



TOLEDO

Toxicidad hematológica: Factores hematopoyéticos Nuevas moléculas

Bartomeu Massutí

Oncología Médica – Hospital Universitario Alicante

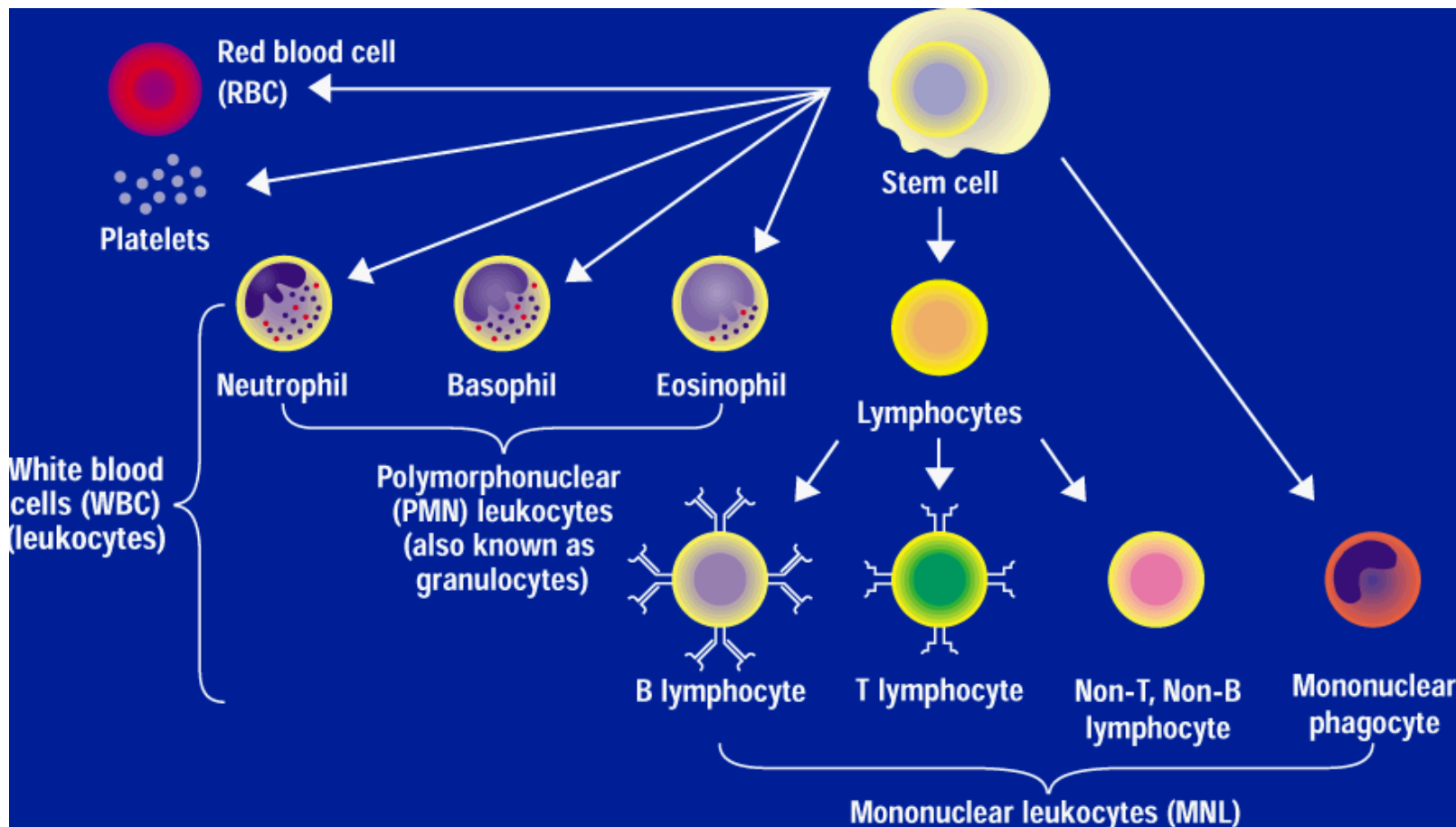
bmassutis@seom.org

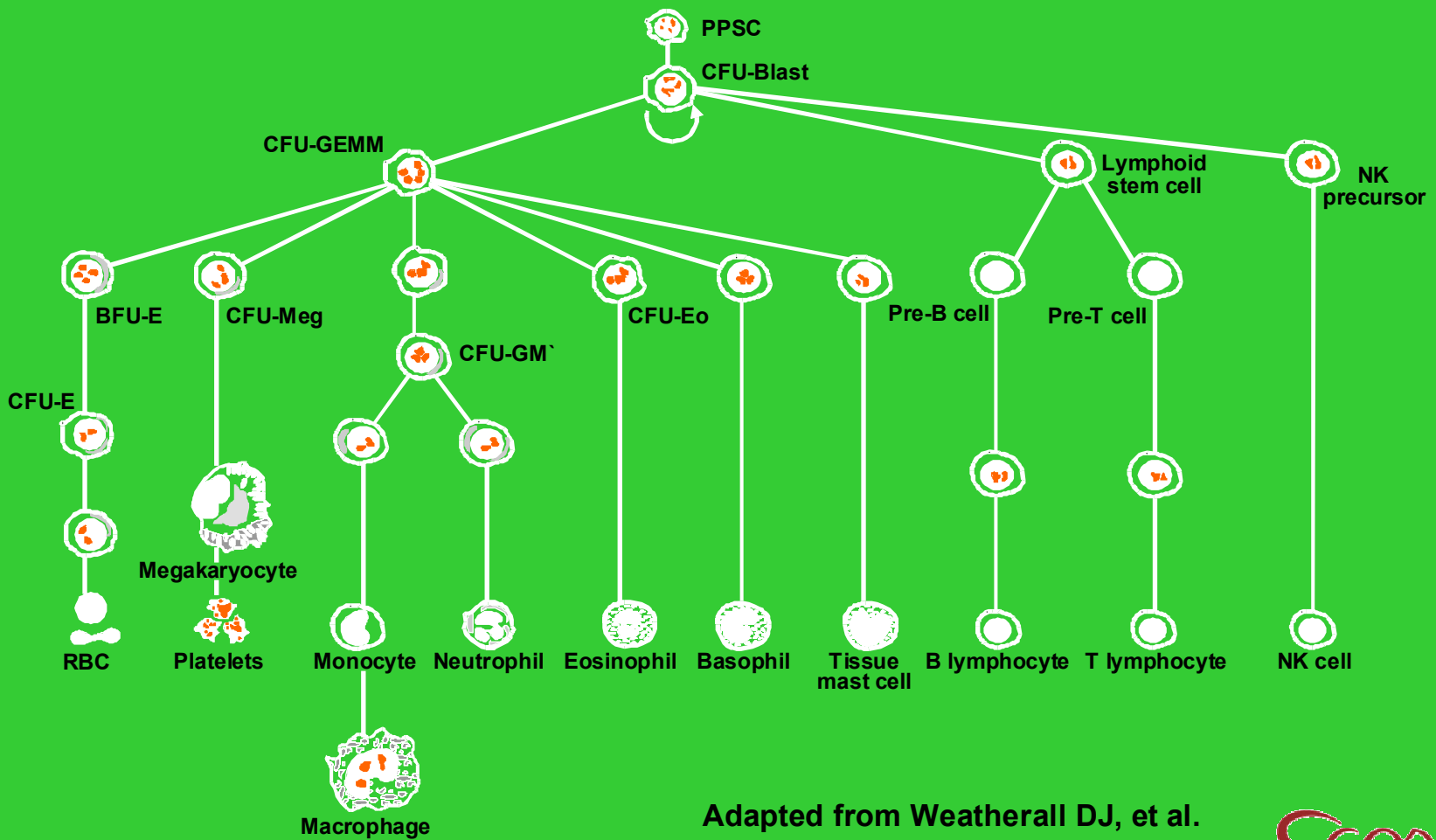




Factores de crecimiento hematopoyeticos

- ❑ Son un conjunto de citoquinas que regulan la proliferación, diferenciación y viabilidad de los progenitores hematopoyéticos y su relación con los elementos maduros sanguíneos
- ❑ Más de 20 sustancias identificadas
- ❑ Todos los elementos sanguíneos derivan de las células pluripotenciales stem-cell ubicadas fundamentalmente en el compartimento medular
- ❑ Relación dinámica en cascada: células pluripotenciales ---> cels. Progenitoras ---> células hemáticas

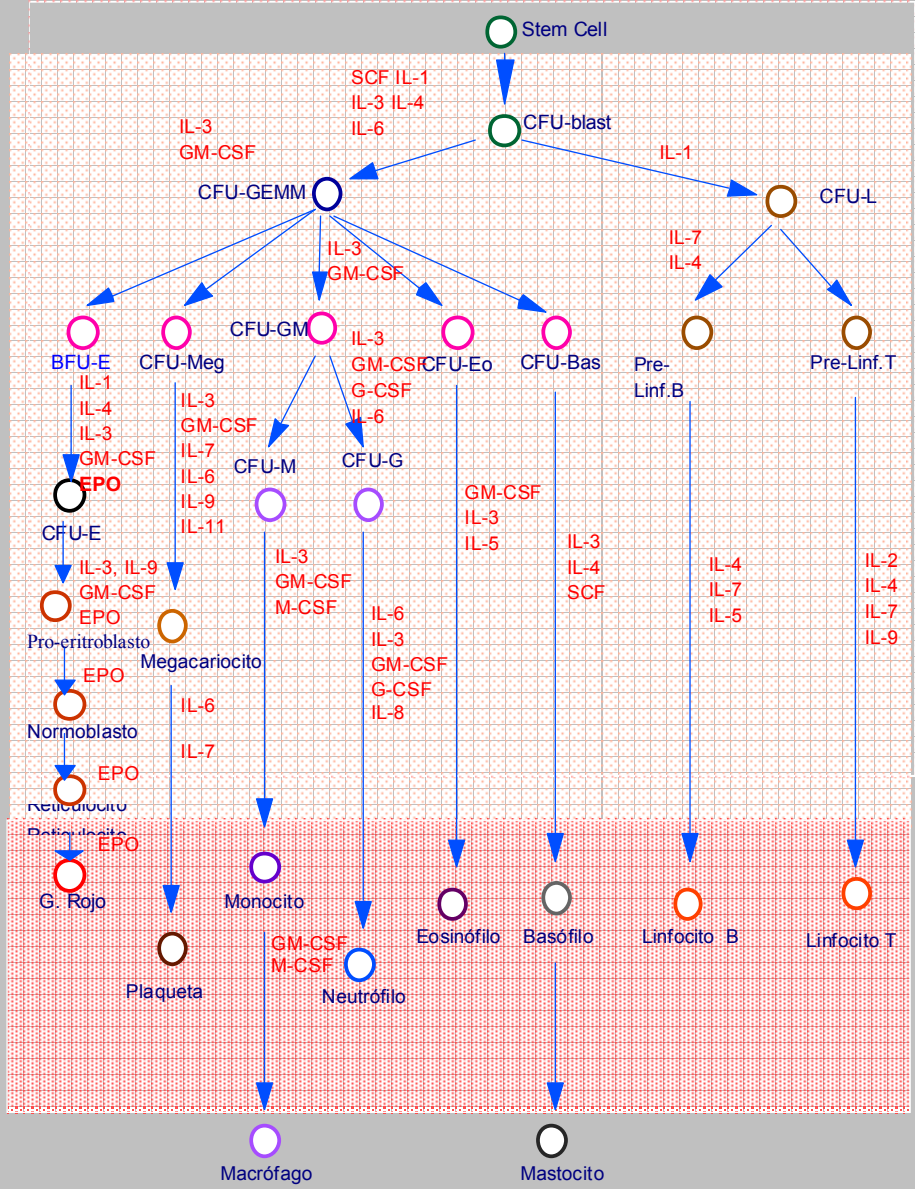




Adapted from Weatherall DJ, et al. Oxford Textbook of Medicine, 1996



HEMATOPOYESIS





- ❑ La mielotoxicidad constituye el efecto secundario más frecuente de los fármacos antineoplásicos de utilización terapéutica / TLD
- ❑ Los agentes quimioterápicos citotóxicos actúan sobre poblaciones celulares en ciclo de duplicación celular de forma no selectiva
- ❑ Compartimento hematopoyético tiene alta fracción de células en ciclo en su diferenciación desde la stem-cell pluripotencial



- La mayoría de esquemas de tratamiento estandar con agentes citotóxicos fueron diseñados basados en la cinética de recuperación medular fisiológica
- Periodo de aproximadamente 7 días entre evento a nivel compartimento medular y su expresión periférica
- Leucopenia-Trombopenia se inician día 9-10 post-tto; nadir d14-18; recuperación d 21-28
- Incremento de dosis influencia nadir pero no periodo de recuperación
- Repetición de dosis durante fase temprana de recuperación puede influenciar duración mielotoxicidad



Factores estimulantes de Granulocitos

- Neutropenia: Frecuencia / TLD / Relevancia clínica
- Interrelación Dosis-Respuesta-Tiempo
- Modelos teóricos efecto terapéutico / resistencia
- ✓ Estrategias terapéuticas condicionadas por la neutropenia
- ✓ La utilización de G/GM-CSF posibilitan su modificación



Factores estimulantes de Granulocitos

Mecanismo de acción:

- Estimula la producción de precursores neutrófilos
- Incrementa la función de los neutrófilos maduros

Efectos:

- Reducción neutropenia (grado y duración)
- Reducción riesgo complicaciones

Aclaramiento: Renal / Mediado neutrófilos

Vida media: 3-4 horas

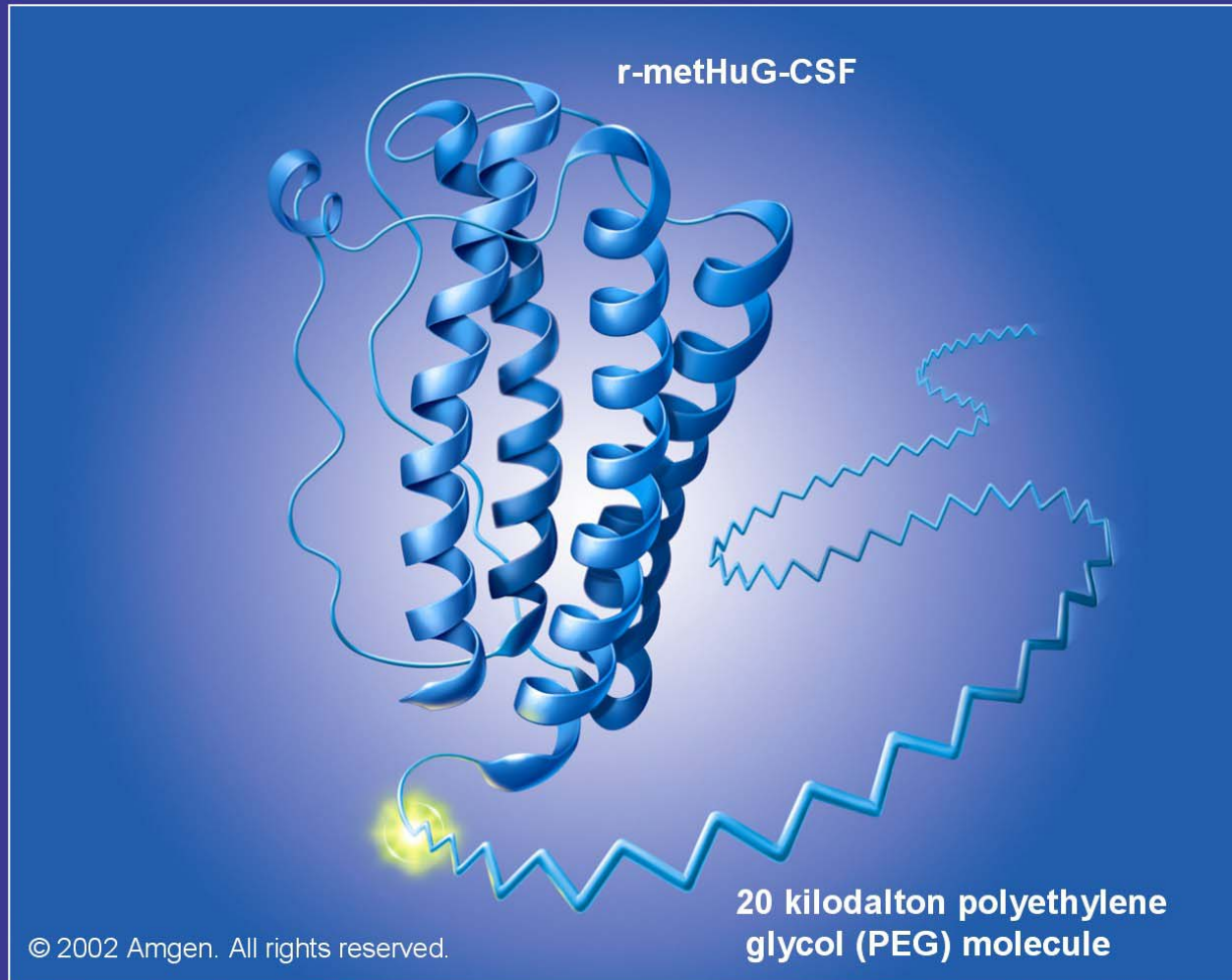
Administración: diaria



PEG-FILGASTRIM

- Modificación por adición de polietilenglicol
- Reducción del aclaramiento renal
- Prolongación de vida media plasmática
- Mayor duración efecto terapéutico
- Aclaramiento mediado por neutrófilos
mecanismo primario de eliminación
("autorregulación")

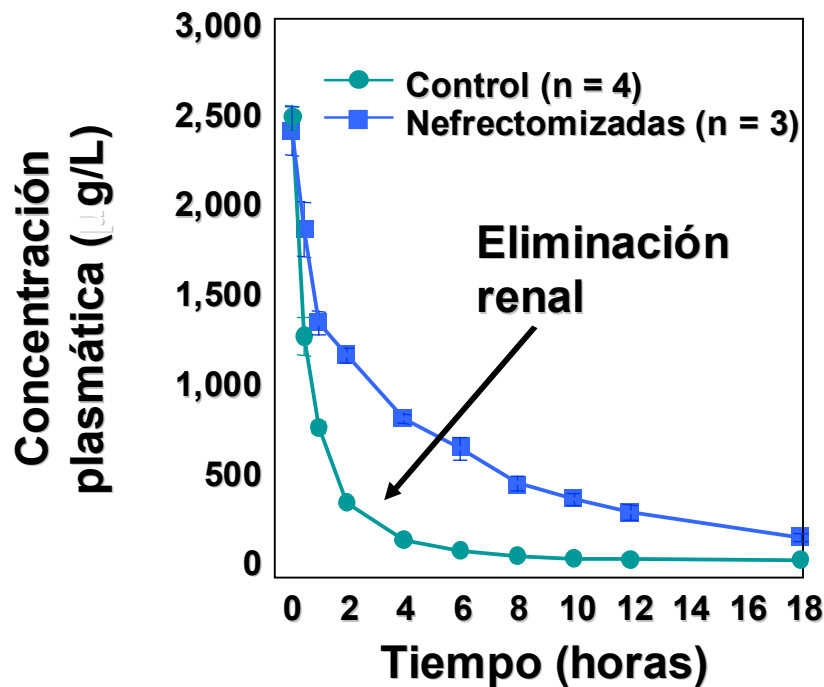
Pegfilgrastim



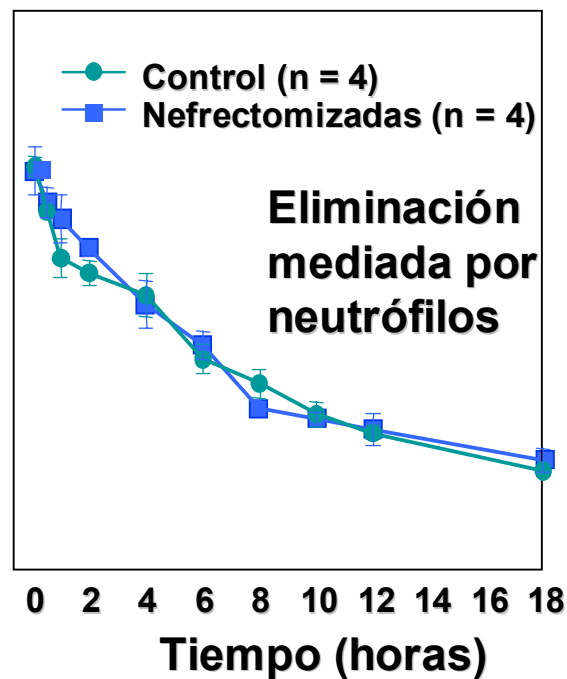


Farmacocinética de pegfilgrastim en ratas nefrectomizadas

Filgrastim 100 µg/kg



Pegfilgrastim 100 µg/kg



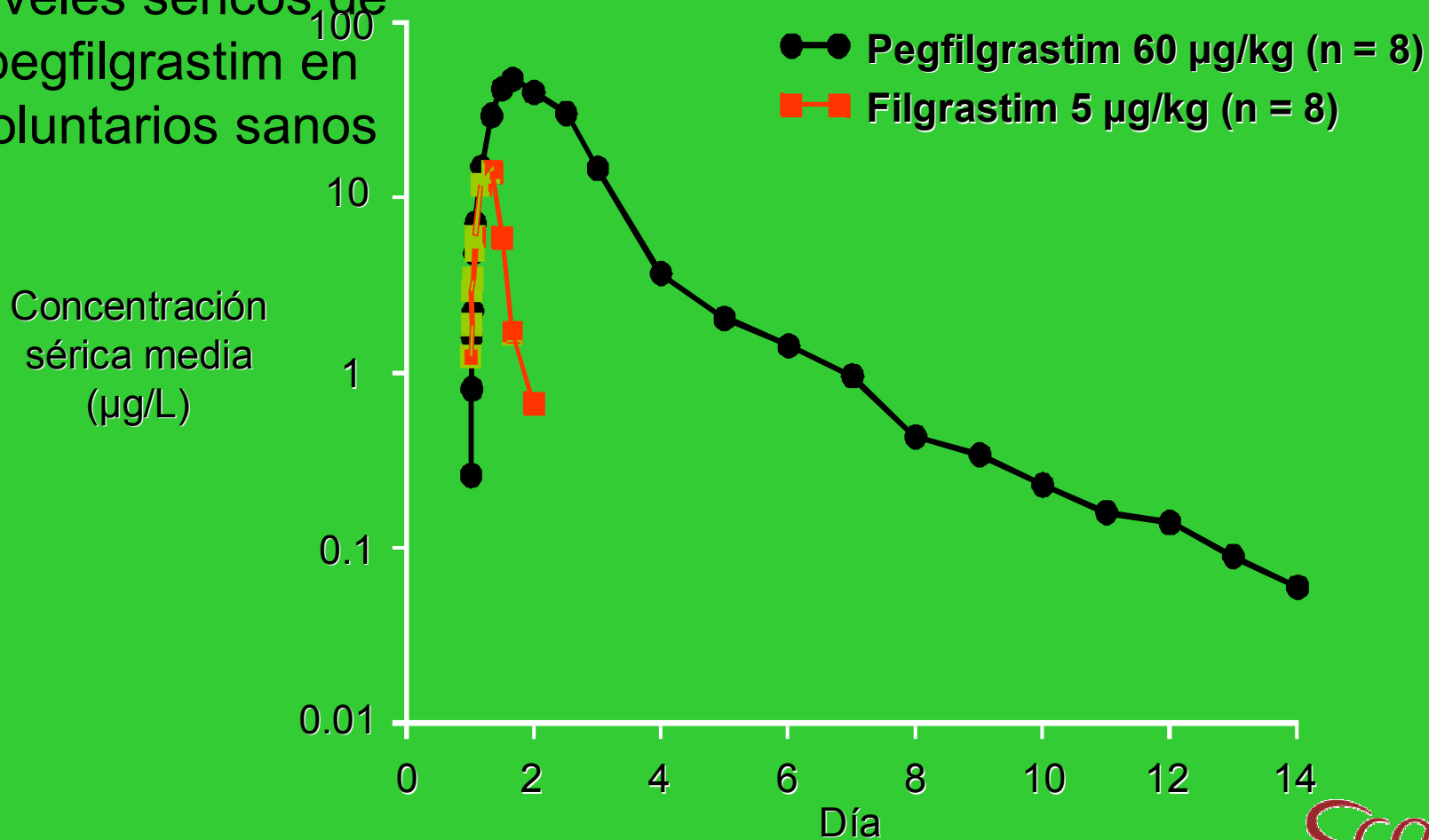


Mantenimiento de las propiedades biológicas de filgrastim con la pegilación

- **Ensayos de multiplicación**: estimulación similar de células dependientes de G-CSF
- **Unión a receptores** : afinidad de unión competitiva similar a los receptores de G-CSF de neutrófilos
- **Respuesta de neutrófilos** : relación dosis-respuesta respecto al aumento de neutrófilos
- **Estudios de función de neutrófilos** : sin diferencias en liberación de superóxidos y fagocitosis de *E. coli*



Niveles séricos de pegfilgrastim en voluntarios sanos





Fase 1-2 en cáncer de pulmón

Pre-quimioterapia



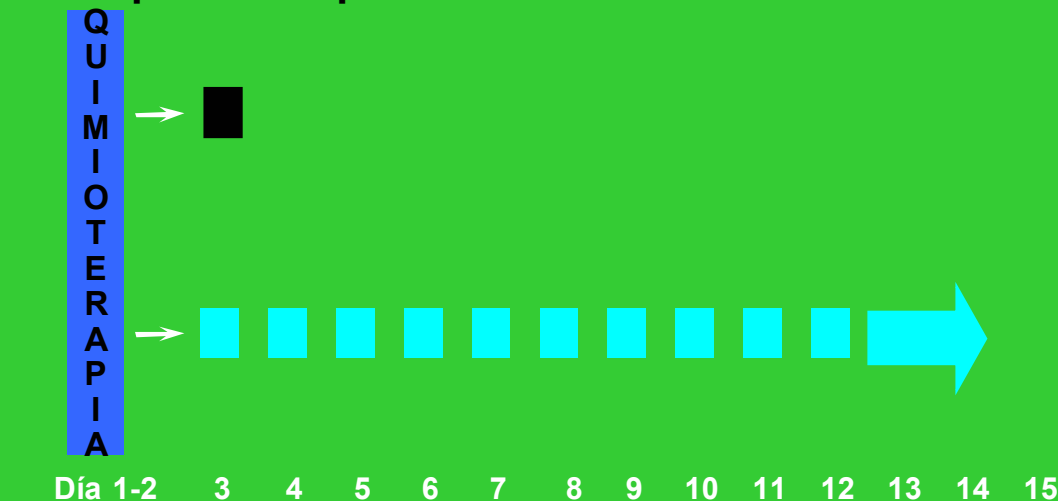
■ Pegfilgrastim

- 30 µg/kg (n = 3)
- 100 µg/kg (n = 3)
- 300 µg/kg (n = 4)

■ Filgrastim

- 5 µg/kg/d (n = 3)

Post-quimioterapia



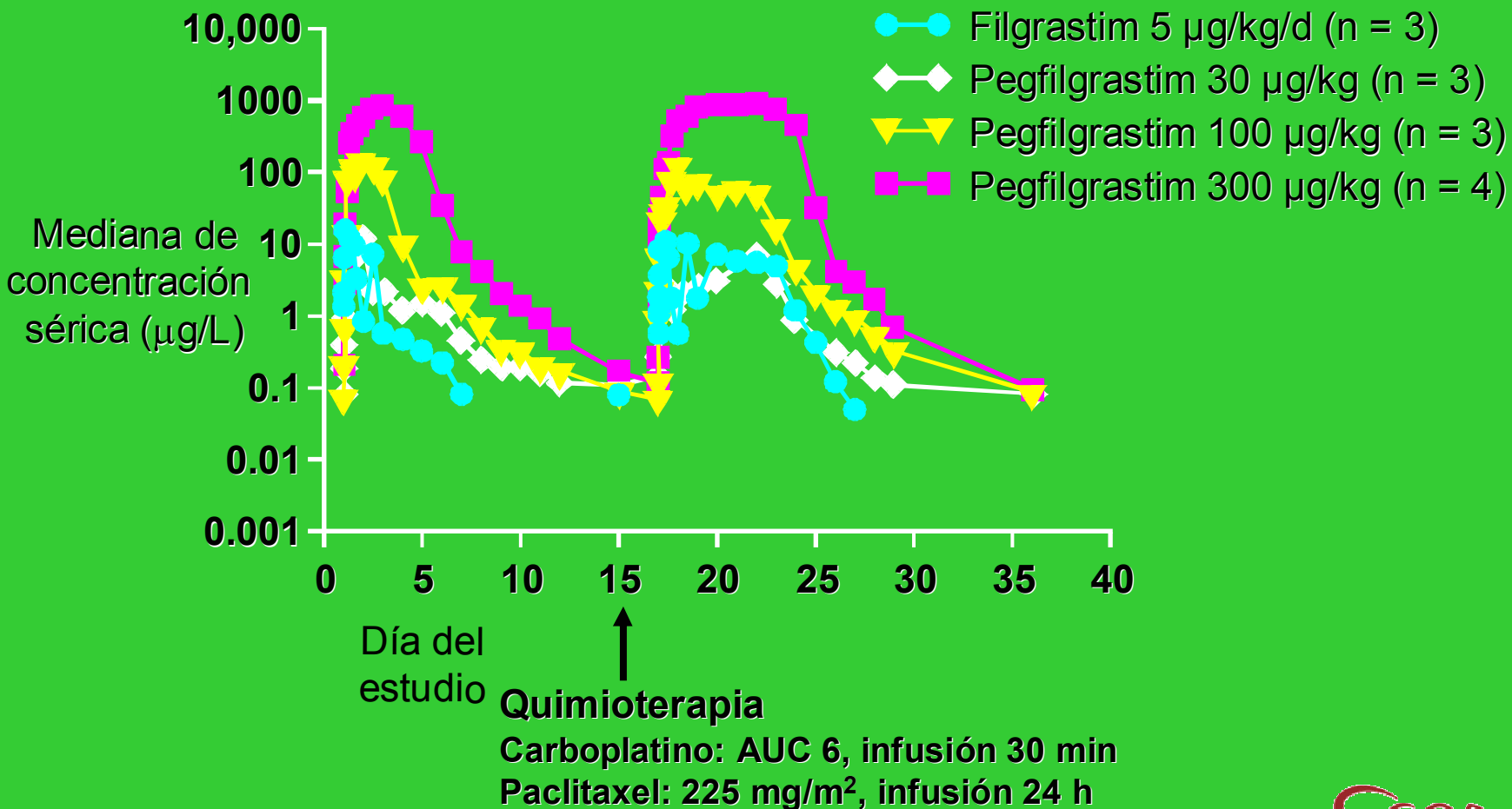
Quimioterapia

Carboplatino

AUC 6, infusión 30 min

Paclitaxel

225 mg/m², infusión 24 h





▲ RAN ● Pegfilgrastim 100 µg/kg (n = 3)



Adaptado de Johnston E, et al.
J Clin Oncol. 2000;18:2522-2528.



Ca Mama / QT AT

DNG en ciclo 1

Holmes et al

Green et al

| | Filgrastim 5 µg/kg/día (n = 147) | Pegfilgrastim 100 µg/kg (n = 149) | Filgrastim 5 µg/kg/día (n = 75) | Pegfilgrastim 6 mg dosis fija (n = 77) |
|-----------------------|--|---|---------------------------------------|--|
| DNG 4 media (días) | 1.8 | 1.7 | 1.6 | 1.8 |
| 95% IC* | -0.36 a 0.30 | | -0.15 a 0.63 | |

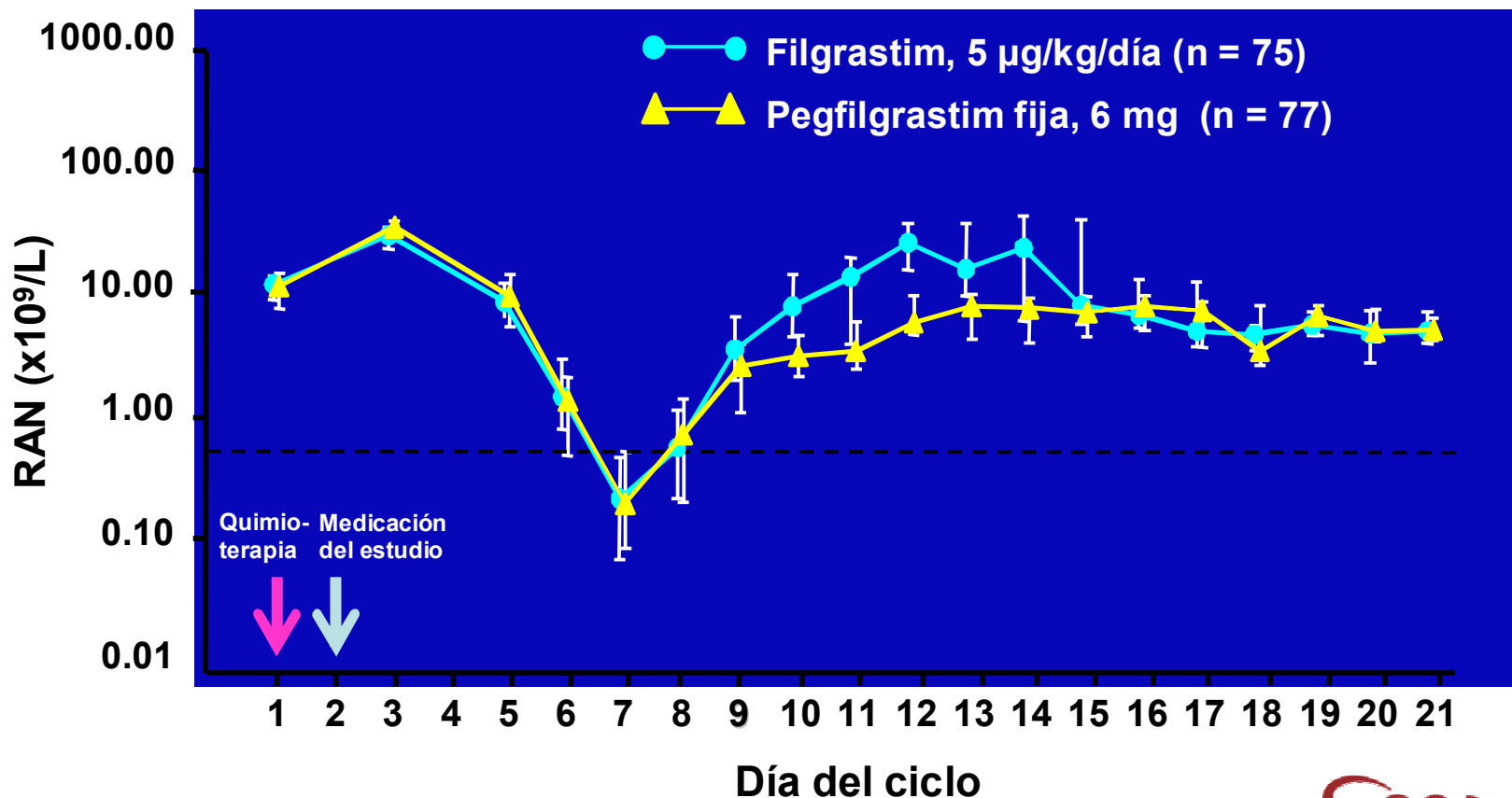
*Intervalo de confianza (IC) para la diferencia entre las medias.

Holmes F, et al. *J Clin Oncol.* 2002;20:727-731;
Green M, et al. *Ann Oncol.* 2003;14:29-35. Datos internos, Amgen.





Mediana de niveles de RAN y rango intercuartil



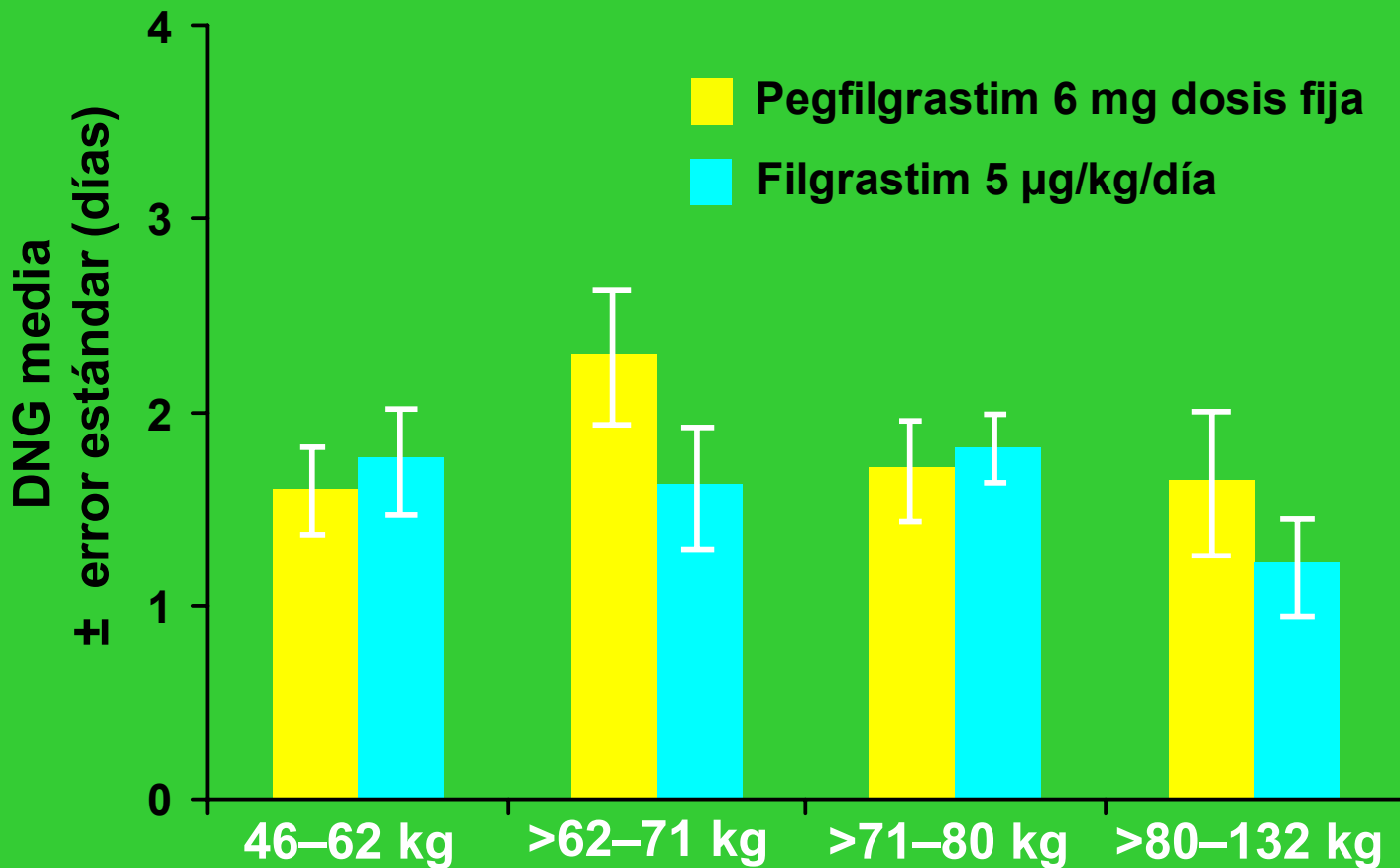
Día del ciclo

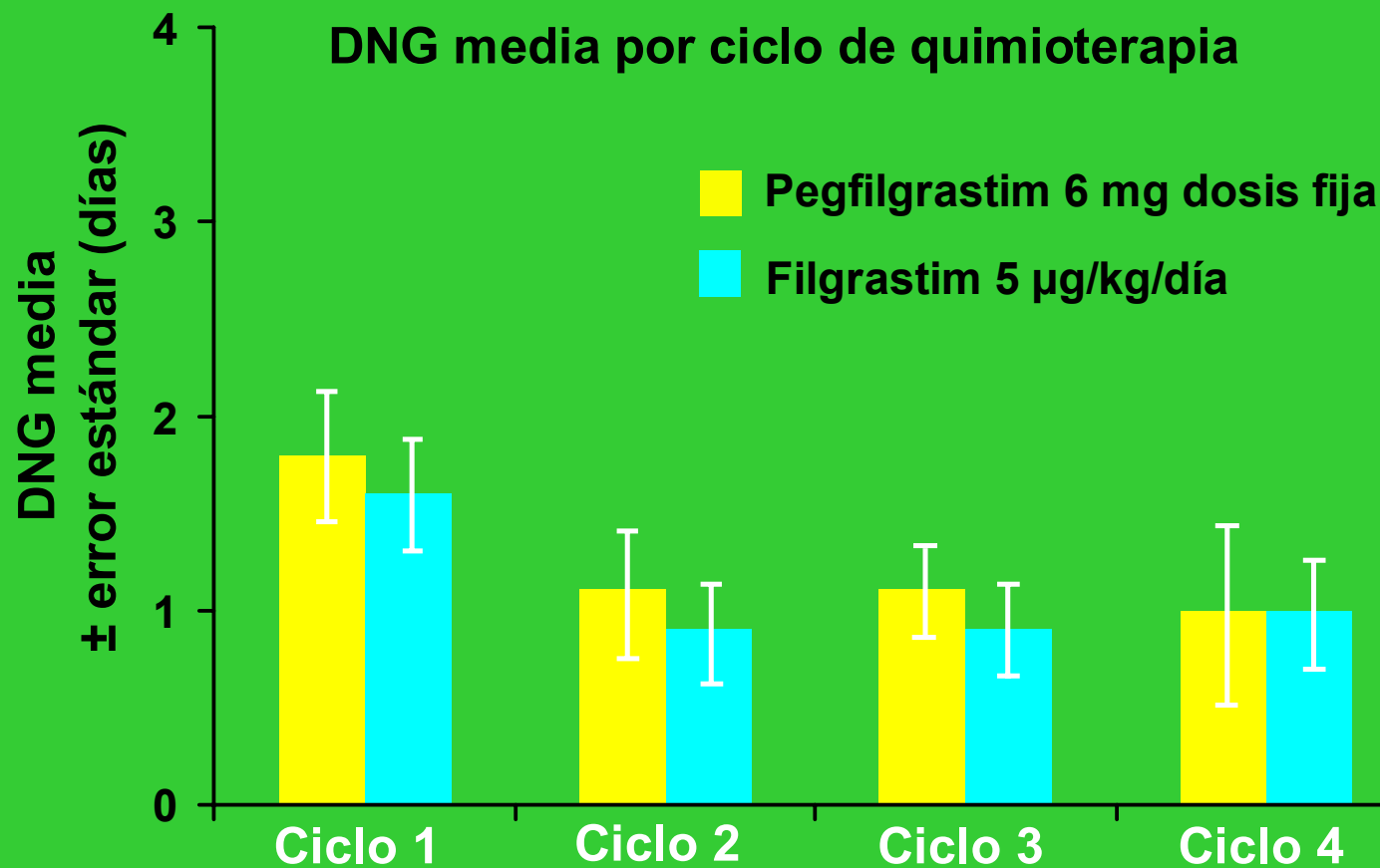
Green M, et al. *Ann Oncol.* 2003;14:29-35.





DNG media en el ciclo 1 por grupo de peso en cuartiles







Holmes et al (n = 296)

Green et al (n = 152)

Filgrastim
5 µg/kg/d

Pegfilgrastim
100 µg/kg

Filgrastim
5 µg/kg/d

Pegfilgrastim
6 mg dosis fija

**Incidencia
de NF* en
todos los
ciclos**

18%

9%

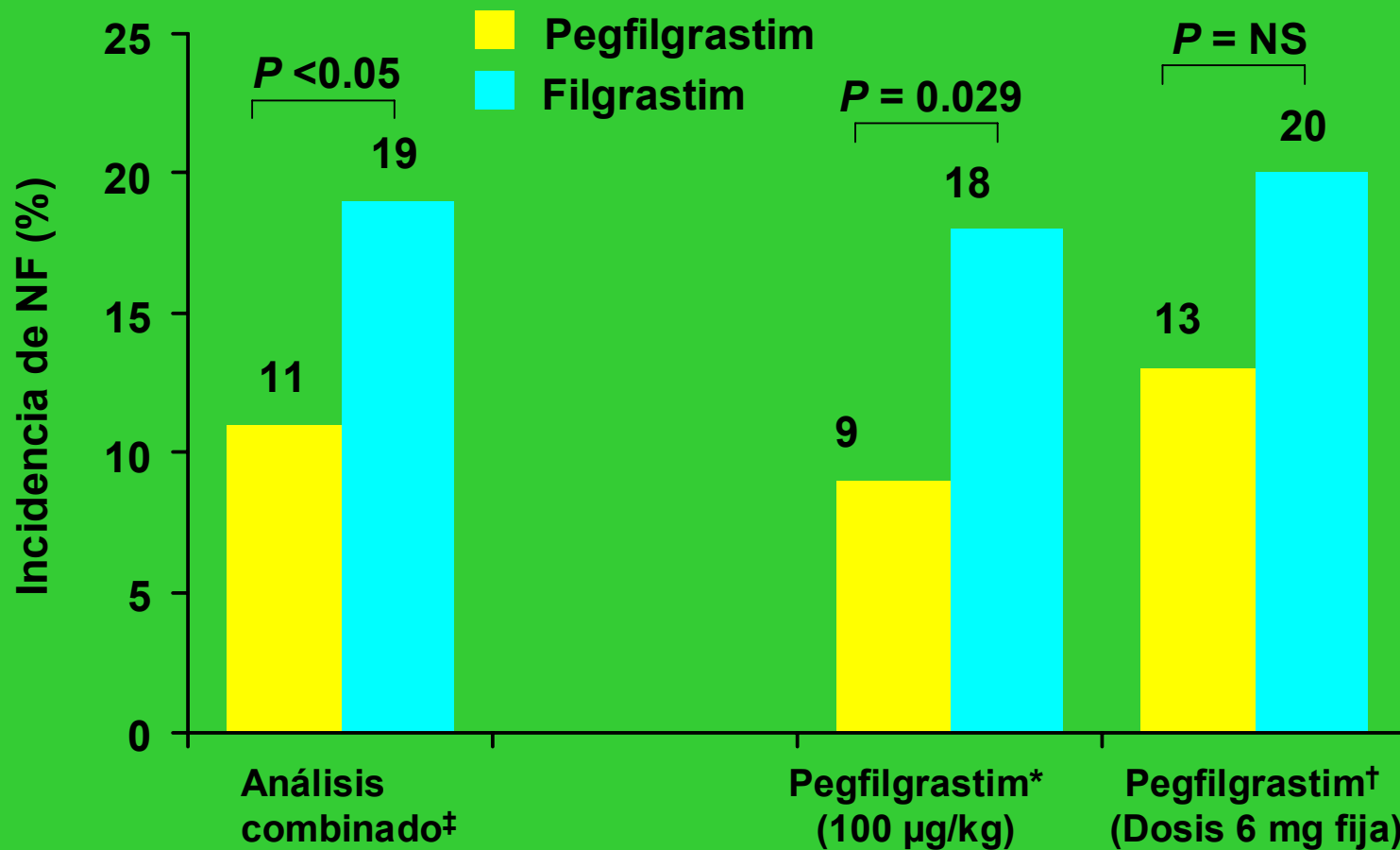
20%

13%

P=0.029

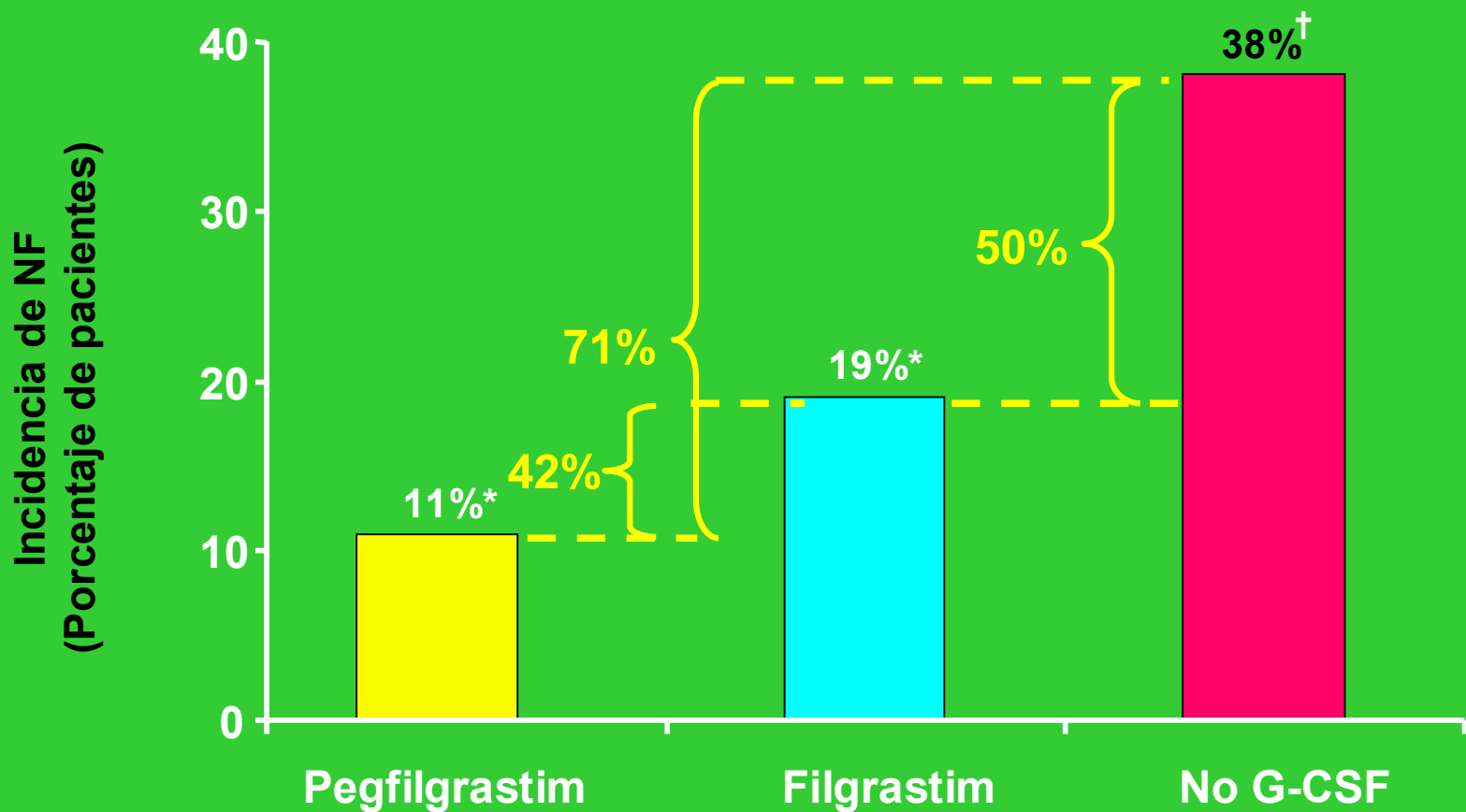
P=ns

*Neutropenia febril definida como RAN < 500 ($0.5 \times 10^9/L$) y fiebre ($\geq 38.2^\circ C$).



Adaptado de †Siena S, et al. *Oncol Rep* 2003;10:715-24.;

*Holmes F, et al. *J Clin Oncol.* 2002;20:727-731; †Green M, et al. *Ann Oncol.* 2003;14:29-35



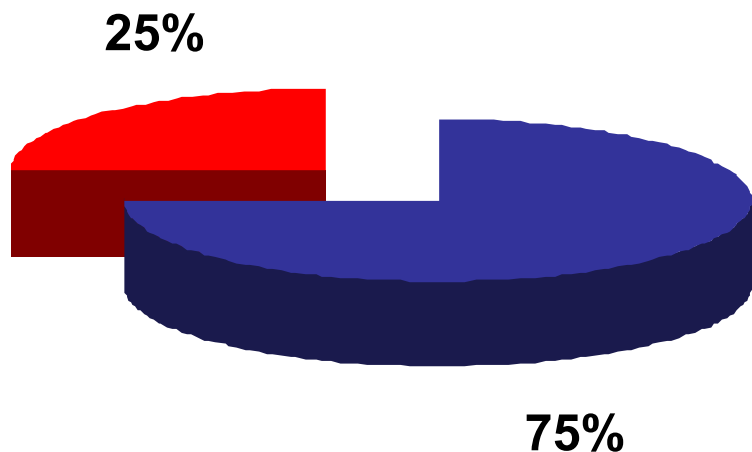
Adaptado de *Siena S, et al. *Oncol Rep* 2003;10:715-24.

†Misset J, et al. *Ann Oncol*. 1999;10:553-560.

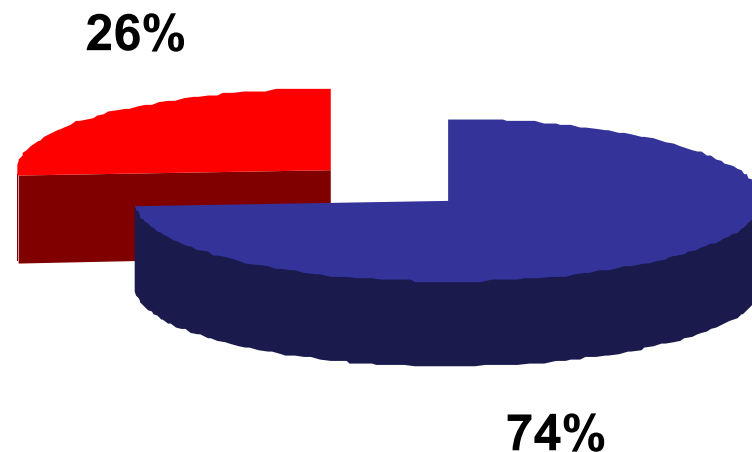


- Pacientes que comunicaron dolor óseo
- Pacientes que no comunicaron dolor óseo

Pegfilgrastim

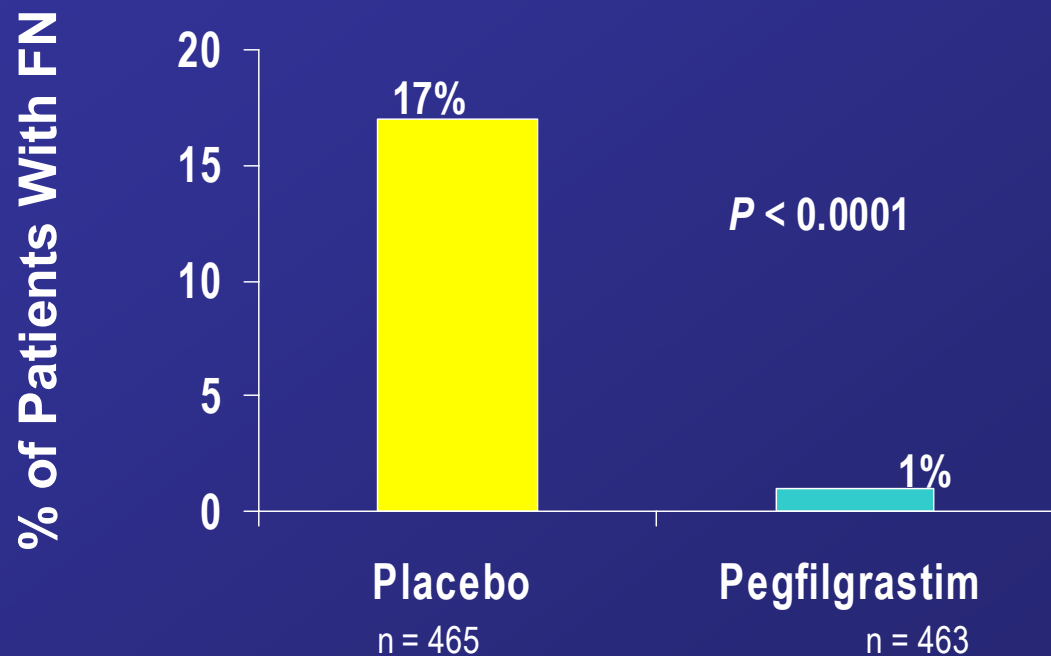


Filgrastim



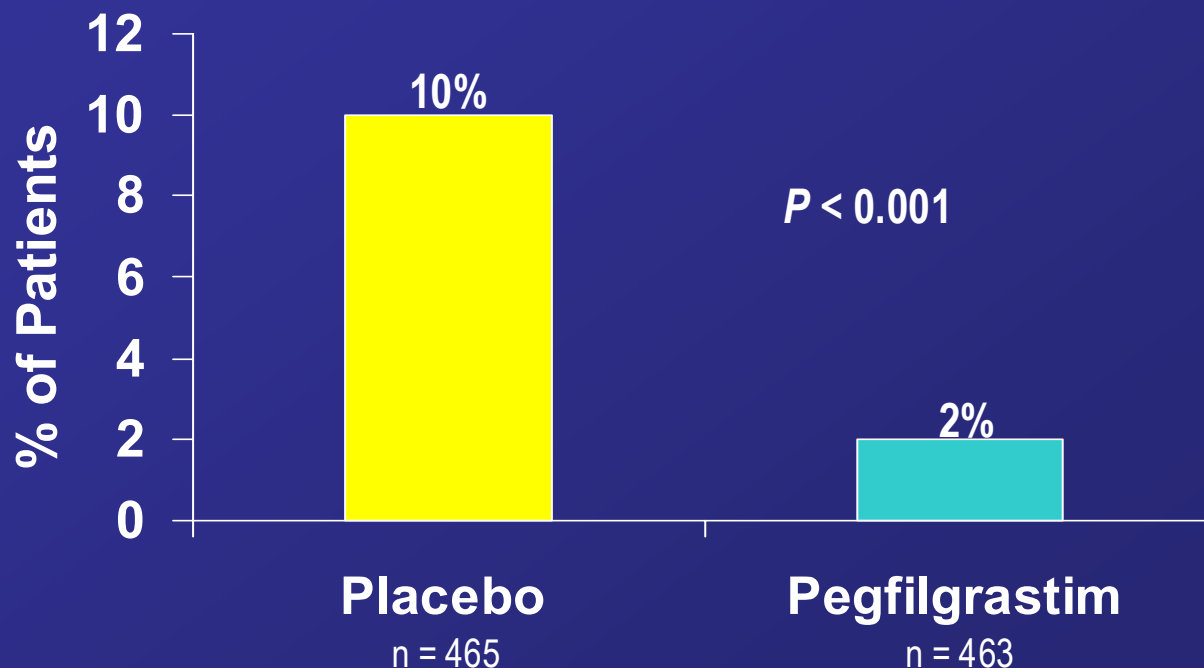


Incidencia de FN





Uso de anti-infecciosos IV relacionados con FN





Anemia en pacientes oncológicos

- Anemia es una situación común en pacientes con cáncer
- Anemia clínicamente significativa en 30-50% pacientes con cáncer (ECAS 38.5% al diagnóstico, 65% en evolución-tratamiento)
- El proceso normal de eritropoyesis está alterado por diversos factores en pacientes oncológicos
- La disminución de la masa eritrocitaria comporta descenso de niveles de Hemoglobina y reducción en la oxigenación tisular/hipoxia



Anemia multifactorial:

- sangrado/hemorragia
 - infiltración medular
 - alteración metabolismo férrico
 - aumento citoquinas inflamatorias
 - reducción progenitores eritroides
 - hemólisis / catabolismo
 - tratamiento quirúrgico/QT/RT
 - deficiencia relativa eritropoyetina endógena
- La anemia puede determinar interferencias en la fisiología normal de la mayoría de órganos y sistemas corporales



Efectos celulares de la hipoxia

- ❑ **La respuesta celular a la hipoxia es altamente compleja y puede variar entre diversos organos y tejidos y entre fenotipo normal y neoplásico**
- ❑ **Selección de celulas resistentes a la apoptosis**
- ❑ **Interacción con genes p53, AP-1, factor K-B**
- ❑ **Respuesta a VEGF y Eritropoyetina mediada por HIF-1**
- ❑ **Incremento IL-8**
- ❑ **Correlación inversa Hemoglobina / VEGF**



Significación pronóstica de hipoxia en neoplasias

ANEMIA



Hipoxia Intratumoral

Radioresistencia

**Selecc.
Clones
Resist.**

**Estim.
Angiogenesis**

**Inestab.
Genómica**

Quimio/Radio-resist. – Progresion Neop. - Metástasis





Areas en el tratamiento de la anemia con FEE

Necesidades

- Aumento tasa respuesta
- Rápido aumento Hb
- Prolongación intervalos dosis

Optimización
dosificación

Desarrollo nuevos
Factores
hematopoyéticos

Mantenimiento via SC y perfil seguridad

SC



Estrategias de dosis

- Dosis de carga: dosis inicial más alta y posterior mantenimiento con dosis reducidas o menos frecuentes
- Beneficios potenciales:
 - **Corrección más temprana de la anemia**
 - **Incremento proporción de pacientes respondedores**
 - **Mejoria eficiencia (coste-efectivo)**



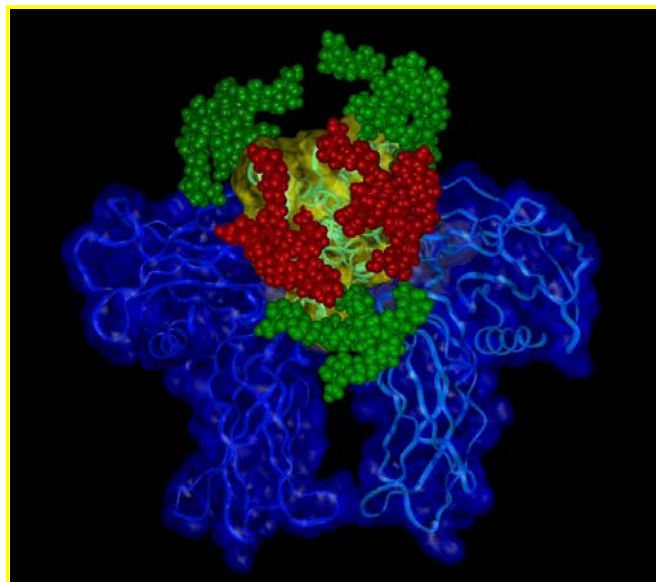
Desarrollo de nuevos FEE

- Variantes hiperglicosiladas
- Dimeros
- Moléculas pequeñas
- Péptidos
- Propiedades sintéticas
- Terapia génica
- Integración de polímeros



Darbepoietina

Investigación básica sobre la estructura y función de r-HuEPO y sus carbohidratos



- **Dos cadenas de carbohidratos adicionales que contienen residuos de ácido siálico (en rojo), hasta 8 moléculas adicionales de ácido siálico**

*Egrie JC, Browne JK. Br J Cancer 2001; 84(Suppl. 1): 3-10.
Elliott S, et al. Blood. 2000;96:352a*

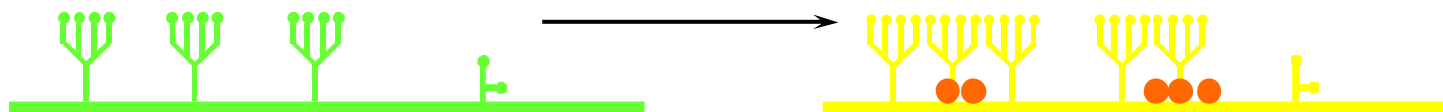




Propiedades físico-químicas

rHuEPO

darbepoetina alfa

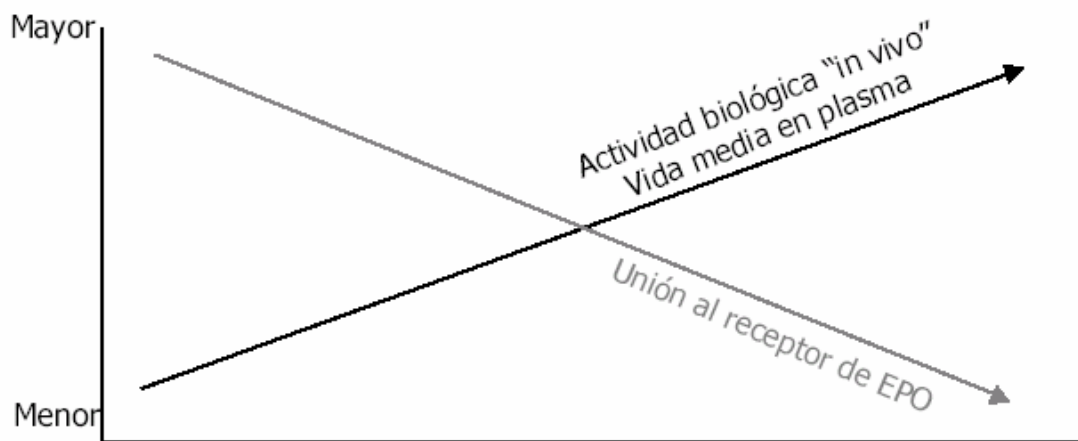
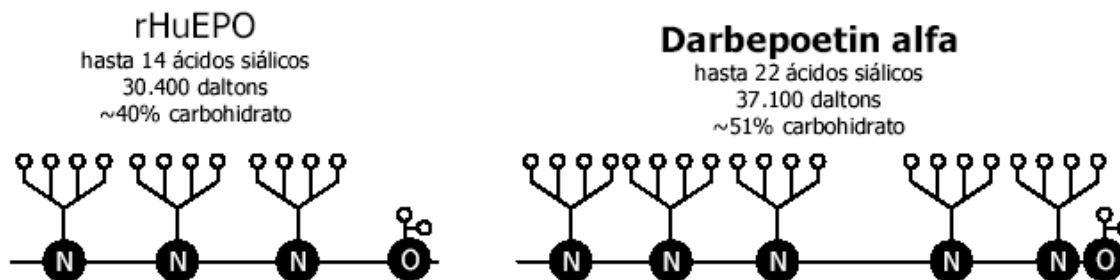


- 3 cadenas N carbohidratos
- 14 residuos ácido silálico
- 30,400 daltons
- 40% carbohidratos

- 5 cadenas N-carbohidratos
- 22 residuos ácido siálico
- 38,500 daltons
- 52% carbohidratos



El aumento en carbohidratos aumenta la semivida plasmática y la actividad biológica in vivo



PK: farmacocinética

Aumento del contenido de ácido siálico en la molécula de EPO

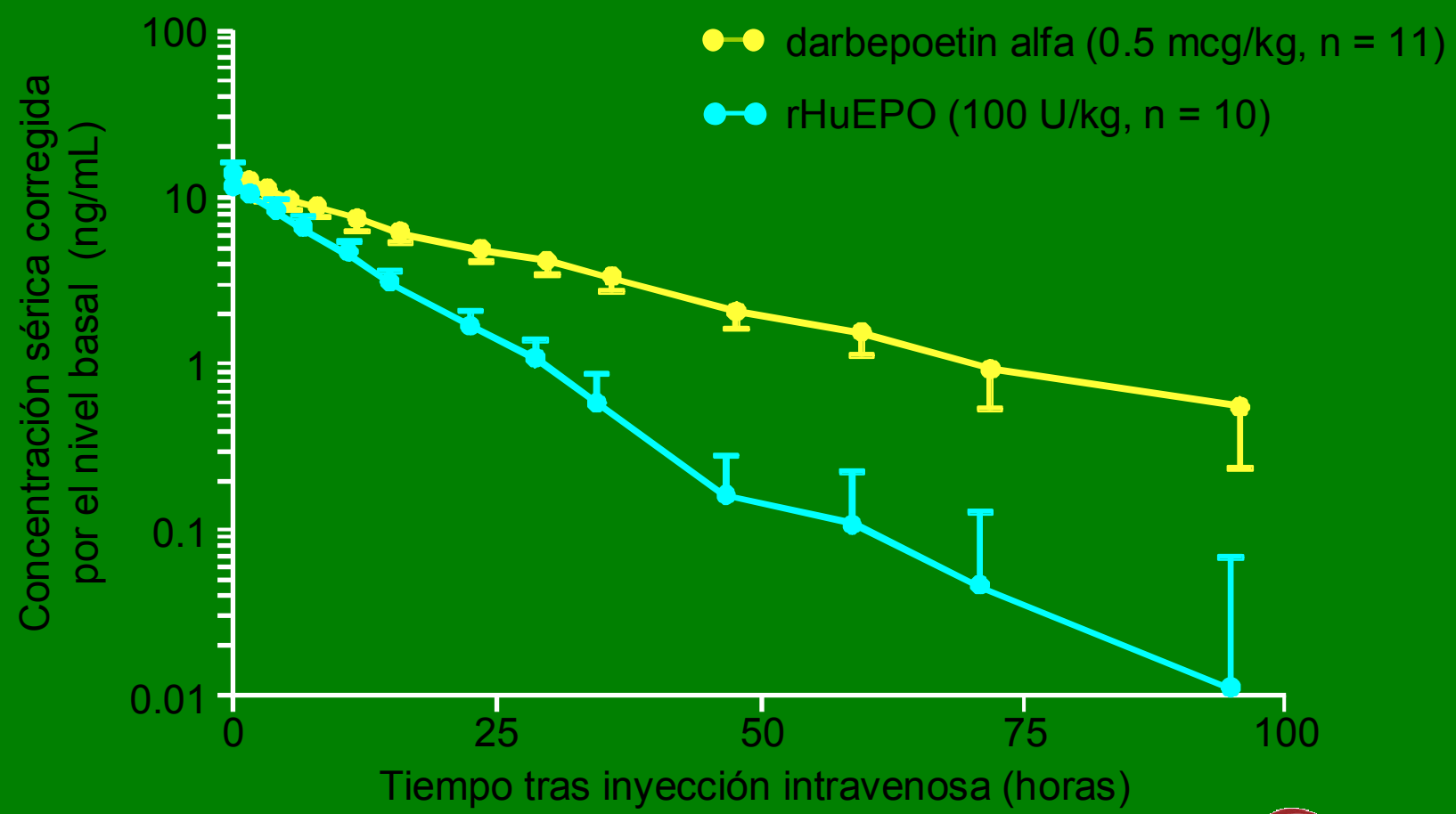
Basado en Egrie JC, Browne JK. Br J Cancer 2001; 84(Suppl. 1): 3-10



Farmacocinética

- **Darbepoetin alfa presenta una vida media plasmática hasta 3 veces superior a la de rHuEPO (25,3 h vs. 8,5 h tras administración iv en pacientes con insuficiencia renal crónica)**
- **El perfil farmacocinético de darbepoetin alfa en pacientes con cáncer está bien definido:**
 - **Semivida plasmática \approx 73 h (tras administración SC)**
 - **Dosis-linear**
 - **Ausencia de acumulación tras administración múltiple (s, q2s, q3s)**



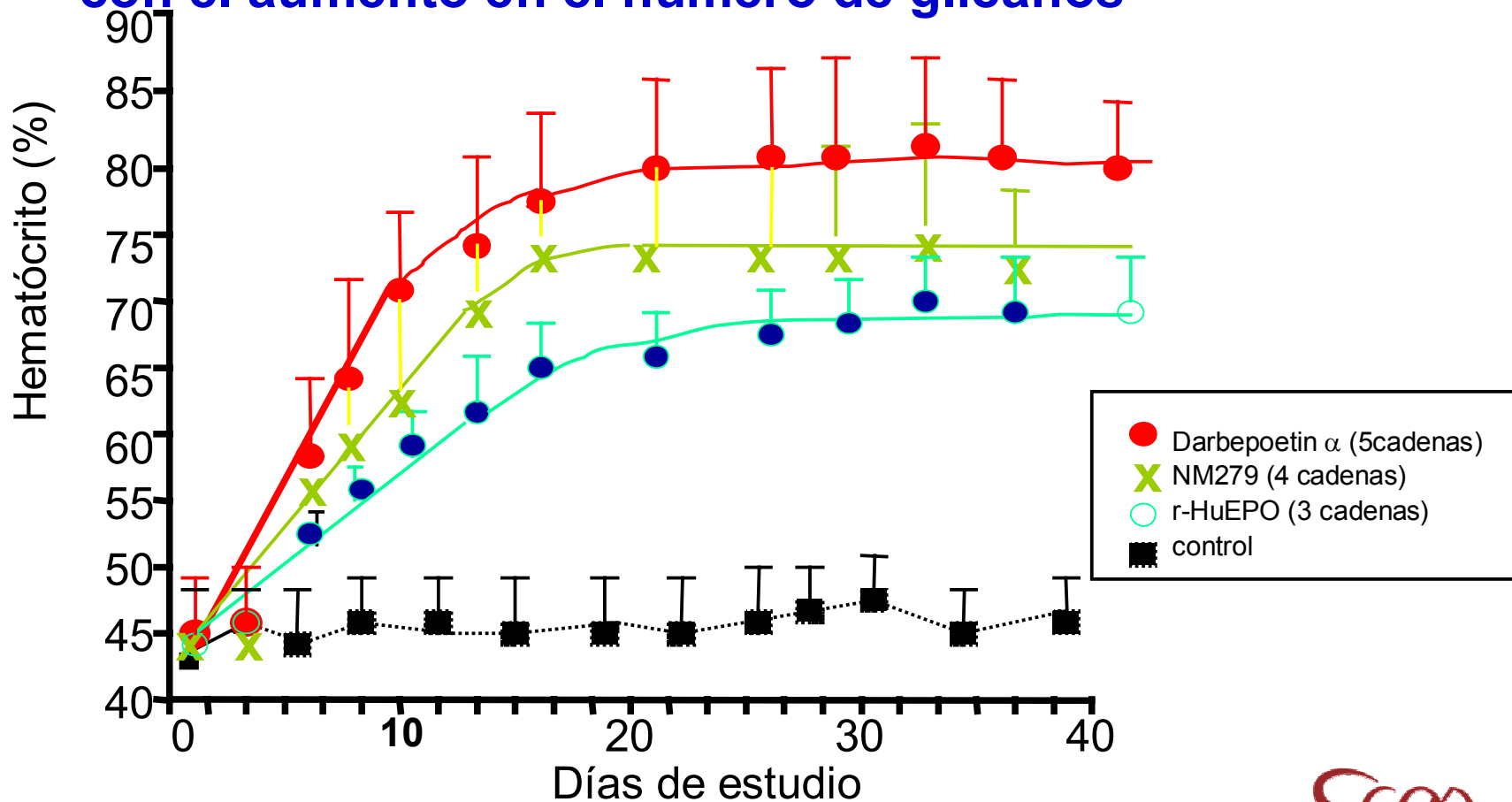


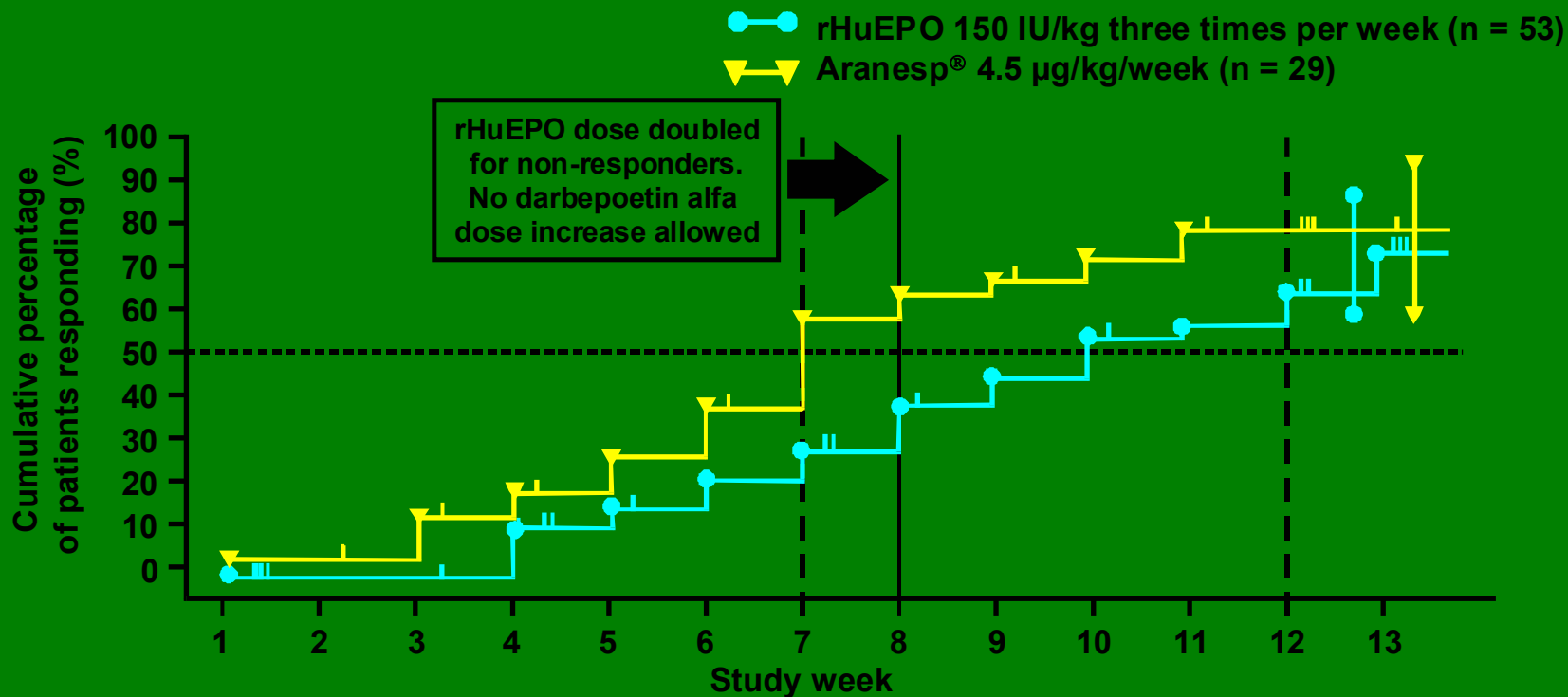
Macdougall I, et al. *J Am Soc Nephrol.* 1999;10:2392–2395.





El aumento en el hematócrito en ratones es más rápido con el aumento en el número de glicanos



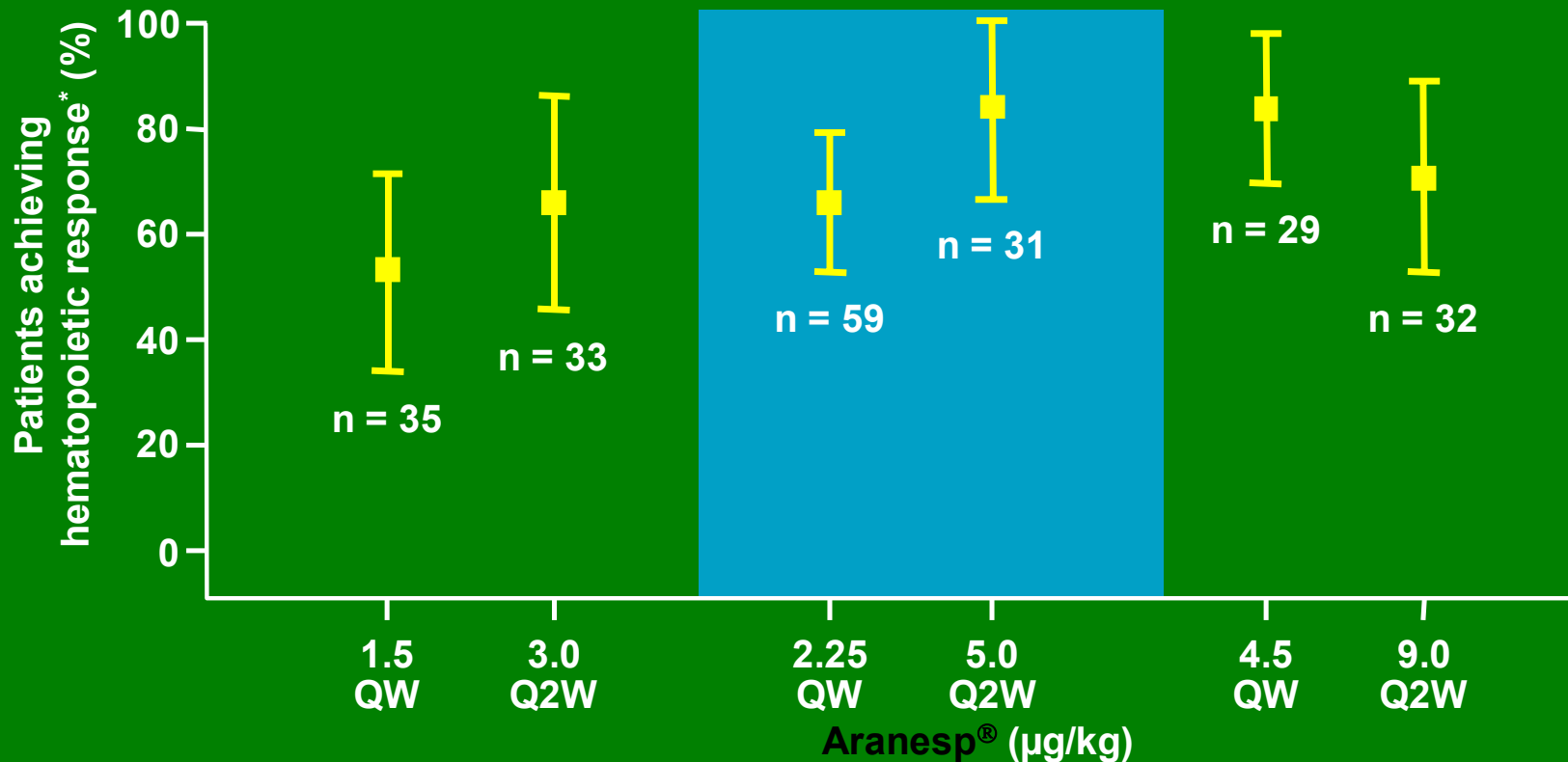


95% CI displayed for the cumulative percentage of patients responding by week 13. A 'I' represents a censored patient. Kaplan-Meier proportions.

Hb response defined as a ≥ 2 g/dL increase in Hb from baseline in the absence of RBC transfusion within the previous 28 days.

Glaspy J, et al. *Proc Am Soc Clin Oncol*. 2001;20:387A. Abstract 1546.



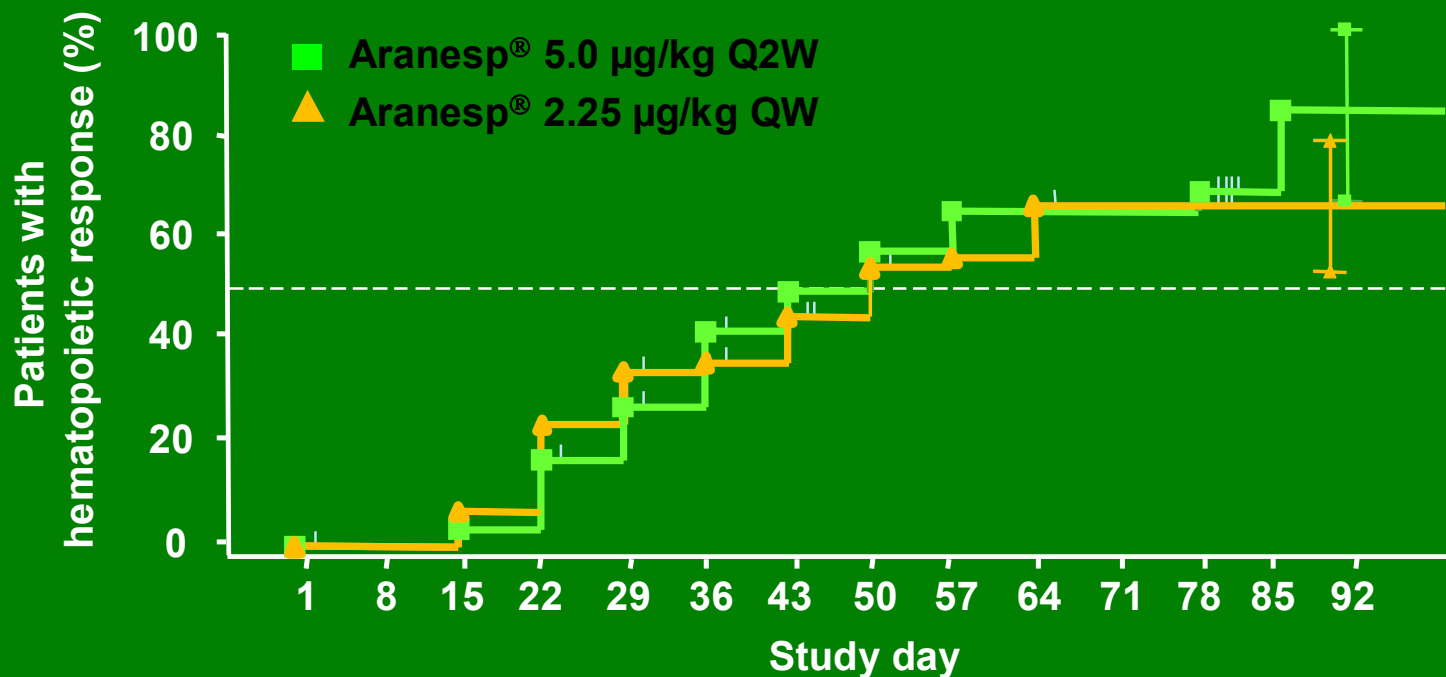


*Defined as an increase in Hb of ≥ 2 g/dL or Hb ≥ 12 g/dL in the absence of RBC transfusion in the previous 28 days.

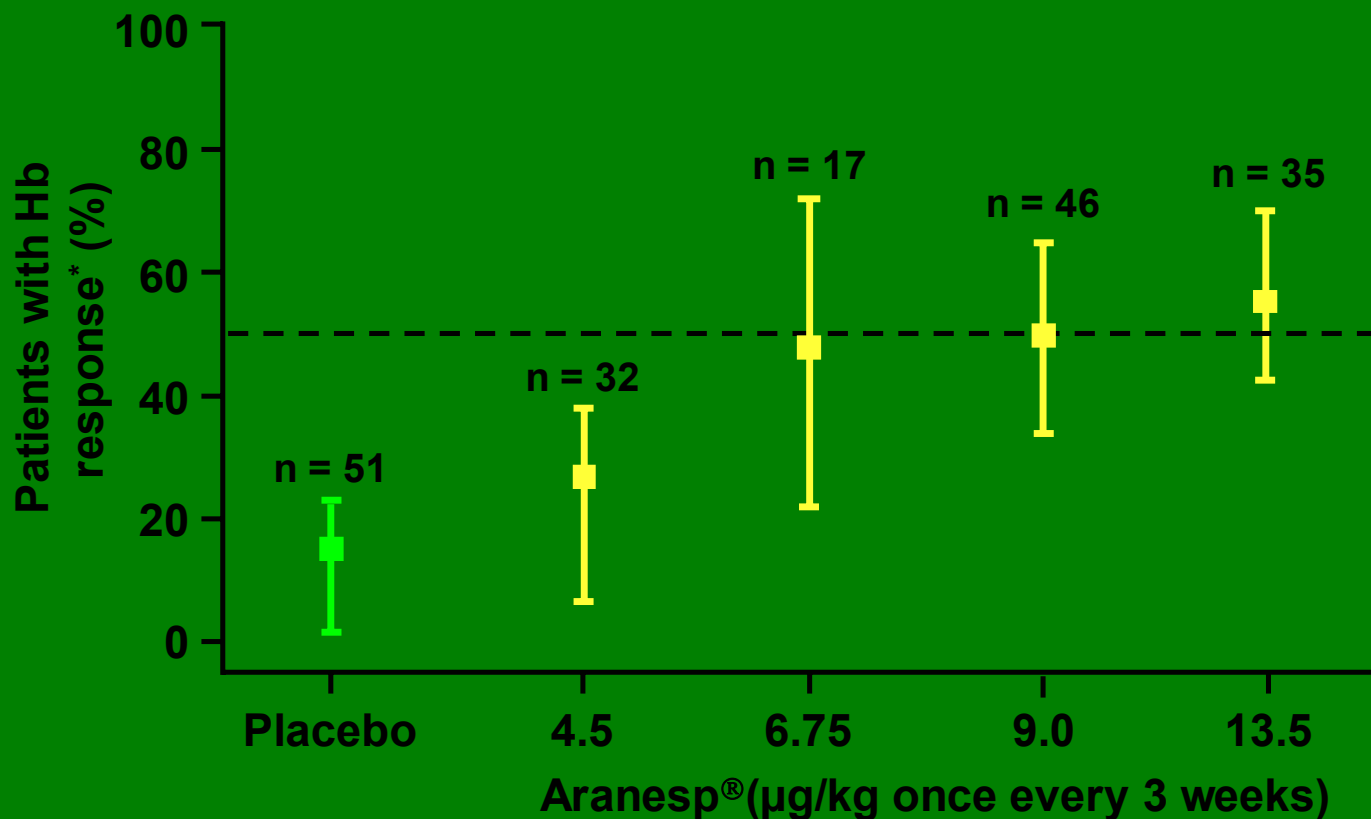
QW = once per week; Q2W = once every 2 weeks

Glaspy J, et al.

Blood. 2001;98:298A. Abstract 1256.



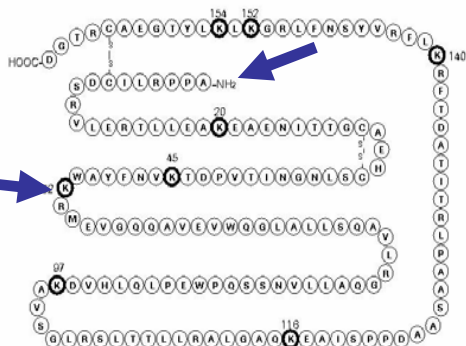
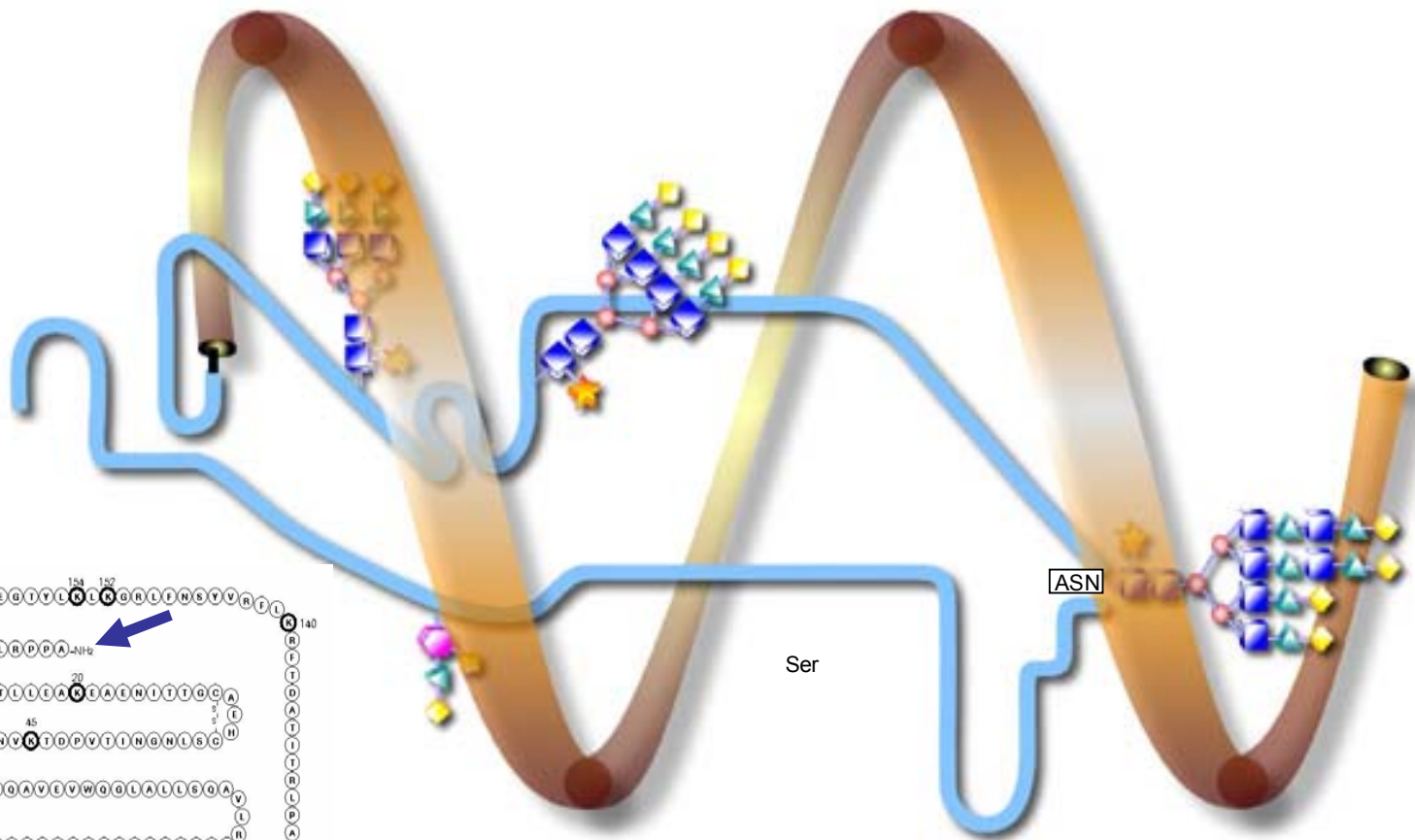
95% CI displayed for the cumulative percentage of patients responding by day 85.



*Kaplan-Meier response proportions during treatment phase with 95% CI. Hb response defined as a ≥ 2 g/dL increase in Hb from baseline in the absence of RBC transfusion within the previous 28 days.



Continuous Erythropoiesis Receptor Activator CERA



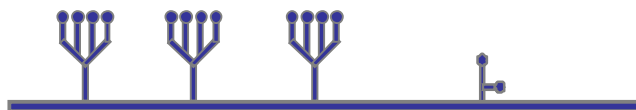
➔ Main attachment sites of PEG chain



*Base de datos Roche

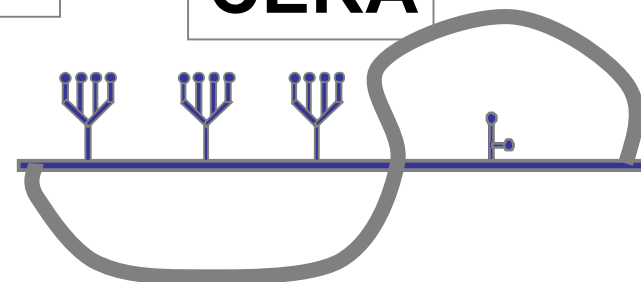


r-HuEPO



CERA

CERA



- 3 cadenas hidrocarbonadas con enlace N y 1 con O
- Hasta 14 residuos de ácido siálico
- 40% hidratos de carbono
- 30.400 daltons

- 3 cadenas hidrocarbonadas con enlace N y 1 con O
- Hasta 14 residuos de ácido siálico
- 40% hidratos de carbono
- 1 cadena PEG-SBA
- 61.000 daltons



Farmacocinética

Vida Media (h, media +/- DE)

IV

SC

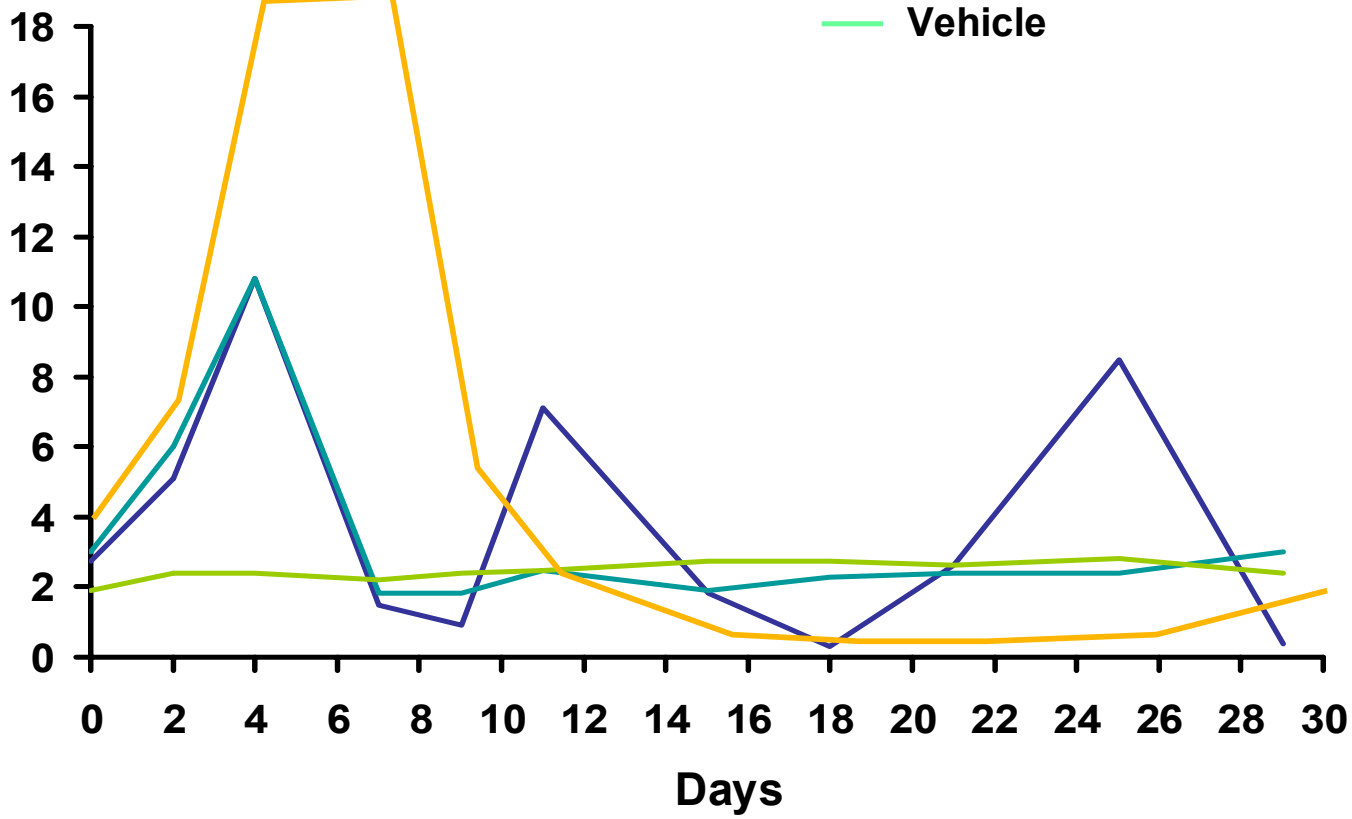
| | | |
|--------------------------------------|-------------------|-------------------|
| CERA¹ | 133 ± 9.83 | 137 ± 21.9 |
| Darbepoetina alfa² | 25.3 ± 2.2 | 48.4 ± 5.2 |
| Epoetina beta³ | 8.8 ± 0.5 | 24.2 ± 2.6 |
| Epoetina alfa³ | 6.8 ± 0.6 | 19.4 ± 2.5 |



Estudios preclínicos

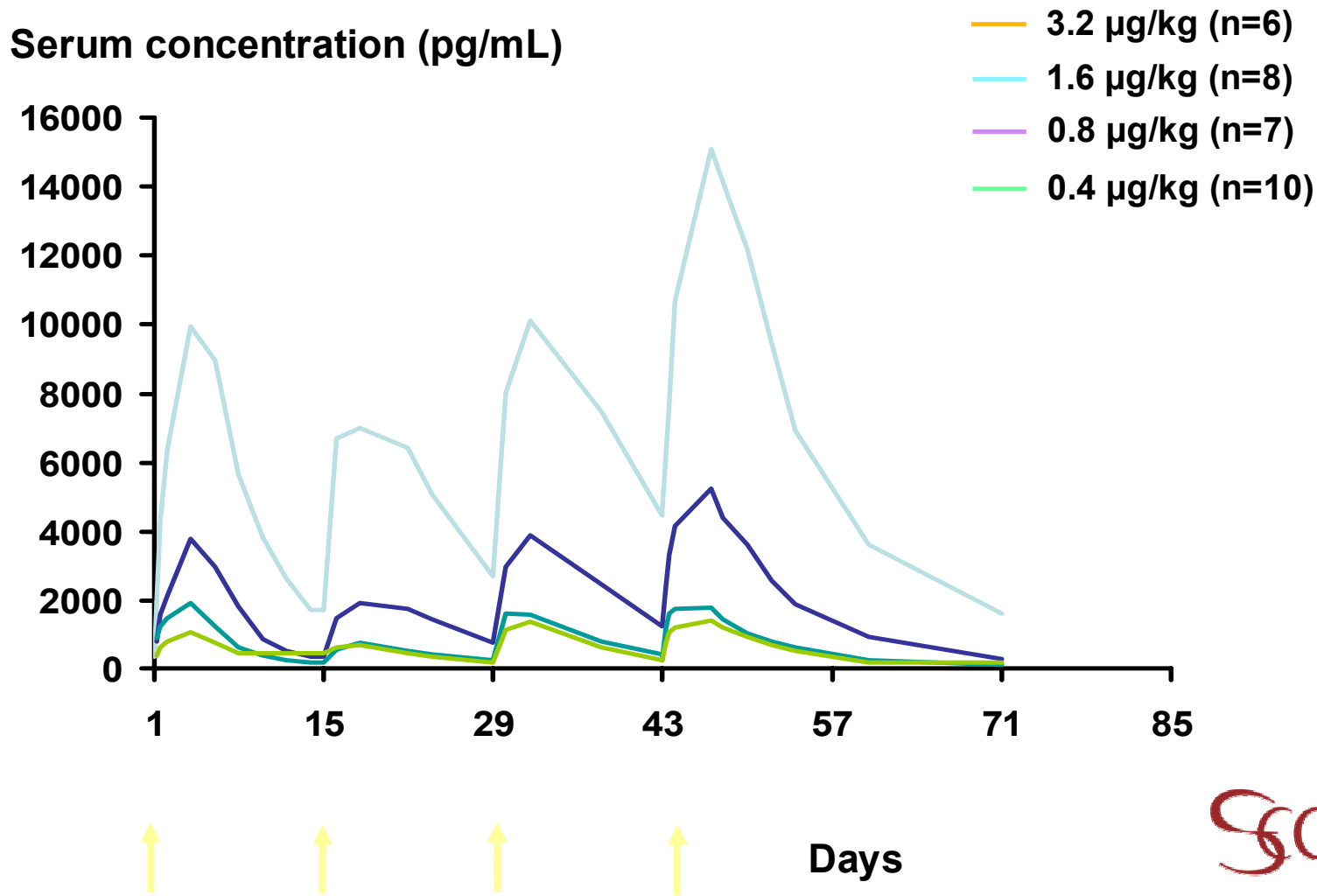
% reticulocytes (vs total RBC)

- CERA 20 µg/kg, single dose
- rHuEPO 20 µg/kg, multiple dose
- rHuEPO 20 µg/kg, single dose
- Vehicle



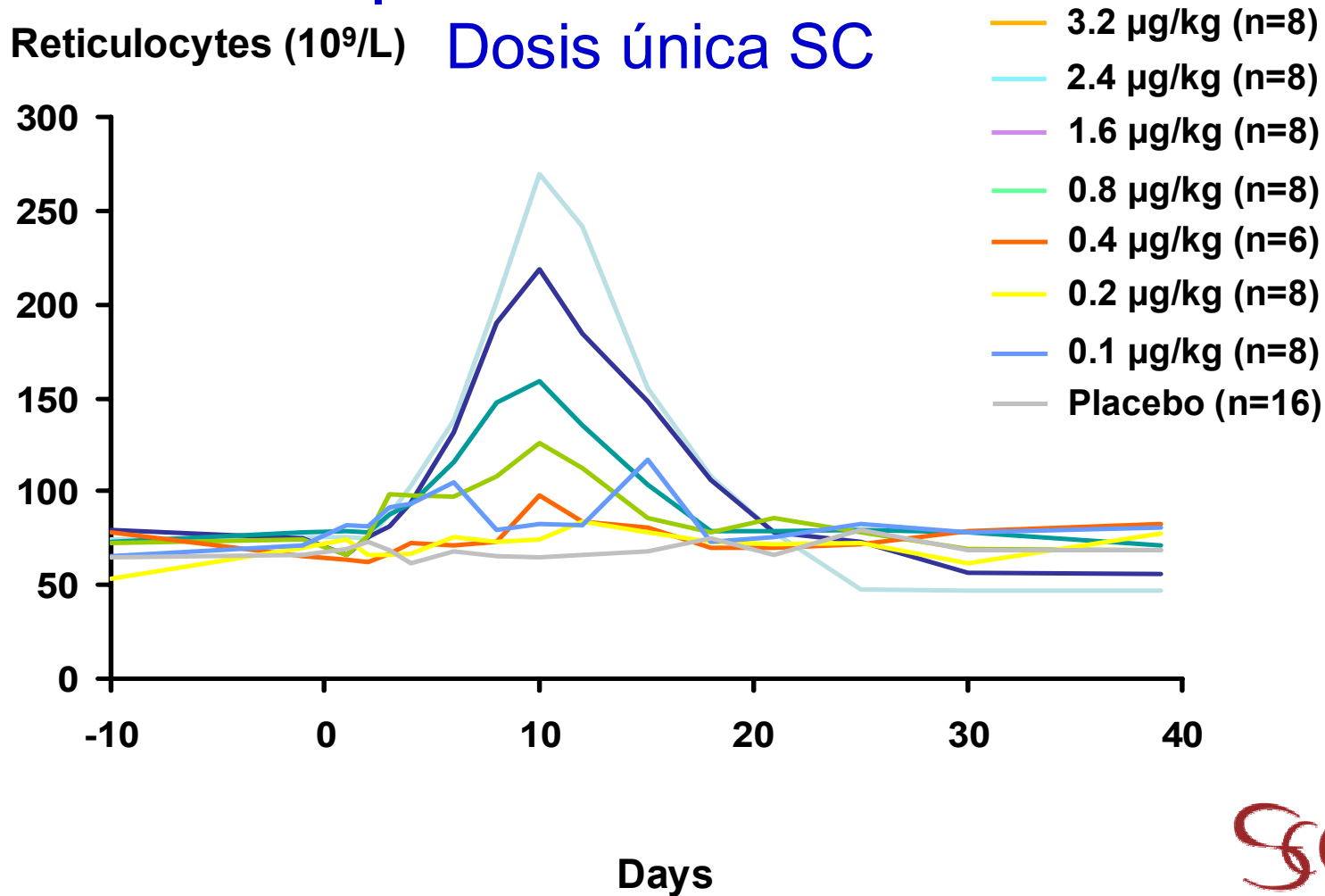


Concentración sérica admón SC cada 2 semanas





Respuesta Reticulocitos

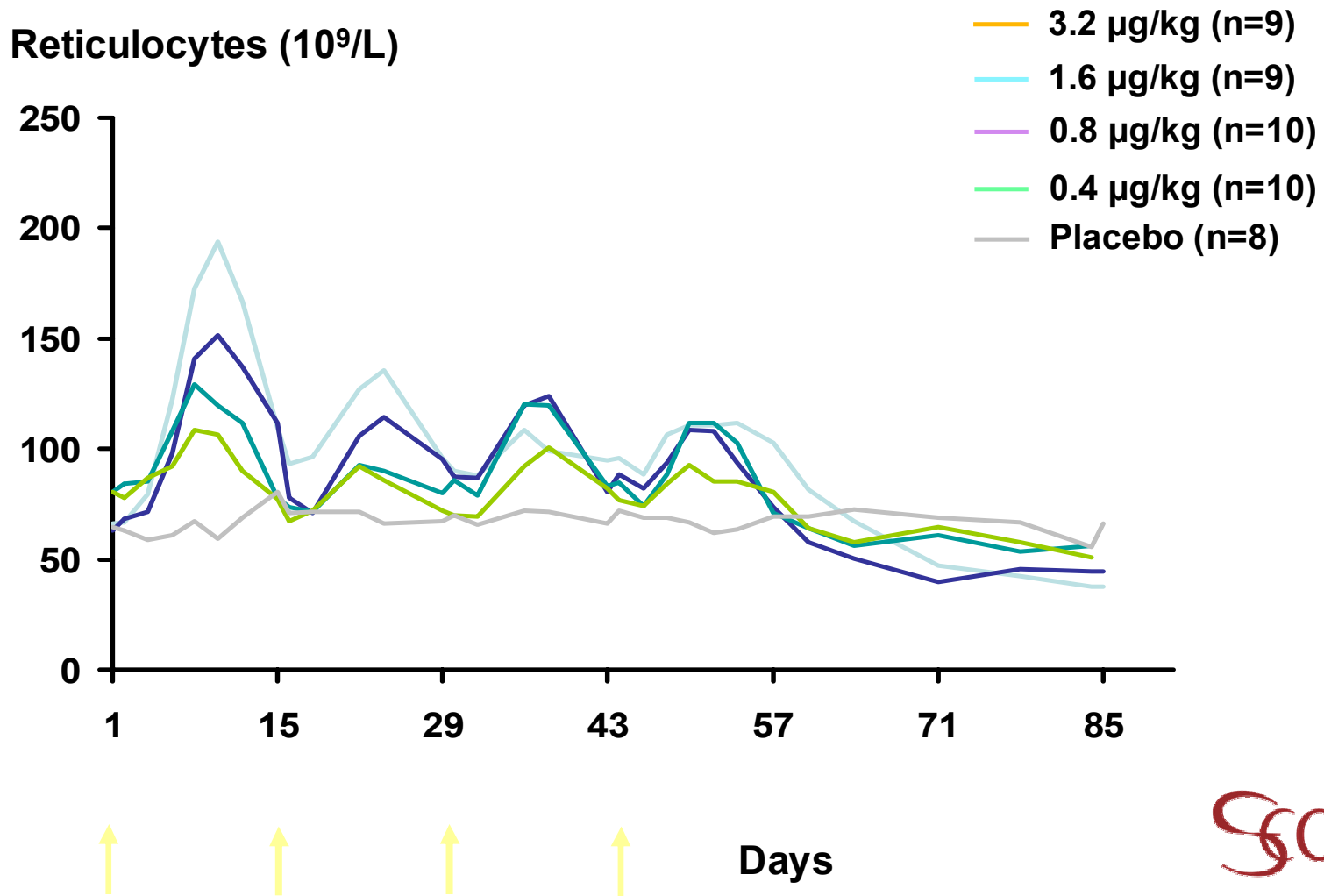


Respuesta Reticulocitos admón

I SIMPOSIO SEOM TOLEDO (JORNADAS CONTINUAS EN ONCOLOGÍA)

30 de Septiembre · 1 de Octubre 2004

repetida cada 2 s





Estimación de costes inducidos por trombopenia / Seifeldin ASCO/2000

- ❑ 411 ciclos de QT en 270 pacientes con trombopenia < 20.000 con y sin hemorragia
- ❑ Costes incluidos: hospitalización, transfusiones plaquetas, vistas urgencias, visitas programadas, fármacos, test laboratorios, otras transfusiones
- ❑ Los mayores capítulos de coste son los ingresos hospitalario y transfusiones de plaquetas
- ❑ Los costes varían entre 532\$ cuando Trombopenia 10-20.000 sin sangrado hasta 13.169\$ en caso de trombopenia < 5.000 y hemorragia



Citoquinas con actividad trombopoyética

Factores de crecimiento con actividad en etapas iniciales:

- IL-3
- Factor stem-cell
- GM-CSF

IL-1

Factores de crecimiento con actividad sobre receptores en superficie celular (gp130):

- IL-6
- IL-11
- Factor inhibidor de leucemia
- Oncostatina M



- ❑ Estudios realizados con IL-3, Factor stem-cell y GM-CSF no demuestran efecto consistente en plaquetas circulantes, con incrementos leves y con efectos secundarios relevantes
- ❑ IL-3 en Ca ovario permite la administración de multiples ciclos de CBDCA-CPA sin retraso pero sin acción sobre nadir hematológico de plaquetas



- ❑ Mecanismos de acción IL-1 sobre trombopoyesis son mal conocidos
- ❑ Probable interacción múltiple con otras citoquinas a nivel m.o.
- ❑ EC Fase I en asociación a CBDCA muestra recuperación plaquetaria más rápida en pacientes tratados con IL-1 (16 vs 23 d) y reducción transfusiones plaquetas
- ❑ 60% precisaron medidas soporte con fármacos vasoactivos y 40% con sd. capilar



- ❑ **IL-6, IL-11, Factor inhibidor de leucemia y Oncostatina M actúan sobre receptores de membrana celular (componente gp 130)**
- ❑ **Efectos inductor de trombopoyesis, inducción reactantes de fase aguda, actividad antitumoral**
- ❑ **IL-6 incrementa 180% recuento plaquetario administrada previamente a QT, acelera recuperación plaquetas circulantes pero no reduce nadir. Efectos secundarios: sd.general con fiebre, cefalea, mialgias; anemia secundaria a hemodilución (10-20% reducción hematies)**

500



- IL-11 mejor tolerancia que IL-6 con efectos secundarios más leves aunque persiste riesgo de fibrilación auricular y se aconseja monitorización 24-48 h
- Posible asociación de tto diurético
- Estudio no concordantes
- IL-11 no evidencia eficacia clínica en requerimientos transfusionales y recuperación hematológica en pacientes con tto intensificación y soporte celulas progenitoras circulantes

- IL-11 aprobada FDA para profilaxis secundaria trombocitopenia
- Definición de riesgo / criterios selección
- Análisis de coste/efectividad ?

Trombopoyetina

- ❑ Se hipotetizaba la existencia de uno o dos factores que condicionaban la maduración y proliferación de megacariocitos
- ❑ Identificación retrovirus murino v-mpl y su homólogo celular oncogen c-mpl
- ❑ Los oligodesoxinucleótidos antisentido del c-mpl inhiben formación colonias megacariocitos in vitro
- ❑ Reducción 6-15% plaquetas circulantes en ratones con deficiencia c-mpl o deficiencia para proteína Mpl



- ❑ **rHuMGDF (Recombinant human megakaryocyte growth and development factor) es una forma truncada de la proteína Mpl con idéntica actividad biológica**
- ❑ **Forma pegilada (PEG-rHuMGDF) es 10x más potente in vivo**
- ❑ **rhTPO: forma glucosilada de estructura completa de la trombopoyetina**
- ❑ **Agonista quimérico dual IL-3 y receptor para c-mpl**



□ TPO:

- Estimula diferenciación stem cell medulares en células progenitoras megacariocitos
 - Induce la expresión de marcadores de diferenciación megacariocitos
 - Promueve la proliferación y poliploidización de megacariocitos
 - Aumenta el número de plaquetas circulantes
- Tanto la molécula completa (TPO 1-353) como un péptido fragmentario incluyendo porción amino-terminal (TPO 1-155) inducen la diferenciación de stem-cell en megacariocitos e incrementan plaquetas circulantes in vivo



- ❑ La secuencia de AA amino-terminal es homóloga a la de eritropoyetina aunque actúan sobre diferentes receptores
- ❑ La TPO se une a sus células diana a través del receptor específico c-mpl
- ❑ Mecanismos de la acción intracelular de TPO son todavía parcialmente desconocidos per afectarían a la familia Jak/Stat de moléculas de señales intracelulares
- ❑ TPO producida en hígado y niveles inversamente proporcionales a plaquetas y masa de megacar.

500

Desarrollo clínico de TPO

I SIMPOSIO SEOM TOLEDO DE CUIDADOS CONTINUOS EN ONCOLOGÍA

30 de Septiembre · 1 de Octubre 2004

- ❑ EC Fase I PEG-rHuMGDF 0.3-1 mcg/kg/d, 10 d
- ❑ Incremento plaquetas circulantes 51-584% con considerable variabilidad interindividual
- ❑ Incremento 1.8x en megacariocitos m.o.
- ❑ Nivel máximo a los 7 días despues TPO
- ❑ Recuperación cifras iniciales d 22-30
- ❑ No efectos sobre leucocitos ni hematocrito





- ❑ **EC Fase I PEG-rHuMGDF 0.3-5 mcg/kg/d en asociación a G-CSF despues de CBDCA 600 mg/m² y CPA 1200 mg/m²**
- ❑ **Adelantamiento del nadir plaquetario sin modificación en su grado pero con reducción tiempo recuperación (17 vs 22 d)**
- ❑ **Estudio piloto PEG-rHuMGDF 0.3-5 mcg/kg/d en asociación a PCT 175 mg/m² y CBDCA AUC 9**
- ❑ **Reducción nadir y tiempo de recuperación. No efecto dosis/respuesta. Reducción transfusiones plaquetas 17 vs 64% en CBDCA AUC 11**



- En EC en leucemia no se evidencia efecto en intensidad y duración de trombopenia (Stone ASCO 2000)
- Resultados no homogéneos en la utilización de PEG-rHuMGDF en asociación a QT intensificación con TCGH
- Efecto tardío y prolongado en la movilización de Cels Progenitoras hematopoyéticas periféricas
- No alteraciones en función plaquetaria ni en respuesta a agentes antiagregantes
- Aparición de AC neutralizantes de PEG-rHuMGDF



CONCLUSIONES

- ❑ El area terapéutica mediante factores hematopoyéticos está introducida en la práctica clínica en Oncología
- ❑ Se han desarrollado alternativas a las moléculas iniciales en los Factores Estimulantes de Granulocitos y en los Factores Estimulantes Eritropoyéticos
- ❑ Los Factores Estimulantes Trombopoyéticos muestran un menor grado de desarrollo