosensibilità cellulare. Pertanto, la somministrazione di basse dosi di un inibitore di HIF-1 potrebbe notevolmente aumentare l'efficacia della radioterapia [10].

Capitolo 6

Bevacizumab e radioterapia

L'angiogenesi tumorale è riconosciuta come requisito essenziale nella crescita e nello sviluppo tumorale. Tra tutti i fattori pro-angiogenici il VEGF è risultato essere il più potente e specifico nell'instaurare e mantenere la neovascolarizzazione.

Bevacizumab è un anticorpo monoclonale ricombinato diretto contro il VEGF, per il 93% di origine umana e per il 7% di origine murina, in grado di inibire l'azione del VEGF bloccandone il legame con il rispettivo recettore.

Il farmaco agisce legandosi specificamente con tutte le isoforme biologicamente attive del VEGF, impedendone l'interazione con i recettori specifici e creando una riduzione del microcircolo tumorale e della progressione metastatica.

Diversi studi randomizzati hanno dimostrato che l'aggiunta di bevacizumab a regimi chemioterapici standard è in grado di ottenere un miglioramento della sopravvivenza libera da malattia e globale [11].

Tutti i modelli sperimentali documentano l'esistenza di un notevole sinergismo terapeutico tra molecole ad attività antiangiogenetiche e radioterapia. Il meccanismo d'azione ipotizzato è che l'inibizione dell'angiogenesi riduce la capacità del tessuto tumorale di riparare i danni indotti dal trattamento radiante. È stato infatti descritto che l'esposizione a radiazioni ionizzanti induce la produzione di VEGF e che il pretrattamento delle cellule tumorali con VEGF ha un effetto protettivo contro l'azione citotossica delle radiazioni, mentre la somministrazione di un anticorpo anti VEGF la potenzia notevolmente.

Diversi studi clinici hanno dimostrato che l'aggiunta di bevacizumab al trattamento radioterapico è correlata con un significativo miglioramento del controllo loco-regionale e della sopravvivenza senza aumentare la tossicità del trattamento radioterapico.

Bevacizumab è stato utilizzato nel trattamento neo-adiuvante del carcinoma del retto localmente avanzato(LARC) con effetto radio sensibilizzante e nel trattamento dei tumori del testa-collo assieme ad erlotinib. Negli Stati Uniti bevacizumab è utilizzato come farmaco in prima linea insieme a carboplatino e paclitaxel nel carcinoma del polmone con un incremento significativo delle risposte obiettive, del tempo alla progressione e della sopravvivenza globale, mentre il suo utilizzo insieme al trattamento radioterapico è limitato dall'incidenza di emottisi anche gravi, soprattutto nelle forme centrali e con istotipo a cellule squamose.

Capitolo 7

Targeted Therapy nei tumori del distretto testa-collo

Nell'ultimo anno sono stati pubblicati studi randomizzati ed alcune metanalisi che permettono di fare il punto su alcune delle strategie adottate negli studi degli anni '90. L'analisi attenta dei dati ottenuti è importante per capire il panorama in cui si inserisce l'utilizzo dei farmaci a bersaglio specifico e per meglio comprendere le vie di possibile sviluppo futuro. Dalle metanalisi emergono alcune evidenze che possono pertanto definirsi consolidate:

- La modalità di radioterapia con iperfrazionamento comporta un miglioramento a 5 anni del controllo locale e della sopravvivenza rispettivamente del 4% e 8%, con riduzione sostanziale della tossicità del trattamento;
- la modalità di trattamento accelerata, al fine di ridurre il ripopolamento neoplastico tra le sedute, comporta un miglior controllo locale solo negli schemi che non prevedono modifiche della dose totale, ma non migliora la sopravvivenza ed è gravata da una più elevata tossicità;
- la chemioterapia concomitante è da definirsi lo standard di trattamento delle neoplasie del distretto testa collo, producendo un vantaggio significativo in termini di sopravvivenza mediana; il fluoro ed il platino sono i maggiori responsabili di questo beneficio.

Più di 500.000 nuovi pazienti con carcinomi della testa e del collo a cellule squamose (HNSCC) sono diagnosticati ogni anno in tutto il mondo. Pazienti in recidiva dopo terapia primaria per la malattia locoregionale e quelli che si presentano con metastasi a distanza hanno prognosi limitata. Nuovi agenti antitumorali sono estremamente necessari, in particolare per superare le resistenze che si verificano con fallimenti della terapia primaria. Nel 2006, gli Stati Uniti

Food and Drug Administration (FDA) ha annunciato l'approvazione di un anticorpo monoclonale chimerico contro il recettore del fattore di crescita epidermico EGFR (cetuximab Erbitux), per l'uso in combinazione con la radioterapia in pazienti con carcinoma localmente avanzato HNSCC. Inoltre, l'aggiunta di cetuximab al cisplatino come terapia di prima linea nei pazienti con HNSCC ricorrente o metastatico R/M ha notevolmente migliorato il tasso complessivo di risposta rispetto ai dati di Fase II che utilizzavano il cisplatino da solo. Il cetuximab dato come monoterapia in pazienti con R/M HNSCC pazienti che sono andati in progressione dopo terapia a base di platino, ha dimostrato un tasso complessivo di risposta del 13% e una sopravvivenza mediana di 6 mesi. Sulla base di tali risultati, la FDA ha anche approvato in monoterapia l'uso cetuximab per questa indicazione in R/M HNSCC. L'uso di inibitori di EGFR nel HNSCC è stato recentemente riesaminato dalla letteratura. Nuovi obiettivi oltre l'EGFR sono stati identificati nel HNSCC.

7.1 Bevacizumab

Bevacizumab è un anticorpo monoclonale anti-angiogenico diretto contro il fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF). L'espressione di VEGF è stato dimostrato essere altamente correlato con la prognosi nei pazienti con HNSCC. E' stato dimostrato che l'attivazione di EGFR può regolare il VEGF, e questo fenomeno può essere correlato con la resistenza agli agenti anti EGFR. Pertanto, Vokes e colleghi hanno condotto uno studio di fase I/II di bevacizumab in combinazione con erlotinib, una piccola molecola recettore EGFR, inibitore della tirosin-chinasi, in 51 pazienti con R/M HNSCC. I più comuni eventi avversi sono stati: rash, affaticamento e diarrea. Ci sono stati tre eventi correlati al sanguinamento, uno dei quali è stato fatale.

Alla dose raccomandata di 15 mg/ kg di Bevacizumab ogni 3 settimane e 150 mg di erlotinib al giorno, due pazienti (4%) su 48 hanno mostrato una risposta completa e 5 (10%) hanno avuto risposta parziale. La mediana di sopravvivenza

libera da progressione e la sopravvivenza globale sono state rispettivamente di 4 mesi e 7 mesi.

Altro esito favorevole è stato visto tra quelli che hanno ricevuto i dosaggi in studio come terapia di prima linea. Tra i pazienti con una precedente terapia per R/M HNSCC, i risultati sono simili a quelli ottenuti con Erlotinib solo. Il Bevacizumab è stato attualmente studiato in uno studio di fase II in combinazione con cetuximab in R/M HNSCC. Karamouzis e colleghi hanno condotto uno studio di pemetrexed e bevacizumab senza composti del platino in R/M setting. In un'analisi ad interim, 14 pazienti hanno ricevuto 500 mg/m² di pemetrexed e bevacizumab 15 mg/kg ogni 3 settimane. Cinque pazienti hanno riportato eventi emorragici, di cui due di grado 3 di intensità. Tra le 11 pazienti valutabili, due (18%) hanno avuto risposta completa e tre hanno mostrato una risposta parziale. La mediana di sopravvivenza libera da progressione è stata di 6 mesi. Alla luce di questi interessanti risultati preliminari rispetto ai controlli storici, per competenza lo studio continua. Tuttavia, l'attenzione dovrebbe essere focalizzata sulle complicanze vascolari in ultima analisi, per determinare l'indice terapeutico di questo regime.

7.2 Anticorpi monoclonali (Mabs)

Gli anticorpi monoclonali diretti contro l'EGFR in via di sviluppo clinico includono il cetuximab, matuzumab, panitumumab, nimotuzumab, zalutumimab. Cetuximab rappresenta il primo ad essere entrato nella pratica clinica. Il più importante trial sull'inibizione dell'EGFR in combinazione con la radioterapia è stato presentato da Bonner and Harari et al [12]. Sono stati studiati 424 pazienti con carcinoma squamo-cellulare localmente avanzato dell'orofaringe, ipofaringe e laringe, trattati con radioterapia più o meno Cetuximab. Sono state utilizzate tre differenti schedule radioterapiche: 70 Gy in 35 frazioni, o 72.0-76.8 Gy in 60-64 frazioni (2 frazioni al giorno), o concomitant boost per dose totale di 72 Gy in 42 frazioni. Non è stata somministrata chemioterapia concomitante. Cetuximab è stato applicato la prima volta ad una dose di 400 mg/m² nella settimana prima

dell'inizio della radioterapia (week 1) e settimanalmente, prima dell'irradiazione, per tutta la durata del trattamento radioterapico (week 2-8), alla dose di 200 mg/m². La dissezione del collo post radioterapia era raccomandata in caso di N1. Il tasso del controllo tumorale locale era, ad 1 e 2 anni, del 69 e 56% per pazienti trattati simultaneamente con Cetuximab contro 59 e 48% per i pazienti trattati solo con radioterapia [fig. 2]. L'overall survival a 2 e 3 anni era del 62 e 57% per i pazienti trattati con Cetuximab contro il 55 e 44% per i pazienti trattati solo con radioterapia [fig. 3].

La mediana di sopravvivenza era rispettivamente di 54 mesi e 28 mesi; mucositi severe (grado 3-4) si sono verificate nel 55% dei pazienti trattati con Cetuximab e nel 52% dei pazienti trattati solo con radioterapia. Reazioni cutanee acute (grado 3-4) si sono verificate rispettivamente nel 34 e 18% dei pazienti. Gravi reazioni allergiche all'infusione si sono avute nel 3% dei pazienti. Reazioni tardive devono essere ancora valutate.

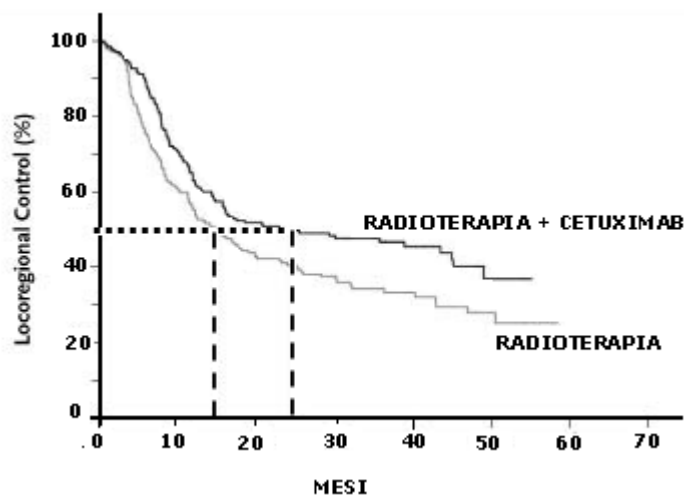


Fig. 2

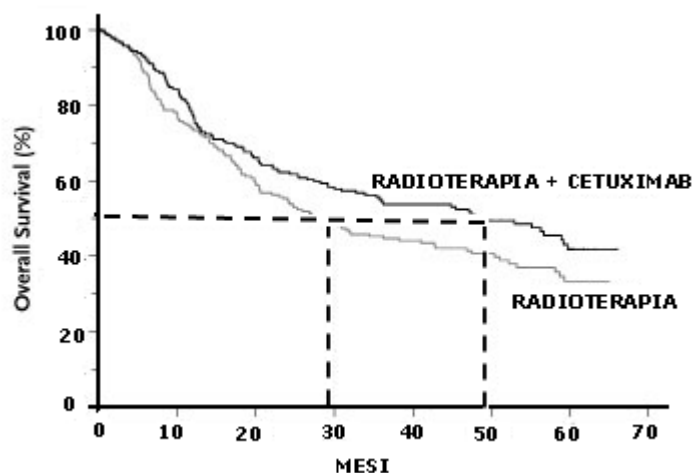


Fig. 3

Kies et al. [13] ha aggiunto il cetuximab al paclitaxel settimanale 135 mg/m² e carboplatino AUC₂ come regime d'induzione nel SCCHN localmente avanzato in treatment-naïve. Dopo sei somministrazioni settimanali tutti i pazienti hanno avuto una risposta con il 27% di risposta completa. Tossicità cutanea severa si è verificata nel 47% dei pazienti.

Cetuximab è stato anche utilizzato in casi di recidiva e nella malattia metastatica, sia in prima che in seconda linea. Burtness et al. [14] in uno studio randomizzato di 117 pazienti con ripresa di malattia o malattia metastatica ha confrontato i risultati del trattamento con cisplatino e placebo vs cisplatino e cetuximab. Nessuna terapia era stata somministrata a questi pazienti. Una risposta obiettiva si è verificata nel 26% dei pazienti che hanno ricevuto cetuximab contro il 10% dei pazienti che hanno ricevuto placebo. La progression free survival è stata maggiore per i pazienti del braccio con cetuximab (4.2 vs 2.7 mesi).

Bourhis et al. [15], in uno studio di fase I-II ha aggiunto cetuximab al carboplatino AUC 5 o al cisplatino 100 mg/m² il giorno 1 seguito dal 5-FU i.c. alla dose escalation di 600, 800, 1000 mg/m² al giorno. Sono stati trattati 51 pazienti con ripresa di malattia o malattia metastatica che non avevano ricevuto altri trattamenti chemioterapici. L'overall response rate è stata del 36%, il tempo mediano alla progressione è stato di 5.1 mesi e l'overall survival di 9.8 mesi.

Baselga et al. [16] ha aggiunto il cetuximab settimanale a 96 pazienti con malattia refrattaria al platino con un vantaggio in termini di tempo mediano alla

progressione ed overall survival. Cetuximab è stato approvato dalla FDA nel trattamento del carcinoma localmente avanzato in associazione alla radioterapia, e come singolo agente nella malattia metastatica.

7.3 Inibitori di tirosin-kinasi

Gefitinib ed erlotinib sono piccole molecole inibitrici della tirosin-kinasi indirizzate verso il dominio catalitico intracitoplasmatico del recettore.

In uno studio di fase II, 52 pazienti con ripresa di malattia o con malattia metastatica sono stati trattati con gefitinib 500 mg/die . L'overall response rate è stata del 10.6%. Il 6 % dei pazienti ha presentato diarrea. Il tempo mediano alla progressione e l'overall survival sono stati rispettivamente di 3.4 e 8.1 mesi.

Soulieres et al. [17] ha trattato 115 pazienti con erlotinib 150 mg/die. Il 97% dei pazienti sono stati irradiati e il 37% erano già stati sottoposti a chemioterapia. Gli effetti collaterali sono stati principalmente rash e diarrea di grado I-II. La response rate è stata del 4.3%, la mediana di progression free survival di 9.6 settimane e l'overall survival di 6 mesi.

Cohen et al. [18] ha trattato 69 pazienti, stadio III-IV, con due cicli di induzione (carboplatino e paclitaxel) seguita da un trattamento alternato radio-chemioterapico ed ha aggiunto gefitinib 250 mg/die. Dopo la chemioterapia gefitinib è stato somministrato per 2 anni. 37 pazienti dei 42 valutati (88%) ha presentato una risposta completa. Ad un follow up di 294 giorni, 2 pazienti hanno avuto progressione di malattia e 4 sono deceduti.

7.4 ErbB2

Il lapatinib è un inibitore selettivo reversibile di EGFR ed Erb B2.

La combinazione di lapatinib con la radioterapia convenzionale (70 Gy) e cisplatino 100 mg/m² trisettimanale è stata testata in uno studio di fase I dose escalation [19].

La dose ottimale è stata di 1500 mg/die. Sono stati valutati 17 dei 22 pazienti reclutati. Il 74% ha presentato una risposta completa, la restante parte una risposta parziale. Non è stata osservata nessuna differenza in termini di tossicità rispetto ai trattamenti con cisplatino e radioterapia.

7.5 Vascular endothelial growth factor (VEGF) e vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR)

Bevacizumab è il farmaco che maggiormente è stato utilizzato nella pratica clinica. Mauer et al. ha combinato erlotinib 150 mg/die con bevacizumab (g 1,21) in uno studio di dose escalation da 5 a 15 mg/kg. Non è stata osservata nessuna tossicità dose limitante. Dopo due cicli di trattamento, 7 dei 9 pazienti valutati hanno mostrato stabilità di malattia ed in un caso è stata documentata una risposta parziale. Nel HNSCC R/M, il Bevacizumab (Avastin ®) VEGF di prima o di seconda linea in combinazione con erlotinib ci ha dato i seguenti risultati: CR = 4%; PR =10%; DS =56%; PFS =4 mesi; OS =7 mesi. Invece, in prima linea, in combinazione con pemetrexed: CR=18%; PR=27%; DS=54%; PFS=6 mesi.

Nel HNSCC localmente avanzato, stadio IV in combinazione con la radioterapia e docetaxel: CR 90%; PR 0%. Nel localmente avanzato, stadio II HNSCC in combinazione con la RT e 5 fluorouracile e idrossiurea senza bevacizumab: CR = 100%.

Invece in combinazione con bevacizumab: CR = 92%. Semaxamib è un antiangiogenetico diretto selettivamente contro il VEGFR-2. Fury et al. ha trattato 32 pazienti con SCCHN metastatico o recidivato con semaxamib e.v. bi-settimanale 145mg/m². In 20 pazienti è stato necessario ridurre la dose; il maggior effetto collaterale è stata cefalea di grado 3, spossatezza, nausea e vomito grado 1-2. Sono stati valutati 31 pazienti di cui solo 1 ha mostrato risposta parziale. La

mediana dell'overall survival è stata di 6.25 mesi. Gli scarsi risultati ottenuti potrebbero essere relativi alla inibizione non ottimale del VEGFR-2 a quelle dosi.

7.6 Discussione.

Sono molte le sfide che esistono nello sviluppo di nuove terapie nel HNSCC.

Data la complessità del cablaggio molecolare nei tumori umani, è improbabile concentrandosi su un unico obiettivo riuscire ad ottenere successi terapeutici. Lo sviluppo di inibitori della tirosin-chinasi, che hanno la capacità di colpire bersagli multipli, e la combinazione di diversi agenti con la loro efficacia verso percorsi specifici, rappresentano le strategie maggiormente attraenti. Inoltre, la maggior parte degli agenti antitumorali mirati che sono attualmente in sviluppo clinico per HNSCC sono studiati nei carcinomi ricorrenti e metastatici, e questa strategia ci pone di fronte ad uno svantaggio.

La maggior parte dei pazienti in questa popolazione era stata sottoposta ad una precedente chemioterapia e o radioterapia. Quindi a causa dello sviluppo di resistenza, maggiore è l'esposizione a trattamenti precedenti, meno probabile è che un tumore possa rispondere ai nuovi farmaci antitumorali.

Per questo, data la mancanza di benefici di sopravvivenza con aggressivi regimi chemioterapici citotossici, si dovrebbe sostenere la sperimentazione di nuovi agenti di prima linea.

Capitolo 8

Targeted Therapy nei tumori del retto

Tra i trattamenti proposti nel carcinoma del retto in associazione alla radioterapia, i farmaci maggiormente impiegati sono gli inibitori delle tirosin-chinasi EGFR correlati (erlotinib e gefitinib), gli anticorpi anti-EGFR (cetuximab) e gli anticorpi anti-VEGF (bevacizumab).

I dati più consistenti sono quelli relativi al bevacizumab e gli studi clinici hanno già evidenziato una efficacia in associazione con acido folinico e fluoro-uracile. Gli effetti collaterali più rilevanti sono risultati essere l'ipertensione, la proteinuria, l'epistassi e le trombosi. Si sono inoltre osservati casi di perforazione intestinale. La tossicità risulta maggiore nei soggetti di età superiore a 65 anni ed affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali o diverticolosi.

Cetuximab ha dimostrato di essere efficace nel carcinoma del colon-retto. In ordine cronologico è la prima molecola biologica che ha dimostrato di essere attiva nella neoplasia del colon retto (studio BOND), soddisfacendo tutti i parametri utili nella valutazione di una III linea metastatica (risposta parziale, controllo della malattia e tempo alla progressione). Il farmaco si è dimostrato in grado di ottenere circa un 20% di risposte, impiegato in associazione con Irinotecan, in pazienti pretrattati con Irinotecan e in progressione. Il farmaco, in monoterapia, ha evidenziato un'efficacia del 10%. La tossicità maggiormente evidenziata è una tossicità cutanea, con rash acneiforme che può a volte assumere caratteristiche pustolose o crostose e può limitare pesantemente la qualità della vita del paziente.

L'espressione del recettore EGFR non risulta correlata con la risposta ed è segnalata l'efficacia anche in soggetti EGFR negativi. Inoltre l'espressione di EGFR può essere differente tra il tumore primitivo e le metastasi e ciò limita ulteriormente la predittività di risposta al farmaco. Tutti i modelli sperimentali documentano l'esistenza di un notevole sinergismo terapeutico tra molecole ad

attività antiangiogenetica e chemioterapia o radioterapia, probabilmente legato al fatto che l'angiogenesi riduce la capacità del tessuto tumorale di riparare i danni indotti dai trattamenti citotossici. Ad esempio, è stato descritto che l'esposizione a radiazioni ionizzanti induce la produzione di VEGF e che il pretrattamento delle cellule tumorali con VEGF ha un effetto protettivo contro l'azione citotossica delle radiazioni, mentre la somministrazione di un anticorpo anti-VEGF la potenzia notevolmente. Anche l'attività antitumorale della maggior parte dei farmaci chemioterapici è notevolmente aumentata dalla somministrazione concomitante di farmaci antiangiogenetici.

Alla luce di quanto detto, appare evidente che i farmaci antiangiogenetici non andrebbero utilizzati da soli come unica terapia per pazienti con malattia metastatica avanzata e che trovano la loro applicazione principale nelle terapie adiuvanti e in associazione ai trattamenti citotossici tradizionali (chemioterapia e radioterapia).

8.1 Targeted therapy in combinazione con la radioterapia preoperatoria

8.1.1 ASCO 2007

Uno studio di fase II presentato all'ASCO 2007 ha associato cetuximab al trattamento neoadiuvante radio-chemioterapico del carcinoma del retto localmente avanzato.

Sono stati valutati 66 pazienti (us T3-T4 N0/+). I risultati ottenuti hanno confermato che il trattamento del carcinoma del retto localmente avanzato con 5FU, cetuximab e radioterapia pelvica è fattibile e ben tollerato [22].

Sempre durante l'ASCO 2007 sono stati presentati diversi studi sul trattamento neoadiuvante con cetuximab, capecitabina e radioterapia e cetuximab, capecitabina, irinotecan e radioterapia tutti con risultati ottimali [23].

8.1.2 ASCO 2008

Machiels et al. [24], in un trial di fase I-II ha valutato la fattibilità ed efficacia dell'aggiunta del cetuximab al trattamento neoadiuvante con radioterapia e capecitabina concomitante. Questa combinazione non ha determinato una tossicità tale da non permettere di completare la terapia. Tuttavia, solo nel 5% dei pazienti si è ottenuta una risposta completa, mentre il 68% ha ottenuto soltanto un regressione tumorale di grado lieve-moderato. Il German Rectal Cancer Study Group ha condotto uno studio multicentrico di fase I-II per valutare la tollerabilità e l'efficacia dell'aggiunta di cetuximab al trattamento con radioterapia, capecitabina ed oxaliplatino. Anche in questo caso solo il 9% dei pazienti ha ottenuto una risposta completa mentre il 53% dei pazienti ha ottenuto una risposta lieve o moderata.

Willet et al. [25] ha riportato uno studio di fase I sull'utilizzo del bevacizumab nel trattamento neoadiuvante con radioterapia e 5-FU in pazienti con carcinoma del retto localmente avanzato. I dati preliminari hanno indicato la fattibilità ed estrema efficacia di questo regime (sei su sette pazienti valutati presentavano solo malattia microscopica all'intervento effettuato 7 settimane dopo).

Un'analisi particolarmente selettiva sui primi sei pazienti, effettuata dopo 12 settimane dalla prima infusione di bevacizumab, ha dimostrato una evidente diminuzione della perfusione, del volume sanguigno e della neoangiogenesi.

Czito, Bendell, Willet et al. [26] hanno condotto un trial di fase I utilizzando bevacizumab, oxaliplatino, capecitabina e radioterapia con promettenti risultati in termini di tollerabilità ed efficacia .

Dose	Dose totale (cGy)	Capecitabina (mg/m ²) somministrato bid, lunedì-venerdì	Bevacizumab (mg/Kg), g.1 (loading dose) e g. 8, 22 (treatment dose)	Oxaliplatino (mg/m ²), settimane 1-5
-1	5,040	500	15/10	50
1	5,040	625	15/10	50
2	5,040	825	15/10	50
3	5,040	825	15/10	60
4	5,040	825	15/10	75

Tabella 1. Dose di rt, bevacizumab, oxaliplatino e capecitabina

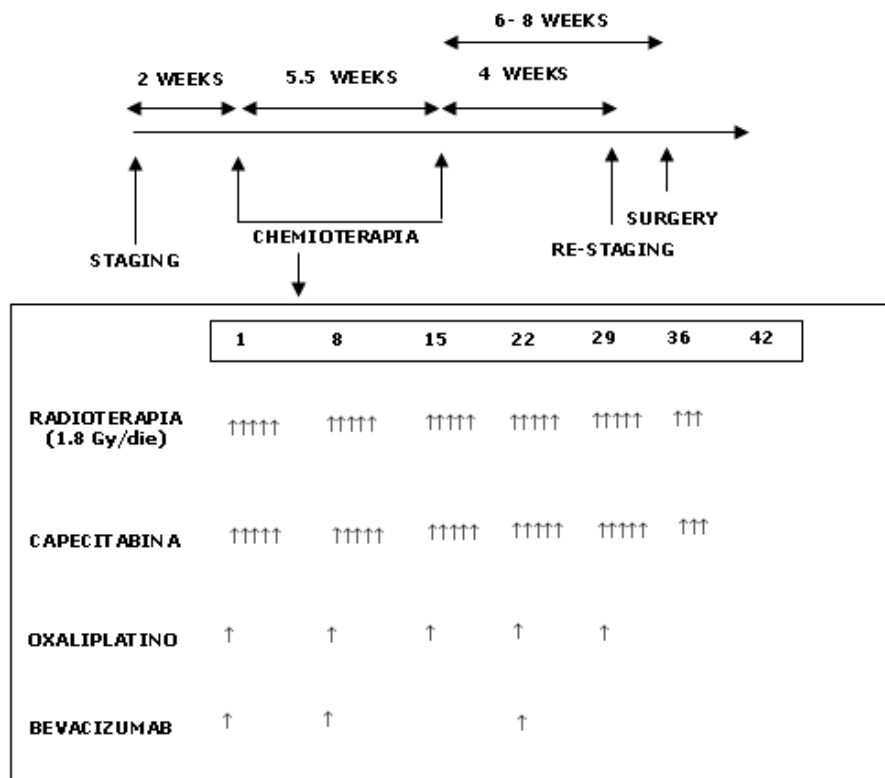


Tabella 2. Disegno dello studio

	Dose level 1 (n=9), Oxaliplatino 50 mg/m ² /week+Capecitabina 625 mg/m ² bid + Bevacizumab 15 mg/Kg Settimana 1, 10 mg/Kg Settimane 2 e 4	Dose level 2 (n=2), Oxaliplatino 50 mg/m ² /week+Capecitabina 825 mg/m ² bid + Bevacizumab 15 mg/Kg Settimana 1, 10 mg/Kg Settimane 2 e 4	Tutti i dose level (n=11)			
Tossicità	Grado 1- 2	Grado 3- 4	Grado 1- 2	Grado 3- 4	Grado 1-2	Grado 3-4
Diarrea	5	2	1	1	6	3
Nausea	6	1	1	0	7	1
Vomito	1	1	0	0	1	1
Affaticamento	9	0	1	0	10	0
Anoressia	5	1	1	0	6	1
Disidratazione	0	1	0	1	0	2
Anemia	0	0	0	0	0	0
Neutropenia	0	0	0	0	0	0
Trombocitopenia	0	0	0	0	0	0
Sindrome Mani-Piede	0	0	1	0	1	0
Reazioni cutanee	6	0	2	0	8	0

Pazienti	Dose level	Stadio Pre-trattamento	Tossicità Dose-limitante	Risposta Radiografica	Stadio Post-trattamento	Risultato chirurgico
1	1	T3 N1 M1	NO	SD	T3 N0 M1	R0
2	1	T3 N2 M0	NO	SD	T3 N2 M0	R1
3	1	T3 N1 M0	NO	SD	T0 N0 M0	R0
4	2	T3 N1 M0	SI	CR	T0 N0 M0	R0
5	2	T3 N0 M1	SI	PR	T1 N0 M0	R0
6	1	T3 N0 M0	NO	CR	T2 N0 M0	R0
7	1	T3 N1 M0	NO	PR	T2 N0 M0	R0
8	1	T3 N1 M0	NO	SD	T1 N0 M0	R0
9	1	T3 N1 M1	NO	PR	T3 N1 M1	R1
10	1	T3 N1 M0	NO	SD	T2 N0 M0	R0
11	1	T4 N1 M1	SI	PR	T3 N0 M1	R0

Tabella 4 . Risposta al trattamento

CAPITOLO 9

Targeted Therapy nel carcinoma polmonare non a piccole cellule

Sono stati studiati numerosi farmaci biologici nel NSCLC, tra cui quelli che interferiscono con l'attività di recettori di membrana, come i recettori della famiglia dell' EGFR, o con fattori implicati nel processo di angiogenesi, come il VEGF, o con prodotti di oncogeni implicati nei processi di proliferazione cellulare (kras, bcl-2).

9.1 Inibitori dell'EGFR

Uno studio di fase II ha mostrato che cetuximab è attivo in pazienti con NSCLC precedentemente trattato con chemioterapia, mentre uno studio di fase III sta attualmente valutando l'attività del farmaco in associazione alla chemioterapia in pazienti non pretrattati. Sono in corso studi per identificare i fattori predittivi per la sensibilità al farmaco. Il valore predittivo dell'espressione dell'EGFR è controverso, il ruolo della polisomia/amplificazione dell'EGFR è oggetto di studio, mentre mutazioni a carico del gene che codifica per EGFR non hanno dimostrato di aumentare la sensibilità al farmaco.

Il J Thorac Oncol ha pubblicato i risultati dello studio SCRATCH condotto su 12 pazienti con NSCLC inoperabile (stadio III) trattati con chemioterapia d' induzione a base di platino seguita da trattamento concomitante con cetuximab e radioterapia. I risultati hanno dimostrato che il trattamento è fattibile e che la tossicità acuta e tardiva è accettabile [26].

Studi clinici hanno valutato il ruolo di trastuzumab in associazione alla chemioterapia in pazienti in fase avanzata. Benchè dati iniziali suggerissero un potenziale incremento dell'efficacia della chemioterapia senza un significativo aumento della tossicità, uno studio randomizzato di fase II che confrontava una chemioterapia con cisplatino e gemcitabina vs la stessa combinazione in associazione a trastuzumab non ha evidenziato nessun vantaggio nel braccio sperimentale. Malgrado i risultati negativi, è possibile che strategie che interferiscano con HER2 possano avere un ruolo nel trattamento di questo tumore, soprattutto se i pazienti verranno selezionati sulla base dell'espressione o dell'amplificazione di HER2.

Gefitinib ed erlotinib rappresentano comunque i farmaci più studiati nel NSCLC. In pazienti pretrattati con chemioterapia, tradizionalmente refrattari a qualsiasi ulteriore trattamento medico, l'impiego di erlotinib ha prodotto un tasso di risposte obiettive del 10%, con un prolungamento significativo quando confrontato con il placebo. Questi risultati hanno contribuito alla registrazione in Italia di erlotinib per il trattamento di seconda e terza linea per il trattamento del NSCLC. In pazienti non pretrattati, erlotinib e gefitinib sono stati utilizzati in associazione alla chemioterapia. Quattro studi randomizzati di fase III, ciascuno dei quali ha incluso oltre 1000 pazienti, hanno confrontato una chemioterapia standard vs lo stesso regime associato con inibitori di tirosin-kinasi. Tutti gli studi hanno fallito, probabilmente perchè i pazienti non sono stati selezionati.

Adesso è infatti noto come la razza asiatica, il sesso femminile, gli adenocarcinomi, specie quelli con aspetti di tipo bronchiolo-alveolare, e soprattutto la storia di non esposizione al fumo di sigaretta rappresentano i più importanti fattori predittivi di risposta. Nel maggio '04, due gruppi di ricercatori hanno dimostrato che specifiche mutazioni a carico degli esoni 18-21 del gene che codifica per EGFR determinano una particolare sensibilità a gefitinib ed erlotinib. Dati recenti indicano che l'aumento del numero di copie del gene che codifica per EGFR, valutato con la tecnica FISH, è associato a una migliore risposta e ad una

migliore sopravvivenza, mentre la mutazione di KRAS appare essere una caratteristica legata alla resistenza di questa categoria di farmaci. Infine l'analisi immunoistochimica dell' EGFR, per lungo tempo considerata non utile ai fini di una selezione dei pazienti, ha recentemente dimostrato di poter essere utile nell'identificare i pazienti che possono beneficiare del trattamento.

9.2 Inibitori del VEGF

I risultati più incoraggianti degli studi sui farmaci anti-VEGF sono stati ottenuti con il bevacizumab. Un recente studio di fase III ha confrontato, in pazienti con adenocarcinoma, pretrattati con un trattamento chemioterapico standard vs la stessa chemioterapia associata a bevacizumab. È stato dimostrato un netto e significativo incremento della mediana di sopravvivenza per i pazienti che ricevevano bevacizumab [27]. Sulla base di questi risultati la FDA ha indicato negli USA questo regime di combinazione a 3 farmaci quale schema di riferimento nell'adenocarcinoma polmonare in fase avanzata. Da qui la tendenza all'utilizzo di bavacizumab anche negli stadi iniziali di malattia in associazione a radio e chemioterapia.

9.3 Altri farmaci biologici

Numerosi agenti sono in corso di valutazione, tra cui gli inibitori di m-TOR, di MEK, delle farnesiltrasferasi, della proteina chinasi C, gli inibitori delle metalloproteasi. Tuttavia, i risultati oggi disponibili non hanno dimostrato un impatto positivo sulla sopravvivenza. L'iperpressione della cicloossigenasi-2 si riscontra frequentemente nei pazienti con carcinoma polmonare ed è correlato ad una cattiva prognosi. Numerosi studi stanno attualmente valutando il ruolo degli inibitori della COX-2 sia in pazienti affetti da malattia in fase avanzata, in

associazione a chemioterapia o altri farmaci biologici, sia in soggetti a rischio di sviluppare un carcinoma polmonare, come i fumatori, a scopo chemiopreventivo.

Capitolo 10

Targeted Therapy nel carcinoma polmonare a piccole cellule

Sebbene il carcinoma polmonare a piccole cellule è estremamente sensibile alla chemioterapia, con tassi di risposta che oscillano tra il 30% per farmaci attivi usati in monoterapia e il 75-80% per diversi regimi di combinazione, raramente la risposta è di lunga durata. La maggiorparte dei pazienti ricade, spesso con un quadro di malattia progressivamente meno sensibile ai trattamenti citotossici. Il microcitoma si caratterizza infatti per la presenza di numerose e importanti modificazioni genetiche, che inducono la perdita o inattivazione di geni oncosoppressori o l'attivazione di oncosoppressori di protooncogeni. Tali alterazioni rappresentano potenziali bersagli per terapie biologiche e sono stati impiegati numerosi agenti, soprattutto in pazienti con malattia avanzata o come malattia di mantenimento, ma con risultati assai deludenti.

10.1 C-kit

E' un recettore tirosino-kinasico, espresso nel 70% dei microcitomi e mutato in circa il 10% dei casi, suggerendo un possibile ruolo nella stimolazione della crescita tumorale. Circa un terzo dei pazienti con ES-SCLC presenta una iper-espressione di c-kit.

In uno studio di fase II sull' imatinib nel SCLC, Johnson et al.[28] ha arruolato 19 pazienti con malattia estesa, chemio-naive o chemiosensibili.

Nessun vantaggio è stato ottenuto e solo un paziente ha avuto una risposta parziale, infatti il 79% dei pazienti arruolati mancava dell' espressione di c-kit. Per questa ragione, il Cancer and Leukemia Group B [29] raffinò lo studio in un trial simile in pazienti con iper-espressione di c-kit senza comunque avere risultati differenti. In

un terzo studio, imatinib è stato utilizzato come terapia di mantenimento in pazienti con malattia estesa e trattati con cisplatino ed irinotecan e che presentavano iper-espressione di c-kit ed anche in questo caso non si è evidenziato nessun miglioramento della progression-free survival [30]. Una delle ragioni di tali insuccessi potrebbe essere l'indipendenza delle cellule del SCLC dagli stimoli di c-kit o dall'assenza in questi tumori della mutazione dell'esone 11 che è un fattore predittivo nei GIST.

10.2 Bcl-2

Si tratta di una proteina anti-apoptotica overespressa nel 69-90% dei pazienti con SCLC, pertanto la sua inibizione rappresenta un'arma terapeutica efficace.

Rudin et al.[31] ha ottenuto risultati promettenti associando oblimersen (G3 139) un oligonucleotide antisense, a carboplatino ed etoposide e sulla base di questi risultati, il Cancer and Leukemia Group B sta conducendo uno studio di fase II con chemioterapia associata o meno all'antisense.

10.3 Inibitori delle metallo proteasi (MMPI)

L'iperespressione (riscontrabile nel 90% dei pazienti con SCLC) o l'attivazione non controllata di questa famiglia di enzimi degradativi della membrana basale e dello stroma connettivale facilita l'angiogenesi e promuove la crescita e la metastatizzazione tumorale.

Due studi randomizzati con marimast per 2 anni vs placebo, in pazienti con SCLC in risposta completa o parziale, non hanno mostrato nessun beneficio e la qualità di vita dei pazienti è risultata peggiore nel braccio sperimentale. Conclusioni egualmente deludenti sono emerse dal confronto di 2 trial randomizzati condotti dal National Cancer Institute of Canada-Clinical Trials Group (NCIC-CTG) e dal European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) che hanno utilizzato marimast dopo induzione con chemioterapia [32].

10.4 Inibitori dell'angiogenesi multitarget

Il sunitinib è un inibitore orale di molteplici bersagli, che determinano al tempo stesso un effetto antiangiogenetico e antitumorale. L'inibizione contemporanea di VEGFR e PDGFR colpisce i due diversi distretti vascolari: le cellule endoteliali e i periciti.

CALGB-30306 è uno studio di fase II che ha aggiunto bevacizumab al cisplatino e irinotecan. I risultati ottenuti su 72 pazienti arruolati hanno mostrato una risposta completa sul 3% dei casi ed una risposta parziale nel 59% dei casi. L'overall survival è stata di 10.6 mesi mentre la sopravvivenza libera da malattia di 7 mesi [33].

ECOG-E 3501 è uno studio di fase II che ha aggiunto bevacizumab al cisplatino ed etoposide. Sono stati arruolati 64 pazienti con malattia estesa non precedentemente trattata. Una risposta completa si è verificata su 4 pazienti su 39 valutati, mentre una risposta parziale in 23 casi [34].

In pazienti con malattia limitata, l'aggiunta di bevacizumab alla chemio-radioterapia non ha sensibilmente modificato l'incidenza degli effetti avversi.

Un trial di fase II condotto su pazienti con malattia limitata, ha utilizzato quale schema di trattamento, irinotecan, carboplatino e radioterapia ed ha aggiunto bevacizumab anche in monoterapia come mantenimento per 6 mesi. I risultati hanno riportato 3 casi di fistola tracheo-esofagea solo in pazienti con precedente esofagite [35].

La talidomide è stata utilizzata in uno studio di fase II condotto su 30 pazienti [36]. I pazienti con malattia estesa sono stati inizialmente trattati con chemioterapia e solo coloro che hanno avuto una risposta parziale o completa sono stati inseriti nello studio con talidomide. La tossicità è stata minima, solo un caso ha presentato neuropatia di grado 3, la sopravvivenza mediana è stata di 13 mesi. In un recente

studio di fase III la talidomide è stata utilizzata anche in combinazione con chemioterapia (etoposide e carboplatino). Sono stati arruolati 724 pazienti, 365 hanno ricevuto talidomide mentre 359 pazienti hanno ricevuto placebo. Non c'è stata differenza per quanto riguarda l'overall survival (2 anni in entrambi i bracci) e la sopravvivenza mediana non è stata differente (10.2 mesi). Anche la progression free-survival non è stata differente. I maggiori effetti avversi sono stati gli eventi trombotici (103 pz) mentre non c'è stata differenza riguardo alla tossicità ematologica [37].

10.5 Epidermal growth factor receptor family

A differenza del NSCLC, sebbene l'espressione dell'EGFR risulta essere più bassa, gefitinib, un inibitore orale della tirosino-kinasi, sembra mostrare un'inibizione del segnale dell'EGFR nel SCLC [38].

L'espressione di HER-2/neu nel SCLC è stata meno studiata.

E' stata dimostrata la sua overespressione in circa il 13-30% dei pazienti con malattia estesa e la sua correlazione con una cattiva prognosi ed è proprio su queste evidenze che si basa il razionale dell'eventuale utilizzo di trastuzumab nel SCLC [39].

Capitolo 11

Targeted Therapy nei tumori encefalici

11.1 Temozolomide in combinazione con agenti biologici

Nel glioblastoma sono state identificate alcune caratteristiche biologiche che lo rendono un modello ideale per la sperimentazione di nuovi agenti con target biologici mirati. La patogenesi del glioblastoma è verosimilmente sostenuta da un processo *multistep* che può coinvolgere diverse potenziali alterazioni genetiche; tale processo può anche spiegare le diverse caratteristiche clinico-istologiche osservate tra i glioblastomi primari e quelli secondari (da astrocitomi di basso grado), nonché l'eterogeneità inter- e intra-tumorale spesso riscontrata all'interno dello stesso tumore. L'identificazione di *pathways* di segnale aberranti nel glioblastoma ha anche fornito nuovi potenziali target terapeutici [40].

Sulla base della elevata overespressione (> 60%) dell'EGFR, o dell'amplificazione (> 40%) del gene EGFR nei glioblastomi primari, nonché dell'overespressione dei ligandi e dei recettori del PDGF nei glioblastomi secondari, gli inibitori tirosin-chinasici di EGFR (erlotinib e gefitinib) e di Bcr-Abl (imatinib – che ha effetti inibitori anche su PDGFR) sono stati tra i primi nuovi farmaci biologici ad essere utilizzati, da soli o in associazione ad altri chemioterapici (come per imatinib e idrossiurea). In monoterapia, tali farmaci sono stati caratterizzati da un'attività modesta.

Una predittività di risposta ad erlotinib e gefitinib è stata riportata nei tumori con amplificazione del gene EGFR, overespressione della variante EGFRvIII e con espressione di PTEN; analogamente, è stata osservata un' assenza di risposta nei tumori con espressione di Akt. L'attivazione costitutiva di Akt, o una sua aumentata produzione a causa di una mutazione di PTEN (con cui Akt è regolato

da un feed-back negativo) porterebbero infatti ad un'attivazione del segnale a valle del blocco inibitorio tirosin-chinasico di erlotinib o gefitinib. Tali osservazioni, che necessitano di conferme prospettiche, suggeriscono una possibile efficacia di tali trattamenti soltanto in specifici sottogruppi di pazienti. L'associazione di imatinib e idrossiurea ha invece dimostrato maggiore attività rispetto alla somministrazione di entrambi i farmaci da soli [41]. I risultati ottenuti in monoterapia, nei gliomi ad alto grado recidivi o in progressione, anche se modesti, hanno più recentemente suggerito sperimentazioni sui nuovi farmaci biologici con studi di fase I-II nella malattia di nuova diagnosi, o anche pre-trattata, in associazione a temozolomide; ciò anche al fine di incrementare i risultati terapeutici ottenuti con il trattamento standard .

In associazione a temozolomide, sono in corso sperimentazioni con: PTK787/ZK222584, antiangiogenetico, inibitore tirosino-chinasico di VEGFR; cilengitide, antiangiogenetico e proapoptotico, inibitore delle integrine $\alpha v \beta 3$ e $\alpha v \beta 5$, recettori transmembranari delle cellule endoteliali la cui espressione può essere up-regolata in seguito a danno del DNA delle cellule tumorali indotto dalla radioterapia; bortezomib, inibitore proteasomico e proapoptotico mediante inibizione di NF-KappaB, il cui pathway rappresenta un importante meccanismo di resistenza al trattamento radio-chemioterapico.

Durante l'ASCO 2010, sono stati presentati i risultati preliminari di alcuni studi.

L'aggiunta di cilengitide al trattamento standard con radioterapia e temozolomide nei glioblastomi di nuova diagnosi ha dimostrato una verosimile superiorità in termini di efficacia, in assenza di tossicità aggiunta, indicando uno studio randomizzato. La mediana di sopravvivenza libera da progressione è stata di 8 mesi e la sopravvivenza a 1 anno del 67%. Nei pazienti con metilazione del gene MGMT è stato osservato un maggiore beneficio [42].

In uno studio di fase I è stato utilizzato bortezomib e temozolomide durante la terapia concomitante e nella terapia di mantenimento dei gliomi di alto grado di nuova diagnosi mostrando risultati promettenti [43].

Conclusioni

Negli ultimi vent'anni si è assistito ad un'acquisizione crescente delle conoscenze nel campo della biologia tumorale, frutto dell'enorme sviluppo delle biotecnologie applicate alla ricerca oncologica. Grazie all'identificazione di molecole che interagiscono con un difetto molecolare specifico, l'approccio alla farmacologia antitumorale è radicalmente cambiato. Nel prossimo futuro il trattamento medico delle neoplasie diventerà dunque sempre più specifico e selettivo, guidato dalle caratteristiche biologiche del tumore, con evidenti vantaggi in termini di attività antitumorale e di ridotti effetti collaterali. È possibile che le nuove terapie biologiche, attualmente testate in pazienti con malattia avanzata, si presume possano essere più attive come trattamenti adiuvanti, per prevenire cioè la ricaduta dopo la chirurgia radicale.

Buona parte dei progressi compiuti dall'oncologia mondiale negli ultimi due decenni (+17% di sopravvivenza a 5 anni) si devono alla chemioterapia, più spesso integrata con chirurgia e radioterapia.

Nei tumori del retto l'avvento della radioterapia preoperatoria, integrata con nuovi chemioterapici, consente oggi una chirurgia meno demolitiva che in passato.

Le terapie farmacologiche "riduttive" appaiono consolidate anche nei tumori del distretto testa collo e sono in fase di validazione per i tumori cerebrali. L'utilizzo sempre più sicuro ed efficace di farmaci antitumorali a scopo radiosensibilizzante, rappresenta una delle conquiste più innovative della terapia integrata in oncologia. Su queste basi, il futuro dell'integrazione terapeutica non può che passare necessariamente attraverso le ulteriori acquisizioni sul ruolo delle nuove chemioterapie e delle terapie orali.

La principale novità nella terapia medica del cancro è rappresentata dal fatto che il DNA e la replicazione cellulare non costituiscono più l'unico possibile bersaglio delle strategie terapeutiche antineoplastiche.

Gli effetti delle radiazioni ionizzanti sulle cellule, diretti o indiretti, si manifestano in modo probabilistico e senza particolari differenze tra i tessuti sani e quelli neoplastici. L'effetto radiolesivo più importante è legato alla capacità di inibire la duplicazione cellulare attraverso il blocco oppure il rallentamento del processo di mitosi. Manifestazioni minori consistono, ad esempio, nell'induzione di una morte rapida per apoptosi, nella creazione di mutanti cellulari a loro volta incapaci di riprodursi, nel determinare alterazioni nella differenziazione cellulare e altri ancora. Mentre le fasi iniziali dell'interazione delle radiazioni con la materia (fase fisica e chimica), si esauriscono in tempi brevissimi, le modificazioni provocate sulle cellule dalle alterazioni molecolari richiedono grandezze temporali dell'ordine di minuti, ore e a volte giorni. L'intensità di risposta delle cellule a determinate dosi di radiazioni avviene secondo differenti gradi di sensibilità (rapporto α/β). In linea generale, la radiosensibilità dipende soprattutto dalla velocità di replicazione cellulare; più questo indice è elevato maggiormente sensibile risulterà quel determinato tessuto od organo. Le cellule clonogeniche in fase G0, e quindi fuori dal ciclo replicativo, hanno pertanto una scarsa sensibilità, la fase S è la più radioresistente, mentre la sensibilità è maggiore nelle fasi G2/M ed S iniziale.

La radiosensibilità di un determinato gruppo cellulare non deve comunque essere considerata come un valore costante nel tempo. Essa può infatti essere influenzata da differenti fattori, sia intrinseci, cioè legati alle caratteristiche della cellula stessa, sia estrinseci, dipendenti dal microambiente, ad esempio la presenza di una minore o maggiore quantità di ossigeno, essendo le cellule ben ossigenate più sensibili alla irradiazione.

Per realizzare il suo effetto, l'ossigeno deve essere presente durante l'esposizione o nei millesimi di secondo successivi in quanto deve interagire con i radicali liberi che si formano per idrolisi; in questo modo si formano perossidi organici (RO₂) in grado di produrre un danno (OER).

Un capitolo in rapido sviluppo è lo studio della radiosensibilità intrinseca dei tessuti valutata attraverso l'espressione di specifici gruppi di geni. Una

dimostrazione dell'importanza dell'attivazione precoce di alcuni geni deriva dall'aver osservato che la iperespressione di protooncogeni quali c-Ras e c-Raf risulta essere associata a una maggiore radioresistenza. Lo stesso concetto vale per le cicline o il complesso ciclina-p53. Anche alcuni geni coinvolti nei meccanismi di riparazione del danno subletale indotto dalle radiazioni (bcl-2, bcl-x) o del processo di apoptosi, si sono dimostrati importanti nella morte cellulare radioindotta. La risposta genica precoce può a sua volta influenzare la stimolazione di geni a più lenta risposta. Diverse citochine (tra le quali TNF- α , PDGF, FGF e IL-1) sembrano infatti modificare l'adattamento della cellula al microambiente e indurre una risposta apoptotica cronica.

In conclusione, per quanto riguarda la possibile combinazione terapeutica delle radiazioni ionizzanti nell'ambito delle targeted therapy,

il razionale di questo approccio è quello di aumentare la selettività del trattamento delle cellule neoplastiche aumentando il tasso di risposta tumorale, e riducendo, di pari passo, la tossicità legata all'irradiazione dei tessuti sani circostanti.

Il successo clinico di nuovi farmaci mirati a specifici bersagli molecolari dipenderà in larga misura dalla possibilità di selezionare i pazienti potenzialmente più responsivi ad una specifica strategia terapeutica. Le nuove acquisizioni sull'uso di questi farmaci e sulla loro possibile integrazione alla chirurgia ed alla radioterapia prefigurano una nuova era che migliorerà l'aspettativa e la qualità di vita dei pazienti.

Bibliografia

[1] Slamo DJ, Clark GM et al. *Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2 neu oncogene*. Science 1987; 235: 177-182.

[2] Akimoto T, Hunter NR et al. *Inverse relationship between epidermal growth factor receptor expression and radiocurability of murine carcinomas*. Clin Cancer Res 1999; 5: 2884-2890.

[3] Milas L, Akimoto T, et al. *Relationship between cyclin D1 expression and poor radioresponse of murine carcinomas*. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2002; 52: 514-521.

[4] Pawlik TM, Keyomarsi K. *Role of cell cycle in mediating sensitivity to radiotherapy*. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2004; 59: 928-942.

[5] Dent P, Readorn DB, et al. *Radiation induced release of transforming growth factor β activates the epidermal growth factor receptor and mitogen activated protein kinase pathway in carcinoma cells, leading to increase proliferation and protection from radiation-induced cell death*. Mol Biol Cell. 1999; 10: 2493-2506.

[6] Lammering G., Hewit TH, et al. *EGFR and its mutant EGFRvIII as modulator of tumor cell radiosensitivity (Abstract)*. Proc Am Soc Ther Radiol Oncol 2002; 103

[7] Baumann M, Krause M. *Targeting the epidermal growth factor receptor in radiotherapy: radiobiological mechanisms, preclinical and clinical results*. Radiother Oncol, 2004.

[8] Semenza GL. *Targeting HIF-1 for cancer therapy*. Nat Rev Cancer. 2003; 3: 721-732.

[9] Giaccia A, Siim BJ. *HIF-1 as a target for drug development*. Nat Rev Drug Discov. 2003; 2: 803-811.

[10] Mellillo G. *Targeting hypoxia cell signalling for cancer therapy*. Cancer Metastasis Rev. 2007; 26: 341-352.

- [11] Margolin K, Gordo MS. *Phase Ib trial of intravenous recombinant humanized monoclonal antibody to vascular endothelial growth factor in combination with chemotherapy*. J Clin Oncol 2001.
- [12] Bonner JA, Harari P. *Radiotherapy plus cetuximab for squamous cell carcinoma of the head and neck*. N Engl J Med 2006; 354: 567-578.
- [13] Kies MS, Garden AS, Holsinger C et al. *Induction chemotherapy with weekly paclitaxel, carboplatin and cetuximab for squamous cell carcinoma of the head and neck*. J Clin Oncol 2006.
- [14] Burtner B., Goldwasser et al., *PHASE III randomized Trial of Cisplatin Plus Placebo Compared With Cisplatin Plus Cetuximab in Metastatic/Recurrent Head and Neck Cancer: An Eastern Cooperative Oncology Group Study*. Journal of Clinical Oncology, Vol 23, No 34 (December 1), 2005: pp. 8646-8654© 2005 [American Society of Clinical Oncology](#).
- [15] Bourhis J, Rivera F, Mesia R et al. *Phase I-II study of cetuximab in combination with cisplatin or carboplatin and fluorouracil in patient with recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck*. Journal of Clinical Oncology, Vol 24, No 18 (June 20), 2006: pp. 2866-2872© 2006 [American Society of Clinical Oncology](#).
- [16] Baselga J, Trigo JM, Bourhis J et al. *Phase II study of anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody cetuximab in combination with platinum based chemotherapy in patients with platinum refractory metastatic and/or recurrent squamous cell carcinoma of the head and neck*. J Clin Oncol 2005; 24: 5568-5577.
- [17] Souliers D, Senzer NN, et al. (2004), *Multicenter Phase II study of erlotinib, an oral epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with recurrent or metastatic squamous cell cancer of the head and neck*. J. Clin Oncol 22: 77-85.
- [18] Cohen E, Rosen F, Stadler W et al., *Phase II trial of ZD1839 in recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck*. J Clin Oncol 2003.

[19] Bourhis J, et al., *Phase I open label study of lapatinib plus chemoradiation in patients with locally advanced head and neck cancer*. Ann Oncol 2006; 17: S9, Abstract 576.

[20] Mauer AM, Cohen E et al, *Phase I study of EGFR inhibitor, erlotinib and bevacizumab, in recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck*. J Clin Oncol 2004; 22: 14S, Abstract 5539.

[21] Fury MG, Wong R et al., *A phase II trial of SU 5416 in patients with metastatic or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck*. Invest New Drugs 2005; 25: 165-172.

[22] J. P. Machiels, C. Sempoux et al. Phase I study of preoperative cetuximab, capecitabine, and external beam radiotherapy in patients with rectal cancer. Journal of Clinical Oncology, 2006 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. Vol 24, No. 18S (June 20 Supplement), 2006: 3552

[23] M. Hipp, D. Arnold et al. Phase I/II study of preoperative radiotherapy (RT) with concurrent cetuximab, capecitabine and oxaliplatin (Cet-CapOx) in advanced rectal cancer (RC). ASCO 2007, Abstract 347

[24] Machiels JP, et al., *Phase II study of preoperative oxaliplatin, capecitabine and external beam radiotherapy in patients with rectal cancer: the RadiOxCape study*. Annals of Oncology Advance Access published online on October 11, 2005.

[25] Willet CG, Boucher Y, et al. *Direct evidence that bevacizumab has antivasculature effects in human rectal cancer*. Nat Med 2004.

[26] Hughes S, Landau D, et al. *Safety study of induction chemotherapy and synchronous radiotherapy (RT) and cetuximab in stage III non-small cell lung cancer (NSCLC): SCRATCH (Cohort I)*. Journal of Clinical Oncology, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting Edition). Vol 25, No 18S (June 20 Supplement), 2007: 18032© 2007 [American Society of Clinical Oncology](#).

[27] Ramalingam S, Belani CP. *Role of bevacizumab for the treatment of non small cell lung cancer*. Future Oncol 2007 Apr;3(2):131-9.

[28] Johnson BE, Fischer T, et al. *Phase II study of imatinib in patients with small cell lung cancer*. Clin Cancer Res 2003; 9: 5880-5887.

[29] Dy GK, Miller AA et al, *Phase II study of imatinib in patients with c-kit expressing relapsed small cell lung cancer: a CALGB and NCCTG study*. Ann Oncol, 2005; 20: 1692-1703.

[30] Shneider BJ, Gadgeel S, et al. *Phase II trial of imatinib maintenance therapy after irinotecan and cisplatin in patients with c-kit positive extensive-stage small cell lung cancer*. J Clin Oncol (Meeting Abstracts) 24:17089.

[31] Rudin CM, Kozloff M et al. *Phase I study of G3139, a bcl-2 antisense oligonucleotide, combined with carboplatin and etoposide in patients with small cell lung cancer*. Journal of Clinical Oncology 2004, Vol 22, No 6 (March 15), 2004: pp. 1110-1117. [American Society of Clinical Oncology](#).

[32] Shepherd FA, Giaccone G et al. *Prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of marismat after response to first line chemotherapy in patients with small lung cancer: a trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group and the European Organization for Research and Treatment of Cancer*. J Clin Oncol 2002.

[33] Ready N, Dudek AZ, Wang XF et al (2007) CALGB 30306: A phase II study of cisplatin (C), irinotecan (I) and bevacizumab (B) for untreated extensive stage small cell lung cancer (ES-SCLC). Proc Am Soc Clin Oncol 25(18S):7563

[34] Sandherr A SS, Dowlati A, et al. *A phase II study of cisplatin plus etoposide plus bevacizumab for previously untreated extensive stage small cell lung cancer*. Proc Am Soc Clin Oncol, 2007

[35] Genetech Letter (2007): Important drug warning regarding avastin. <http://www.gene.com/gene/index.jsp>

- [36] Dowlati A, Subbiah S, et al. *Phase II trial of thalidomide as maintenance therapy for extensive stage small cell lung cancer after response to chemotherapy*. Lung Cancer, Volume 56 ,Issue 3 ,Pages 377-3812007.
- [37] Lee S-M, Woll PJ, et al. *A phase II randomized, double-blind, placebo controlled trial of etoposide/carboplatin with or without thalidomide in advanced small cell lung cancer*. 12th World Conference on Lung Cancer, 2007.
- [38] Tanno S, Ohsaki Y, et al. *Small cell lung cancer cells express EGFR and tyrosine phosphorylation of EGFR is inhibited by gefitinib*. Oncol Rep, 2004; 12: 1053-1057.
- [39] Potti A, Ganti AK, et al. *Effects of pesticide exposure on Her-2/neu overexpression seen in patients with extensive stage small cell lung cancer*. Clin Cancer, 2003; 9: 4872-4876.
- [40] Reardon DA, Wen PY, et al., *Therapeutic advances in the treatment of glioblastoma: rationale and potential role of targeted agents*. Oncologist 2006; 11: 152-164.
- [41] Friedman HS, Quinn J et al. *Imatinib mesylate plus hydroxyurea is an effective regimen in the treatment of recurrent malignant glioma*. J Clin Oncol, 2005.
- [42] Stupp R, Goldbrunner R, Meyers B, et al., *Studio di fase I/IIa con cilengitilde (EMD 121974) e temozolomide durante la terapia concomitante e nella terapia di mantenimento del glioblastoma di nuova diagnosi*. (Abstract 2000).
- [43] Dicker A, Werner-Waisak M, et al., *Studio di fase I con bortezomib e temozolomide durante la terapia concomitante e nella terapia di mantenimento dei gliomi di alto grado di nuova diagnosi*. (Abstract 2061).