



**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI SASSARI  
FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA**

---

*Scuola di Dottorato in Scienze biomediche  
Indirizzo "Epidemiologia molecolare dei Tumori"  
Direttore Prof. Eusebio Tolu*

***Ruolo del Lapatinib nel trattamento  
adiuvante del carcinoma mammario  
HER-2 positivo***

*Coordinatore:  
Prof.ssa: Rosa Maria Pascale*

*Tutore  
Dott.ssa M.R. Muroli*

*Tesi di Dottorato:  
Dott.ssa Silvia Mura*

*Cilo XXII*

## Indice

Storia naturale del carcinoma della mammella.....Pag.	2
Ruolo del recettore ErbB nel carcinoma della mammella.....Pag.	14
Lapatinib: doppio inibitore tirosin kinasico.....Pag.	19
Razionale e Scopo dello Studio.....Pag.	27
Materiali e Metodi.....Pag.	29
Risultati.....Pag.	35
Commento e Conclusioni.....Pag.	38
Bibliografia.....Pag.	42

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo"; Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.

## **Storia naturale del carcinoma della mammella.**

E' la neoplasia più frequente nella donna, collocandosi al terzo posto dopo i tumori del polmone e dello stomaco, con pari frequenza con le neoplasie del colon-retto.

L'incidenza del tumore della mammella mostra una notevole variazione in diverse aree geografiche, generalmente più elevata nei Paesi industrializzati e più bassa nei Paesi del Terzo Mondo. In Italia 7 donne su 100 (1 su 14) manifestano clinicamente un carcinoma mammario durante il corso di una vita media normale, cioè entro l'età di 80 anni<sup>1</sup>. Globalmente la malattia rappresenta la prima causa di morte per tumore nella donna. In particolare nelle donne di età fra i 35 e i 55 anni, il carcinoma mammario rappresenta la prima causa di morte più importante, mentre in quelle con età superiore a 55 anni questo tumore diventa la seconda causa di morte dopo le malattie cardiovascolari.

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";

Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.

Nel complesso, il tasso di incidenza del tumore ha subito un progressivo aumento da quando è iniziata la rilevazione sistematica dei casi di neoplasia, e quindi da un impiego più vasto della mammografia. I tassi di mortalità per questa neoplasia sono rimasti pressoché immutati per molti anni, ma agli inizi degli anni Novanta la mortalità per carcinoma mammario ha incominciato a diminuire negli Stati Uniti, nei Paesi dell'Europa nord-occidentale e in Italia; è plausibile che questa diminuzione sia dovuta sia ad un impiego più vasto della mammografia sia all'efficacia dei trattamenti sistemici nelle pazienti ad alto rischio di ripresa della malattia.

L'estrema variabilità dei quadri clinici, con possibilità di decorso, da estremamente rapido a lentissimo, fa sì che qualsiasi tentativo di ricerca volto a migliorare la prognosi si protrae notevolmente nel tempo<sup>2</sup>.

Lo studio dei marcatori prognostici permette di identificare

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";

Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.

le“caratteristiche” biologiche eventualmente indicative della  
evoluzione clinica della malattia.

In clinica, i fattori prognostici sono utili in almeno tre situazioni:  
per identificare pazienti con prognosi buona dopo trattamento locale  
da non necessitare di una terapia adiuvante sistemica; per  
identificare pazienti a prognosi così cattiva dopo trattamento  
convenzionale da giustificare terapie più aggressive; per selezionare  
pazienti che possono o non possono trarre beneficio da terapie  
specifiche.

Attualmente è bene sottolineare che non esistono fattori in grado di  
identificare con certezza pazienti guarite dalla terapia locale da  
quelle destinate ad andare incontro alle ricadute della malattia.

Lo stato dei linfonodi ascellari e le dimensioni del tumore primitivo  
sono notoriamente i principali indicatori prognostici, essendo la  
suddivisione fondamentale posta fra pazienti con linfonodi positivi

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**

(N+) e pazienti con linfonodi negativi (N-); esiste infatti una correlazione tra sopravvivenza libera da malattia e numero di linfonodi interessati<sup>3</sup>.

L'elevata incidenza di ricadute dopo terapia locale, in presenza di linfonodi negativi, è spiegabile solo con la presenza di micrometastasi già disseminate al momento dell'intervento.

Le sedi preferenziali di metastasi a distanza sono i segmenti ossei (70-80%) soprattutto vertebrali, costali, pelvici e della volta cranica.

Le metastasi polmonari rappresentano il 60-65% ; una volta raggiunto il polmone, attraverso la circolazione arteriosa, produce metastasi epatiche (60%) e cerebrali (25%).

Altri fattori prognostici consolidati sono rappresentati dal grado di differenziazione istologico del tumore primitivo, dallo stato dei recettori ormonali, dall'invasione vascolare, dall'angiogenesi, dall'attività proliferativa e dagli oncogeni. Il grado di

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**

differenziazione istologica è un elemento di frequente valutazione nella diagnostica istopatologica del carcinoma mammario.

I tumori con scarso grado di differenziazione nucleare ( G3 ) hanno frequenze più elevate di recidiva rispetto a tumori con buon grado di differenziazione nucleare (G1-G2 ).

L’Invasione tumorale: la presenza di invasione neoplastica di vasi ematici e linfatici, nel parenchima circostante la neoplasia primitiva, viene considerata un indicatore di prognosi sfavorevole, indipendentemente dalle dimensioni tumorali; questo stato istopatologico è particolarmente importante nelle pazienti classificate come N-, dove, se assente, si è osservata una sopravvivenza libera da malattia a 5 anni del 90%, in presenza di invasione vascolare la sopravvivenza scendeva al 60%.

I Recettori ormonali estroprogestinici (REP): il decorso clinico dopo terapia locale varia, a parità di stadio, in rapporto alla presenza

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**

o all'assenza di questi nella neoplasia primitiva. Infatti i tumori che non presentano uno o entrambi i recettori comportano un maggior rischio di recidiva rispetto a tumori in cui entrambi i recettori sono presenti.

Il significato prognostico dello stato recettoriale assume importanza nelle pazienti classificate come N-(assenza di interessamento linfonodale), nelle quali la negatività dei recettori rappresenta un criterio per porre indicazione alla chemioterapia adiuvante<sup>4</sup>.

Anche se non tutti gli studi comparsi in letteratura hanno riportato risultati statisticamente significativi, la positività dello stato recettoriale per gli estrogeni viene attualmente considerata un fattore prognostico favorevole ormai consolidato, mentre l'assenza di REP nel tumore primitivo è in grado di influenzare negativamente sia la sopravvivenza libera da malattia che la sopravvivenza globale<sup>5</sup>.

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";

Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.



In realtà i Recettori Ormonali sono più importanti come fattori predittivi della risposta all'ormonoterapia. Infatti da studi condotti su pazienti trattati con tamoxifene si può dedurre prevalentemente il significato del recettore per il progesterone quale indicatore di risposta al trattamento ormonale più che di indicatore di prognosi<sup>6</sup>.

L'Angiogenesi: la rapida velocità di crescita dei tumori maligni necessita, per potersi espletare, della contestuale formazione di una trama vascolare che assicuri un adeguato apporto di sostanze nutritive; la rete vascolare neoformata può in seguito diventare un importante fattore nell'instaurarsi della capacità metastatica.

L'attività proliferativa: è uno degli aspetti importanti nella biologia del tumore, sulla base del presupposto che il comportamento clinico di una neoplasia sia espressione della sua velocità di crescita. Il Mib-1 è un anticorpo monoclonale che si lega ad un antigene nucleare espresso dalle cellule proliferanti (G1-S-G2) e non dalle

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**

cellule quiescenti (G0). E' stato rilevato un rapporto diretto tra positività per il Mib-1 (>20%) e il grado istologico, più evidente nelle pazienti con linfonodi ascellari positivi (N+) e con tumori a elevato stadio di malattia (> 3cm di diametro)<sup>7</sup>.

Come il grado di anaplasia cellulare (G3) anche il Mib-1 sovraespresso rappresenta un indicatore di aggressività biologica del tumore che può influenzare negativamente sia la sopravvivenza libera da malattia sia la sopravvivenza globale.

L'oncogene C-erb B-2 (o HER-2/neu) è un indicatore di aggressività tumorale; la sua espressione ha un *valore prognostico* e un *valore predittivo* di risposta alla terapia ormonale e alla chemioterapia, essendo un indice di resistenza ad alcune terapie antitumorali convenzionali.

Gli oncogeni sono geni codificanti proteine che attivano la proliferazione cellulare e vengono normalmente espressi durante le

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";

Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.

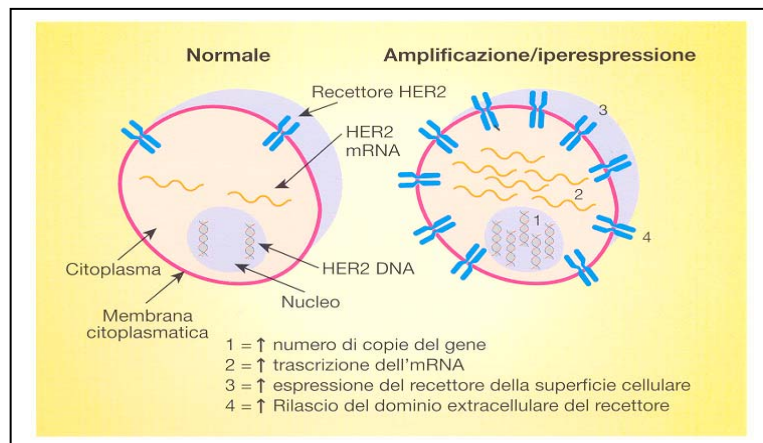
fasi di replicazione. L'alterazione di un oncogene è implicata nella trasformazione maligna delle cellule in quanto può compromettere i meccanismi di regolazione della proliferazione cellulare.

Il gene C-erb B-2 è localizzato sul cromosoma 17 e codifica per una glicoproteina di membrana di 185 kD, definita proteina o recettore HER2, con attività tirosinocinasica e stimolante la crescita, ricoprendo così un ruolo nella regolazione della crescita, della sopravvivenza e della differenziazione della cellula.

Le cellule epiteliali normali contengono 2 copie del gene HER2. Un'iperespressione di HER2 (2+,3+) è legata, usualmente, ad un'iniziale amplificazione genica. Quest'ultima comporta un aumento della trascrizione del gene che determina l'incremento dei livelli di mRNA e della sintesi e attivazione del recettore HER2, probabilmente, senza la necessità di legame con ligando specifico (vedi Figura 1).

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**



**Figura.1**

La conseguenza è una stimolazione continua con disregolazione della crescita cellulare che può portare allo sviluppo o alla progressione della neoplasia e ad una maggior percentuale di ricadute con una ridotta sopravvivenza libera da malattia e globale<sup>8</sup>.

Per la valutazione della proteina HER2 sono disponibili tre metodiche: l'Ibridazione *in situ* con fluorescenza (FISH) che individua il gene amplificato facendo ricorso ad oligonucleotidi antisenso che si legano alle copie del gene stesso, l'analisi di Immunoassorbimento enzimatico (ELISA) che determina il livello

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";

Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.

sierico dell'antigene, ma può anche rilevare l'antigene di superficie su frazioni cellulari da tessuto fresco, e il metodo Immunoistochimico (IHC), il più utilizzato, che rivela la proteina HER2 usando anticorpi specifici diretti contro il dominio intracellulare. Esistono dei metodi ( DAKO HercepTest kit ) che forniscono una classificazione arbitraria per valutare il grado di colorazione della membrana: **0**(normale, negativo), **1+**(negativo), **2+**(debolmente positivo), **3+**(fortemente positivo)<sup>9,10</sup>.

Nella mammella la proteina HER2 è presente in tutte le cellule epiteliali normali. La maggior parte dei tumori mammari esprimono la proteina HER2 a livelli normali, nel 25-30% dei casi invece si osserva un iperespressione dovuta in genere ad amplificazione genica.

Nelle pazienti classificate come N+ (presenza di interessamento linfonodale), è accettata l'esistenza di una significativa correlazione

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";

Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.

tra uno stato HER2+ e una prognosi cattiva; mentre nelle pazienti N- i risultati sono ancora contrastanti. Alcuni studi effettuati su pazienti con linfonodi ascellari negativi e fattori prognostici favorevoli ( diametro tumorale <3 cm, recettori estrogenici positivi ) hanno osservato che l'elevata espressione di C-erb B-2 era predittiva di ricaduta precoce (60% a 50 anni)<sup>11</sup>.

E' importante sottolineare che a fronte di studi che identificano nell'elevata espressione di C-erb B-2 un fattore predittivo di ricaduta precoce di malattia<sup>12</sup>, ve ne sono altri in cui tale predittività non viene confermata<sup>13</sup>.

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**

## **Ruolo del recettore ErbB nel carcinoma mammario.**

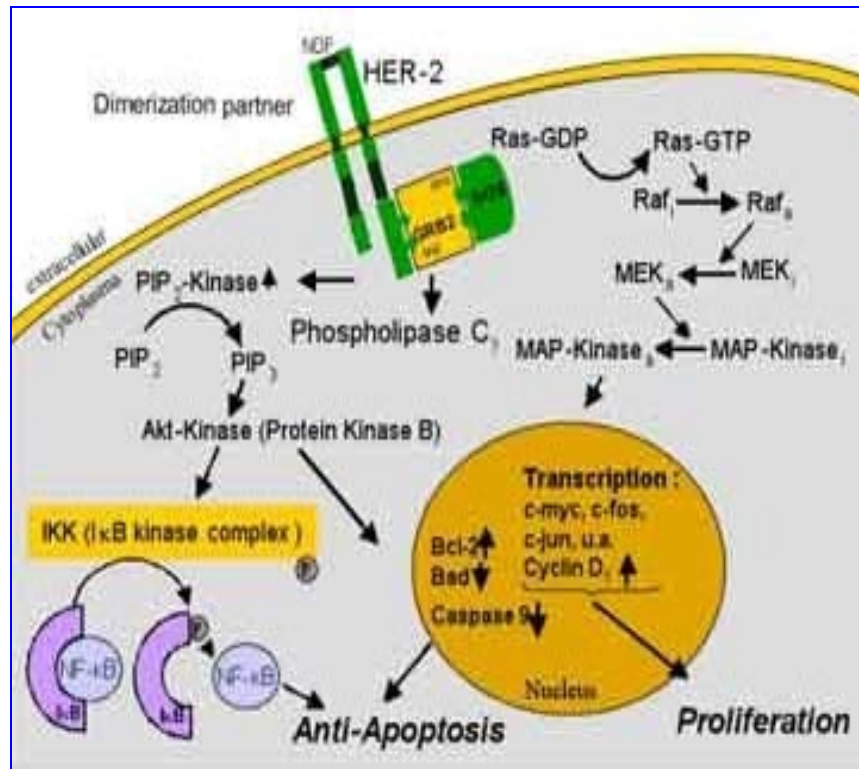
Il carcinoma della mammella è una malattia eterogenea sia in termini di risposta alla terapia sia di variazioni nella sua storia naturale. Tramite le microarray analysis sul DNA sono stati individuati 5 distinti sottotipi clinici, uno di questi iperesprime l'HER2 a causa dell'amplificazione dell'oncogene HER2/neu<sup>14</sup>.

Il gene HER2/neu è uno dei quattro membri che comprendono il recettore dell'Epidermal Growth Factor (EGF): HER1 (EGFR-1), HER2 (ErbB2 o neu), HER3 (ErbB3), HER4 (ErbB4). (vedi Figura 2)<sup>15,16</sup>. In seguito al legame con il ligando, i membri della famiglia ErbB formano degli omodimeri o degli eterodimeri con la conseguente fosforilazione dei domini intracellulari delle kinasi. Una volta che ErbB1 e ErbB2 sono attivati, i siti fosforilati dei domini Src omologhi servono come sito di ancoraggio per le proteine adattatrici come Shc, Grb2 e Sos con conseguente

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";

Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.

attivazione delle cascate Ras/raf/MAPK e PI3K protein kinasi e promozione della proliferazione e della mitogenesi<sup>17</sup>.



**Figura.2**

L'iperespressione di HER2, pertanto, è associata con un alto grado di differenziazione cellulare, aumento del tasso di proliferazione cellulare e coinvolgimento linfonodale ed una relativa resistenza a

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";

Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.



certi tipi di chemioterapia e ormonoterapia nel setting adiuvante.

Per questo motivo sono state studiate strategie terapeutiche in grado di inibire la famiglia ErbB, bloccando così la proliferazione cellulare e inducendo l'apoptosi.

La proteina recettoriale HER2, infatti, è diventata un valido obiettivo per la terapia in quanto fornisce un target extracellulare ad un nuovo e specifico trattamento antitumorale per pazienti HER2-positive. E' stata infatti messa a punto una strategia finalizzata alla riduzione dell'anormale funzionalità dei recettori HER2 iperespressi. Il risultato di questo approccio è un anticorpo monoclonale umanizzato (rhuMab HER2, Trastuzumab) anti-HER2 che rappresenta il primo trattamento anti-oncogene per le pazienti con neoplasia della mammella metastatica HER2 positiva<sup>18</sup>.

I dati della prima analisi ad interim di due studi americani il North Central Cancer Treatment Group Intergroup study N9831 e il

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**

National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project study B-31 in aggiunta ad un altro grande trial internazionale Herceptin Adjuvant (HERA) hanno dimostrato un beneficio di Trastuzumab quando somministrato sequenzialmente o in concomitanza alla chemioterapia adiuvante<sup>19,20</sup>. In più i risultati preliminari di due studi di adiuvante del Trastuzumab somministrato in concomitanza alla chemioterapia, The Breast Cancer International Research Group 006 e the FinHer Trial, hanno dimostrato un beneficio dall'aggiunta di Trastuzumab alla chemioterapia simile a quello osservato negli studi precedentemente menzionati.

Tuttavia nelle donne trattate per carcinoma mammario rimane un rischio di sviluppare una recidiva di malattia che è più alto nei primi tre anni dopo il trattamento adiuvante<sup>21</sup> e un rischio di ripresa esiste per 30 anni dopo la diagnosi iniziale<sup>22</sup>. La meta-analisi EBCTCG mostra che a 15 anni la probabilità di recidiva è del 53,4% nelle

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";

Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.

donne tra i 50 e i 69 anni che hanno ricevuto una polichemioterapia adiuvante.

Il Trastuzumab si è dimostrato essere in grado di indurre una riduzione del rischio di recidive, in associazione alla chemioterapia adiuvante, di circa il 46%. E' pertanto diventato il trattamento standard nelle pazienti operate per carcinoma mammario HER2/neu positive.

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**

### **Lapatinib: doppio inibitore tirosin kinasico.**

In studi preclinici è stato osservato come l'inibizione contemporanea delle tirosin kinasi associate all'EGFR e all'ErbB2 mediante l'associazione per esempio di gefitinib (inibitore dell'ErbB1) e di trastuzumab (inibitore dell'ErbB2), era in grado di ottenere un effetto apoptotico maggiore, rispetto alle due molecole usate singolarmente<sup>23</sup>.

Lapatinib è una molecola, somministrabile per via orale, in grado di inibire, in maniera reversibile, le tirosin kinasi associate a ErbB1 e ErbB2, bloccando così la traduzione del segnale e favorendo l'apoptosi cellulare<sup>24,25</sup>. Lapatinib esercita un effetto citostatico o citotossico a seconda dei tipi cellulari<sup>23,26</sup> e si è dimostrato in grado di inibire la proliferazione cellulare di linee cellulari di cancro del colon attivate dal TGF- $\alpha$ , ligando dell'EGFR, in maniera più spiccata di quanto non facciano gli antagonisti dell'EGFR o

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";

Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.

dell'ErbB2 usati singolarmente<sup>27</sup>.

Tale molecola ha un buon profilo di tossicità come è stato osservato nei roditori e nei cani, e non è dotata di cardiotoxicità anche in elevate concentrazioni plasmatiche e esposizioni al farmaco da 6 a 9 mesi. Lapatinib è metabolizzato a livello epatico prevalentemente tali enzimi CYP3A4 e CYP3A5 e in misura inferiore da CYP2C19. Per tale motivo è possibile osservare un'interazione farmacologica quando Lapatinib è somministrato in associazione a farmaci in grado di modulare tali enzimi.

Inoltre Lapatinib è in grado di attraversare la barriera ematoencefalica e di essere pertanto attivo nel trattamento delle metastasi cerebrali.

In studi di fase I condotti su pazienti affetti da tumore, Lapatinib è stato somministrato alla dose di 175 - 1800 mg una volta al dì o alla dose di 500- 900 mg due volte al dì: nei 92 pazienti trattati a questi

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**

dosaggi, la molecola si è dimostrata priva di significativa tossicità. Analoghi risultati in termini di tollerabilità sono stati recentemente riportati in uno studio di fase II, condotto su 63 pazienti affetti da carcinoma non a piccole cellule del polmone, in cui sono state confrontate due diverse schedule di Lapatinib, utilizzato alla dose di 1500 mg/die e 500 mg due volte al dì<sup>28</sup>. La dose massima tollerata è stata valutata dallo studio EGF10003 che ha inizialmente arruolato 39 pazienti affetti da neoplasia<sup>29</sup>, tutti trattati con Lapatinib alla dose di 175- 1800 mg una volta al dì; un ulteriore gruppo di pazienti veniva trattato alla dose di 900 mg due volte al dì, 1250 mg una volta al dì, 500 mg due volte al dì e 750 mg due volte al dì. Nei primi 43 pazienti trattati nello studio non è stata osservata nessuna tossicità di grado 4; la maggior parte della tossicità è stata di grado 1 o 2 con due casi di diarrea di grado 3 nel gruppo di pazienti trattati con 900 mg. Rash, diarrea, nausea e astenia sono stati gli eventi

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";

Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.

avversi più frequenti. Gli studi di farmacocinetica hanno dimostrato che alla dose di 1200 mg assunti una volta al dì la concentrazione serica di lapatinib era superiore alla concentrazione inibitoria il 90% osservabile in vitro e che nel range di dosi utilizzate fino ai 1800 mg la farmacocinetica era di tipo lineare.

Alla luce di queste premesse, sono state intraprese numerose esperienze cliniche volte a valutare l'attività di Lapatinib in altre neoplasie solide, in associazione ad altri farmaci. Jones, facendo seguito alle esperienze in vitro in cui è stato riportato un incremento dell'attività antitumorale dall'associazione Lapatinib/Taxani, ha condotto in 26 pazienti uno studio di fase I in cui dosi crescenti di Paclitaxel (135-225mg/mq) sono state somministrate a dosi crescenti (1250- 1500 mg/die) di Lapatinib. Il regime terapeutico ottimale è risultato l'associazione di Paclitaxel alla dose di 175

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";

Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.

mg/mq e Lapatinib alla dose di 1500 mg/die. Con tale combinazione, sono state osservate 3 risposte parziali e sette stazionarietà di malattia<sup>30</sup>.

Il trial EGF20009 condotto su 138 pazienti trastuzumab naive, usando lapatinib in prima linea, ha mostrato risposte del 24% con un tempo alla progressione di 16,1 mesi<sup>31</sup>. La tossicità cardiaca da lapatinib valutata come riduzione della FEVS, è risultata modesta con un'incidenza del 1,3% su 2812 pazienti e generalmente reversibile e asintomatica<sup>32</sup>.

Abbastanza interessanti sono stati i risultati nel carcinoma infiammatorio HER-2 positivo presentati all'ASCO 2006 dove il 72% dei pazienti mostravano una risposta clinica al lapatinib in monoterapia.

Alla luce di questi risultati, diverse esperienze cliniche sono state

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**



intraprese volte a valutare l'attività di Lapatinib in associazione ad altri farmaci.

La combinazione di Lapatinib con la chemioterapia citotossica è stata valutata in uno studio randomizzato di fase III (EGF100151) i cui risultati sono stati davvero interessanti. Le pazienti affette da carcinoma mammario HER-2 positivo e pretrattate con antracicline, taxani e trastuzumab, venivano randomizzate a ricevere capecitabina da sola (2500 mg/die per 14 giorni) oppure capecitabina (2000 mg/die per 14 giorni) in associazione a lapatinib (1250 mg/die) . Il trial prevedeva l'arruolamento di 528 pazienti.

Una analisi preliminare condotta sulle prime 324 pazienti trattate mostrava il 22% di risposte per la combinazione, rispetto al 14% con capecitabina da sola ( $p= 0.09$ ). Ma ciò che appariva davvero significativo era il vantaggio del tempo alla progressione nel braccio di combinazione (8,4 mesi) rispetto al braccio con sola capecitabina

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";

Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.

(4,4 mesi) ( $p < 0.001$ ) (hazard ratio 0.47)<sup>33</sup>. Inoltre nel gruppo trattato con lapatinib risultava inferiore l'incidenza di recidive a livello del sistema nervoso centrale. L'associazione di lapatinib alla capecitabina non determinava un incremento significativo della tossicità, compresa la tossicità cardiaca. Sulla base del chiaro vantaggio della combinazione veniva raccomandato di terminare l'arruolamento delle pazienti nello studio<sup>34</sup>.

Sono attualmente in corso alcuni studi di fase III che confrontano il Paclitaxel in associazione al Lapatinib o placebo come prima linea chemioterapica nel carcinoma mammario metastatico HER-2 positivo.

E' in corso anche uno studio (EGF102580) che valuta il Lapatinib in associazione al Paclitaxel nella chemioterapia adiuvante del carcinoma mammario avanzato il cui obiettivo è il raggiungimento

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**

della risposta patologica completa. I risultati preliminari mostrano un il 77% di risposte cliniche (23/30) con il 17% (3/18) di risposte patologiche complete nel carcinoma infiammatorio HER-2 neu positivo<sup>35</sup>.

Dal punto di vista clinico sembra molto importante il possibile ruolo del lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo. Tale ruolo è in corso di valutazione in grossi trials di fase III (TEATCH, ALLTO).

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**

## **Razionale e Scopo dello studio.**

Il Trastuzumab è diventato parte integrante della terapia standard nel setting adiuvante. Tuttavia molte delle donne con carcinoma mammario HER-2 positivo avevano ricevuto una chemioterapia adiuvante senza l'aggiunta di Trastuzumab poiché al tempo della diagnosi e del trattamento non vi era ancora indicazione. Attualmente non ci sono dati sull'utilizzo di trastuzumab come trattamento di mantenimento per queste donne. Tuttavia l'iperespressione di HER-2 è un fattore prognostico sfavorevole. Come evidenziato in diversi trials le donne non trattate con trastuzumab avevano un più alto rischio di recidiva di malattia. Perciò è necessario un trattamento per le donne che hanno ricevuto solo una chemioterapia adiuvante senza trastuzumab.

Lapatinib appare essere il farmaco ideale, come singolo agente,

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";

Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.

nelle donne con carcinoma della mammella, iperespressione di HER-2, che hanno praticato una chemioterapia adiuvante e attualmente sono libere da recidiva locale e/o a distanza: primo perché in studi preclinici ha dimostrato di essere in grado di inibire la crescita tumorale nelle linee cellulari iperesprimenti HER2, secondo, in studi clinici sul carcinoma mammario avanzato si è dimostrato attivo e ben tollerato per la scarsità di effetti collaterali.

Pertanto il nostro studio è volto a valutare l'efficacia di Lapatinib, in termini di incremento della sopravvivenza libera da malattia, e la tollerabilità, in termini di qualità e quantità di effetti collaterali confrontato con placebo, in donne affette da carcinoma mammario con HER-2 iperespresso e libere da malattia.

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**

## ***Materiali e Metodi***

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**

Il campione esaminato, giunto alla nostra osservazione nell'anno 2006-2007, è costituito da 12 donne affette da carcinoma della mammella. Dall'anamnesi clinica risulta che le pazienti sono state operate per un carcinoma mammario tipo duttale infiltrante, 3 sono state sottoposte a mastectomia e 9 a quadrantectomia e successiva radioterapia complementare. Tutte hanno praticato un trattamento chemioterapico a base di antracicline e/o taxani e in 8 hanno poi proseguito per 5 anni con ormonoterapia a scopo precauzionale (tamoxifene se in premenopausa e inibitore dell'aromatasi se in postmenopausa) poiché mostravano una positività per i recettori estro-progestinici. Tutte e 12 le pazienti avevano naturalmente l'HER2 iperespresso e alle ulteriori indagini immunoistochimiche solo due iperesprimevano l'EGFR1. Tutte le pazienti sono state trattate circa 7-10 anni fa e ad oggi, agli esami strumentali ed ematici (CEA e CA 15-3), non presentavano recidiva di malattia in

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";

Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.

atto.

Il nostro studio ha avuto inizio nel 2006, quando abbiamo ottenuto il consenso da un certo numero di pazienti a partecipare allo studio.

La maggior parte delle nostre pazienti che si consideravano guarite non se la sono sentita di dover riprendere una terapia dopo quasi 10 anni dall'intervento e senza avere la certezza di quale farmaco stessero assumendo (lapatinib o placebo).

I criteri di inclusione erano una diagnosi di carcinoma mammario infiltrante operato, con interessamento o meno dei linfonodi ma con un rischio medio (T 1-2 cm con ER e PgR positivi) o alto (T > 2 cm se ER e PgR positivi oppure un T > 1 cm se ER e PgR negativi) di recidiva di malattia, trattate con chemioterapia adiuvante (secondo schemi contenenti antracicline e/o taxani) e che non avevano successivamente ricevuto il Trastuzumab. Pertanto sono state

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**



randomizzate 12 pazienti a ricevere, in doppio cieco, lapatinib alla dose di 1500 mg per os o placebo, continuativamente per un periodo di 12 mesi o fino a progressione di malattia.

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**

**Tabella 1.**

Caratteristiche clinico-patologiche delle pazienti esaminate.

<b>N° PZ</b>	12
<b>Età</b>	50-70 aa
<b>Stadio</b> T2N0M0 T2N1M0 T2N2M0	n° 4 n° 5 n° 3
<b>Grado</b> G2 G3	n° 5 n° 7
<b>ER e PgR</b> Pos Neg	n° 8 n° 4
<b>HER2 iperespresso</b> (IHC o FISH)	n° 12
<b>HER1(EGFR1)</b> (IHC)	n° 2
<b>Chirurgia</b>	3 mastectomia 9 quadrantectomia
<b>Radioterapia complementare</b>	n° 12
<b>CT</b> (Antracicline e/o Taxani)	n° 12
<b>OT</b> ( Tamoxifene – Inibitore Aromatasi)	n° 8

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";

Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.

Tra gli obiettivi dello studio vi è inoltre la ricerca traslazione volta a correlare l'espressione dei biomarcatori (in particolare ErbB1-ErbB2 ma anche ErbB3, ErbB4, AKT e MAPK ) derivati dal tumore, al momento della diagnosi, con i biomarcatori ottenuti dal tessuto tumorale nella sede della recidiva. Tale analisi verrà praticata retrospettivamente e servirà a identificare i potenziali candidati predittivi di risposta alla terapia con lapatinib.

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**

## ***Risultati***

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**

Nel nostro studio, su 12 pazienti osservate solo 7 hanno completato la terapia di un anno, 5 sono uscite dallo studio, 2 non hanno firmato il consenso e 3 per tossicità ( un caso rash cutaneo tipo acneiforme dolente al volto e torace di G3 con eritrodisestesia al volto e arti superiori, negli altri 2 casi si è sviluppata diarrea G2).

Delle 7 pazienti che hanno completato la cura: 1 ha ridotto la dose al 75% per rash cutaneo G2, tipo acneiforme al volto, 3 hanno manifestato un rash al volto di G1 e nelle rimanenti 3 pazienti non è stata registrata alcuna tossicità.

Non si è manifestata alcuna tossicità ematologica.

Dopo 2 anni di follow-up clinico-strumentale 6 (85,7%) pazienti ad oggi sono libere da malattia, 1 ha manifestato, nel febbraio 2009, una ripresa encefalica di malattia (trattata con radioterapia panencefalica), è deceduta 3 mesi dopo.

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**

**Tabella.2** Tossicità non ematologica.

	<b>G1</b>	<b>G2</b>	<b>G3</b>	<b>G4</b>
<b>Rash cutaneo</b>	3	1	1	-
<b>Diarrea</b>	-	2	-	-
<b>Nausea</b>	-	-	-	-
<b>Vomito</b>	-	-	-	-
<b>Astenia</b>	-	2	-	-

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";

Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.

## *Commento e Conclusioni*

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**

Il nostro studio fa parte di un grande trial multicentrico, internazionale di fase III, dovranno essere arruolate approssimativamente 3000 donne 1500 a ricevere lapatinib e 1500 placebo.

La prima analisi ad interim verrà effettuata dopo che 309 pazienti avranno sviluppato una ripresa di malattia, un secondo tumore o morte e testerà la superiorità, incremento del tempo di sopravvivenza libera da malattia (DFS), del lapatinib rispetto al placebo.

I risultati da noi presentati sono pertanto preliminari, non essendo possibile, infatti, al momento conoscere quali pazienti siano state trattate lapatinib e quali con placebo. Le tossicità manifestatesi però sono verosimilmente attribuibili alla terapia con Lapatinib e, in ogni caso, sono risultate gestibili a domicilio.

I dati di cui ad oggi siamo in possesso da studi preclinici e clinici

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**



ci consentono di trarre alcune conclusioni:

- il lapatinib è un farmaco attivo nel controllo della crescita tumorale e nel modificare la sopravvivenza di pazienti affetti
- risulta attivo in pazienti pretrattate a fronte di un profilo di tossicità modesto;
- le risposte ottenute in pazienti pretrattate con Trastuzumab implicano la mancanza di cross-resistenza con Lapatinib;
- l'identificazione della cascata di eventi che regolano la sopravvivenza di alcuni tumori e la valutazione del ruolo effettivo di queste vie nel controllo della proliferazione cellulare potrebbero infine rendere possibili decisioni terapeutiche basate sulla biologia del tumore più che sull'istologia di per sé.

Una terapia target seguirà il passo del trastuzumab nel trattamento del carcinoma mammario, le aspettative per il successo di questo

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**

farmaco sono alte oltre che nella malattia avanzata anche nel setting adiuvante e neoadiuvante.

Il Lapatinib ha generato entusiasmo per lo sviluppo di strategie terapeutiche future dimostrandosi una valida opzione terapeutica per il carcinoma mammario.

**Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";**

**Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.**

## ***Bibliografia.***

1. Capocaccia Verdecchia et al.: *Breast cancer incidence and prevalence estimated from survival and mortality*. Cancer Causes Control 1: 23-24, 1990.
2. G. Bonadonna e G. Robustelli della Cuna. *Medicina Oncologica*. Edizione Masson –37, 36-37.
3. Harrison. *Principi di Medicina Interna*. Edizione McGraw-Hill – 81,573.
4. G. Bonadonna e G. Robustelli della Cuna. *Medicina Oncologica*. Edizione Masson-37, 726-733.
5. Valagussa P., Bignami P., Buzzoni R. et al.: *Are estrogen receptors alone a reliable prognostic factor in node negative breast cancer?* In: Jonrs S.E., Salomon S.E. (Eds): *Adjuvant therapy of cancer IV* Grune and Stratton Orlando FL: 407-415, 1984.
6. Lopez M. *Oncologia Medica pratica*. Società Editrice Universo-Roma, -22, 538, 2000.
7. Lopez F.,Belloc F., Lacombe F. et al.: *The labeling at proliferating cells by KI-67 and Mib-1 antibodies depends on the binding of a nuclear protein to the DNA*. Exp. Cell. Res. 210: 145-153, 1994.
8. Hynes NE. *Amplification and overexpression of the erb B-2 gene in human tumors: its involvement in tumor development, significance as a prognostic factor, and potential as a target for cancer therapy*. Semin Cancer Biol 1993; 4: 19-26.

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";

Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.

9. Ratcliffe N., Wells W., Wheeler K. et al.: *The combination of in situ hybridization and immunohistochemical analysis: an evaluation of HER2/neu expression in paraffinembedded breast carcinomas and adjacent normal-appearing breast epithelium.* Mod Pathol 1997; 10: 1247-1252.
10. Pauletti G., Godolphin W., Press MF., Slamon DJ. *Detection and quantitation of HER2/neu gene amplification in human breast cancer archival material using fluorescence in situ hybridisation.* Oncogene 1996; 13: 63-72.
11. Allred D.C., Clark G.M., Tandon A: K. et al.: *HER2/neu in node-negative breast cancer: Prognostic significance of overexpression influenced by the presence of in situ carcinoma.* J. Clin. Oncol. 10: 599-605, 1992.
12. Sesitadri R., Firgaira F.A., Horsfall D.J. et al.: *Clinical significance of HER2/neu oncogene amplification in primary breast cancer.* J. Clin. Oncol. 11: 1936-1942, 1993.
13. Bianchi S., Paglierani M., Zampi G. et al.: *Prognostic significance of C-erb B-2 expression in node negative breast cancer.* Br. J. Cancer 67: 625-629, 1993.
14. Ramaswamy, 2002
15. Sorlie, 2001
16. Burstein, 2005
17. Jorissen RN, Walzer F, Poulit N et al. *Epidermal Growth factor receptor: mechanism of activation and signaling.* Exp Cell Res 2003; 284: 31-53

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";

Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.

18. Drebin JA., Link VC., Greene MI.: *Monoclonal antibodies specific for the neu oncogene product directly mediate anti-tumor effects in vivo*. *Oncogene* 1988; 2: 387-394.
19. Romond, 2005
20. Piccart- Gebhart, 2005
21. Jato, 2005
22. Rosen, 1989
23. Moulder SL, Yakes FM, Muthuswamy SK et al. *Epidermal growth factor receptor (HER1) tyrosine kinase inhibitor ZD1839 (Iressa) inhibits HER2/neu (erbB2)- overexpressing breast cancer cell in vitro and in vivo*. *Cancer Res* 2001; 61:8887-8895.
24. Xia W, Mullin RJ, Keith BR et al. *Antitumor activity of GW572016: A dual tyrosine kinase inhibitor blocks EGF activation of EGFR/erbB2 and downstream Erk 1/2 and Akt pathways*. *Oncogene* 2002;21:6255-6263
25. Rusnak DW, Lackey K, Affleck K et al. *The effect of the novel, reversible epidermal growth factor receptor/ErbB2 tyrosine kinase inhibitor, GW572016, on the growth of human normal and tumor-derived cell lines in vitro and in vivo*. *Mol Cancer Ther* 2001;1: 85-94
26. Edgar R. Wood, Anne T. Truesdale, Octerloney B. McDonald, et al *A Unique Structure for Epidermal Growth Factor Receptor Bound to GW572016 (Lapatinib)* *Cancer Res* 2004;64:6652-6659.
27. Zhou Y, Brattain A. *Novel Strategy of colon cancer therapy: targeting both EGFR and ErbB2 receptors*. *Proc Am Assoc Cancer Res* 2003;1267. Abs 5529

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";

Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.

28. Ross HJ, Blumenschein GR, Dowlati A et al. *Preliminary safety results of a phase II trial comparing two schedules of Lapatinib (GW572016) as first line therapy for advanced or metastatic non-small cell lung cancer*. Proc Am Soc Clin Oncol 2005;23: Abs 7099.
29. Burris III HA. *A phase I study of GW572016 in patients with solid tumors*. Proc Am Soc Clin Oncol. 2003; 22. Abs 258.
30. Jones SF, Hainsworth JD, Spigel DR et al. *A phase I study of the dual kinase inhibitor GW572016 in combination with paclitaxel (EGF10009)*. Proc Am Soc Clin Oncol 2004;22: Abs 2083.
31. Gomez HL, Chavez MA, Doval DC et al. *Results from a phase II randomized study of lapatinib as first-line treatment for patients with ErbB2-amplified advanced or metastatic breast cancer*. Breast Cancer Res and Treat 2006;100:S68.
32. Perez EA, Byrne JA, Hammond IW et al. *Results of an analysis of cardiac function in 2,812 patients treated with lapatinib*. Proc Am Soc Clin Oncol 2006;24: 18S.
33. Geyer CE et al. *N Engl J Med* 2006; 355:2733-2743.
34. Geyer CE, Forsyer J, Lindquist D et al. *Lapatinib plus capecitabine for HER<sup>2</sup>-positive advanced breast cancer*. N Engl J Med 2006; 355: 2733-2743
35. Cristofanilli M, Boussem H, Baselga J et al. *A phase II combination study of lapatinib and paclitaxel as neoadjuvant therapy in patients with newly diagnosed inflammatory breast cancer (IBC)*. Breast Cancer and treat 2006;100:S5.

Silvia Mura; "Ruolo del Lapatinib nel trattamento adiuvante del carcinoma mammario HER-2 positivo";

Tesi di Dottorato in Epidemiologia molecolare dei Tumori, Università degli Studi di Sassari.

