



Corso di laurea: Scienze biologiche

“Dacomitinib: inibitore irreversibile necessario per sopprimere il carcinoma al seno  $\Delta$ 16HER2-positivo resistente alle terapie standard anti-HER2”

“Dacomitinib: irreversible inhibitor necessary to suppress  $\Delta$ 16HER2-positive breast carcinoma resistant to standard anti-HER2-therapies”

Tesi di laurea di:  
Chiara Ricciardi

Docente referente:  
Prof.ssa Biscotti Maria Assunta

Sessione autunnale Ottobre 2020

# Indice



- 1. Introduzione: tumore al seno  $\Delta$ 16HER2 positivo**
- 2. Modelli sperimentali e metodi**
- 3. Saracatinib: inibitore delle chinasi Src**
- 4. Trastuzumab e Lapatinib: terapie anti-HER2**
- 5. Dacomitinib: inibitore pan-HER irreversibile**
- 6. Conclusione**

# 1. Introduzione: tumore al seno $\Delta 16\text{HER2}$ positivo



Il tumore al seno HER2+ è un tipo di carcinoma duttale invasivo. Il suo profilo molecolare è dato da un'aumentata espressione del gene HER2 amplificato e dei geni correlati alla proliferazione cellulare.

La presenza nel 50% di questi tumori di un isoforma data da splicing alternativo,  $\Delta 16\text{HER2}$ , conferisce ai tumori al seno HER2+ una maggiore probabilità di metastatizzare e resistenza *de novo* a terapie standard come *Trastuzumab* e anti-HER2 come *Lapatinib*.

Il tumore al seno  $\Delta 16\text{HER2}$ + è uno dei sottotipi del tumore al seno con prognosi più sfavorevole.

# 1. Introduzione: tumore al seno $\Delta 16$ HER2 positivo

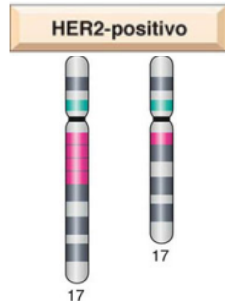


Figura 23.21- ROBBINS - KUMAR & KLATT - Cofan - Vinay Kumar

Il gene del proto-oncogene HER2 è situato nel cromosoma 17q. La sua amplificazione porta all'insorgenza del tumore al seno HER2+

HER2 è un recettore transmembrana tirosin chinasi della famiglia dei recettori per le EGF costituito da tre domini:

- extracellulare
- transmembrana
- intracellulare

HER2 ha la funzione di attivare la segnalazione intracellulare che regola l'attività proliferativa della cellula. In risposta a segnali extracellulari la proteina dimerizza e il dominio intracellulare si autofosforila attivando le vie di trasduzione del segnale a valle.

L'isoforma  $\Delta 16$ HER2 è priva dell'esone 16 che promuove l'omodimerizzazione costitutiva di  $\Delta 16$ HER2. Questa interagisce con la chinasi Src, mediatore della via di segnalazione oncogena formando l'asse  $\Delta 16$ HER2/Src

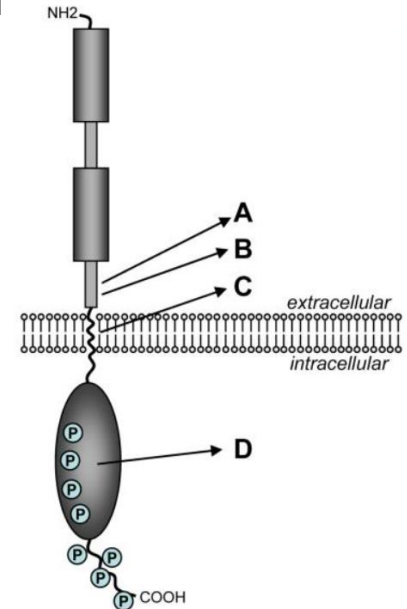


Figure 1 - The oncogene HER2; Its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis - Mark M. Moasser

## 2. Modelli sperimentali e metodi

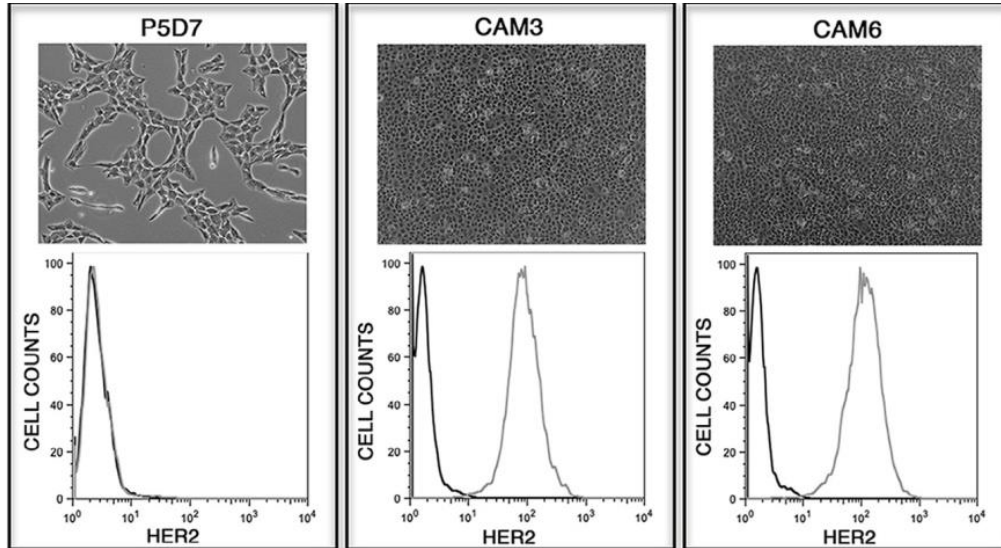


fig.1B - Irreversible inhibition of  $\Delta 16\text{HER2}$  is necessary to suppress  $\Delta 16\text{HER2}$ -positive breast carcinomas resistant to Lapatinib

Come modello sperimentale *in vivo* sono stati usati topi transgenici  $\Delta 16\text{HER2}$ .

Come modello sperimentale *in vitro* è stata selezionata la linea cellulare CAM6 originata da tumori insorti spontaneamente dai topi femmina  $\Delta 16\text{HER2}$ .

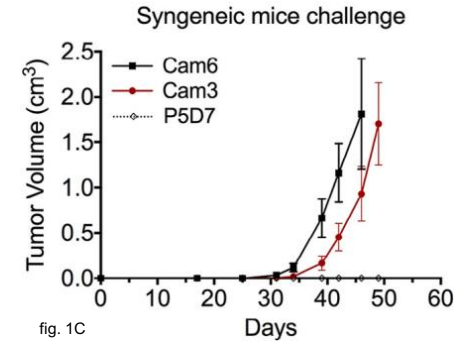


fig. 1C

Tecniche di laboratorio applicate:

- Immunofluorescenza
- Citometria a flusso
- Western Blot
- Tecniche Istologiche e Immunoistologiche
- Saggio di vitalità MTT
- Individuazione di apoptosi con Anexina V

# 3. Saracatinib: Inibitore delle chinasi Src

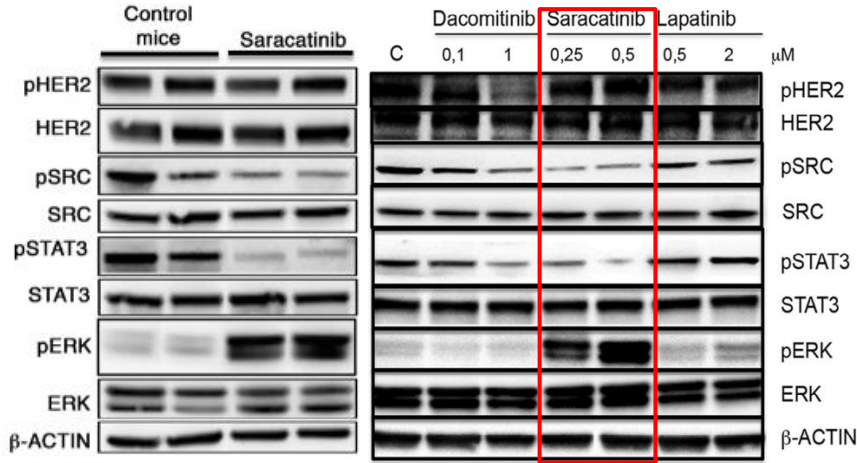
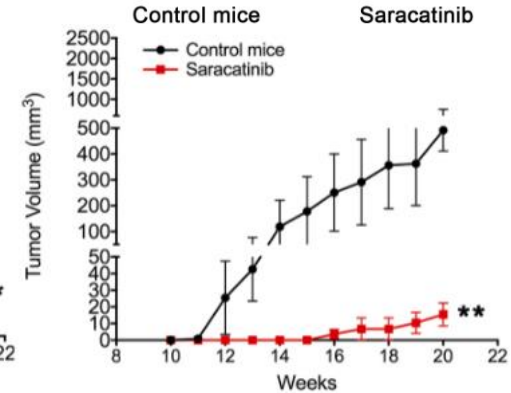
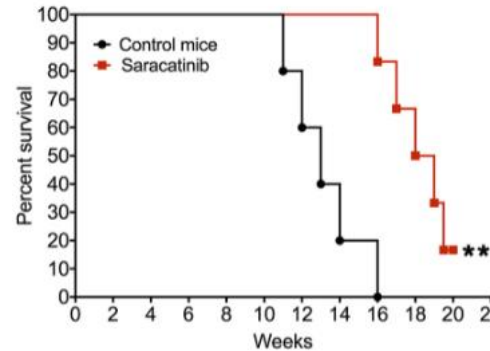
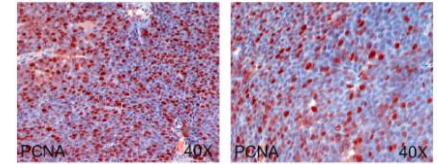
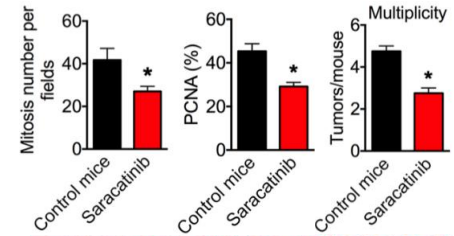


fig.5S e 2 - Irreversible inhibition of Δ16HER2 is necessary to suppress Δ16HER2-positive breast carcinomas resistant to Lapatinib

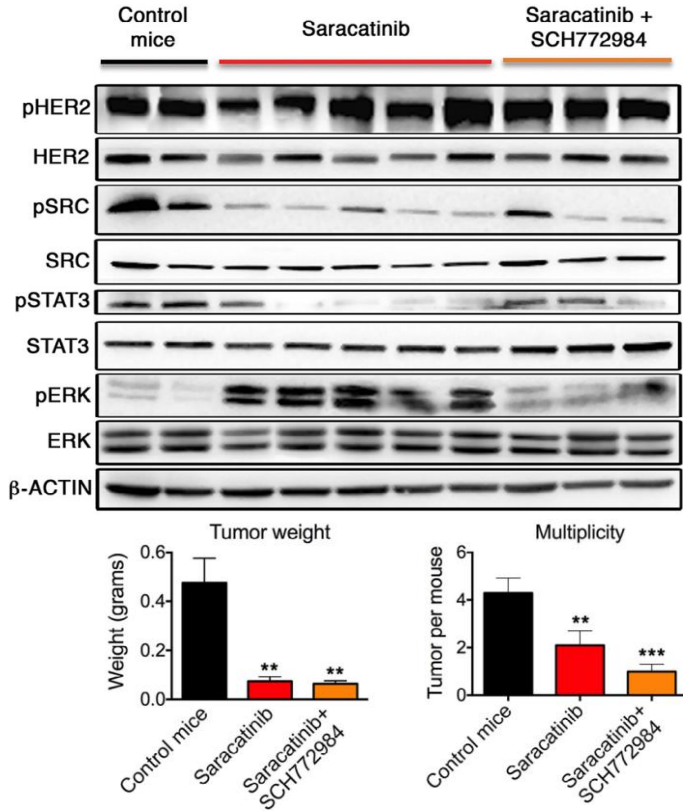
Soltanto il 20% dei topi alle 20 settimane di età è rimasto privo di tumori.

È stato individuato nella sovraespressione di Erk un possibile meccanismo compensativo che oppone resistenza all'azione antitumorale di Saracatinib

L'attività antitumorale di Saracatinib *in vitro* nelle cellule CAM6 e *in vivo* è stata associata a una forte inibizione della chinasi Src attivata e a una sottoregolazione di pSTAT3, mantenendo inalterata l'autofosforilazione di Δ16HER2.



# 3. Saracatinib: Inibitore delle chinasi Src



La upregulation di Erk causata da Saracatinib è il risultato di un modello dinamico di crosstalk tra due vie di segnalazione p38 e MEK/Erk.

La sperimentazione di una terapia combinata di Saracatinib con SCH772984 ha permesso di contrastare la resistenza acquisita, ma non è comunque in grado di affrontare completamente la carcinogenesi mammaria.

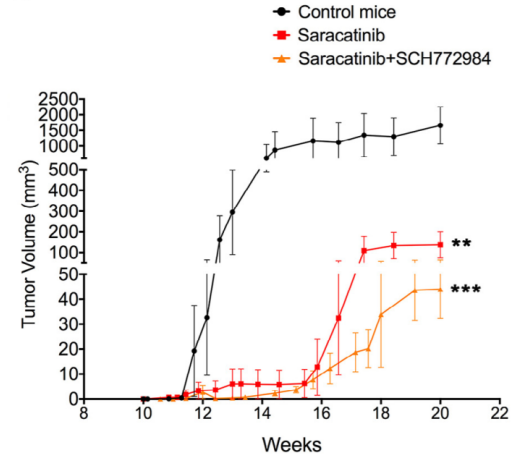
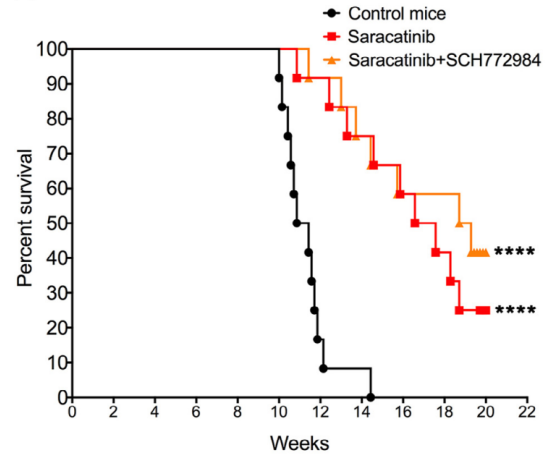


fig.3 - Irreversible inhibition of  $\Delta$ 16HER2 is necessary to suppress  $\Delta$ 16HER2-positive breast carcinomas resistant to Lapatinib

# 4. Trastuzumab e Lapatinib: terapie anti-HER2

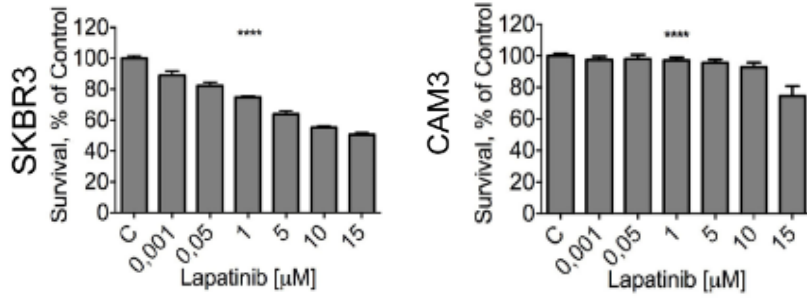


fig.S3

Trastuzumab è un anticorpo monoclonale diretto contro il dominio extracellulare di HER2. Il tumore al seno Δ16HER2 e buona parte dei tumori HER+ avanzati sono resistenti a questo farmaco anti-HER2.

Lapatinib è una molecola appartenente ai 4-anilochinazoline, classe degli inibitori delle chinasi che colpiscono i domini intracellulari delle tirosin chinasi di sia HER1 e HER2

L'efficacia di Lapatinib è inversamente proporzionale alla presenza dell'isoforma Δ16HER2.

L'azione di Lapatinib è limitata a diminuire la presenza di pHER2, mantenendo inalterate le altre proteine oncogene. La resistenza a Lapatinib è data anche dalla conformazione costitutivamente attiva di Δ16HER2.

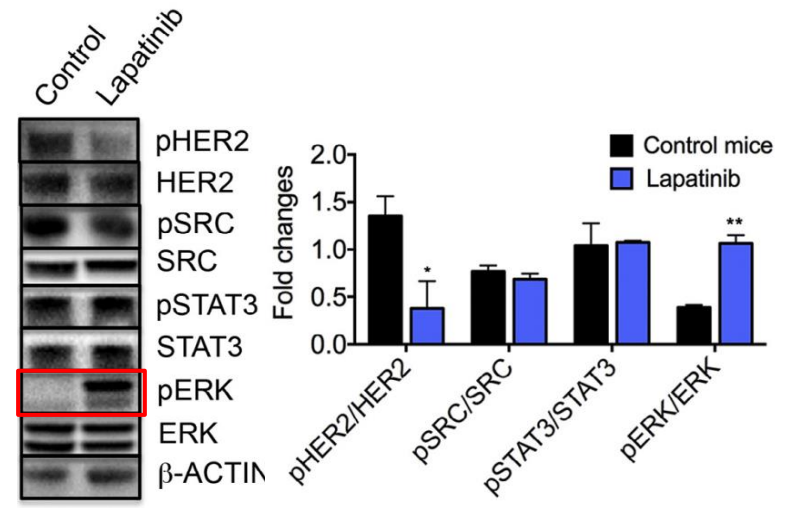


fig.4D - Irreversible inhibition of Δ16HER2 is necessary to suppress Δ16HER2-positive breast carcinomas resistant to Lapatinib



# 5. Dacomitinib: inibitore pan-HER irreversibile

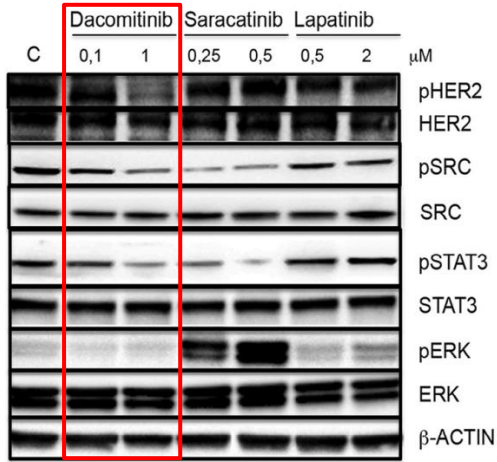


fig.2E - Irreversible inhibition of Δ16HER2 is necessary to suppress Δ16HER2-positive breast carcinomas resistant to Lapatinib

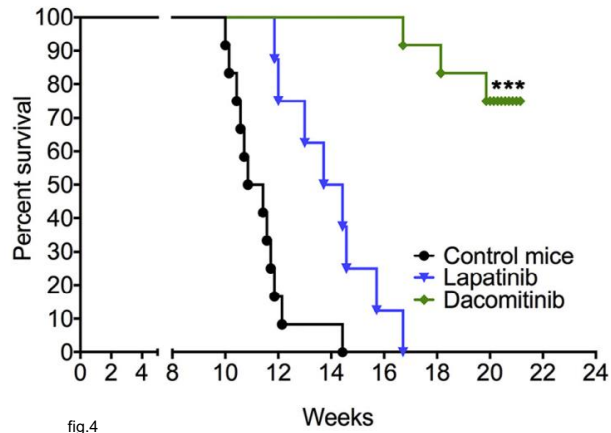
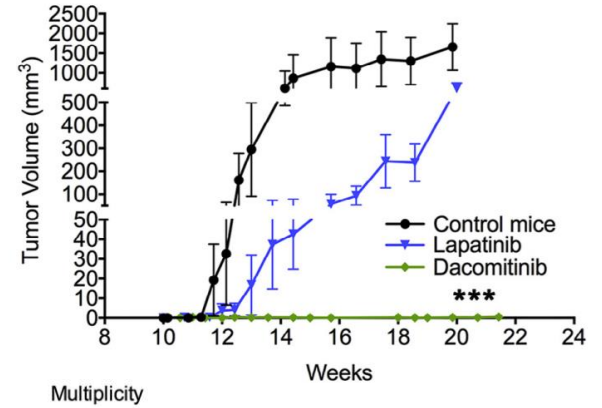


fig.4



Multiplicity

Dacomitinib legandosi covalentemente al sito attivo della tirosin chinasi ha mostrato la sua efficacia nel bloccare la tumorigenesi, in quanto il 75% dei topi trattati *in vivo* non hanno sviluppato masse

Un ulteriore possibile motivazione della sua efficacia è data dalla capacità di Dacomitinib di bloccare completamente la fosforilazione di HER3, impedendo l'elevata attività chinasi dell'eterodimero HER2/HER3.

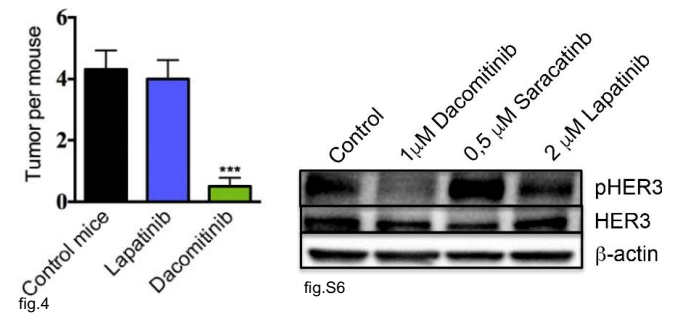


fig.4

fig.S6

## 6. Conclusione

In conclusione, possiamo confermare dai risultati finora raccolti come la forma isomerica  $\Delta 16\text{HER2}$  nei tumori al seno HER2+ sia sensibile all'azione irreversibile dell'inibitore pan-HER Dacomitinib, offrendoci una motivazione per il trattamento dei pazienti con tumore al seno HER2+ con inibitori irreversibili di HER2.

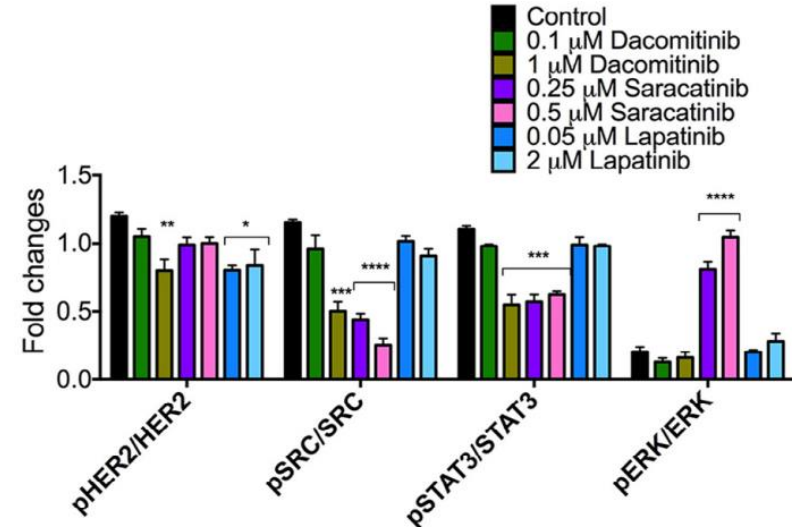


fig.2E - Irreversible inhibition of  $\Delta 16\text{HER2}$  is necessary to suppress  $\Delta 16\text{HER2}$ -positive breast carcinomas resistant to Lapatinib

Inoltre visto i risultati di numerosi sperimentazioni cliniche sui tumori alla cui base c'è una deregolazione dei recettori HER, sembra che l'utilizzo di inibitori pan-HER colpendo le vie di segnalazione HER in diversi punti offra una maggiore inibizione della crescita dei tumori rispetto alle terapie antagoniste a un singolo specifico recettore.