

PERFILES FARMACOLÓGICOS EX VIVO DE 17 FÁRMACOS EN MÁS DE 50 MUESTRAS DE MEDULA ÓSEA DE PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE

Joan Ballesteros¹, Enrique M. Ocio², Jesús San Miguel², Albert Oriol³, Joaquín Martínez López⁴, Juan José Lahuerta⁴, Joaquín Díaz Mediavilla⁵, Alicia Bailén⁶, Raúl Córdoba⁷, María José Moreno⁸, Jesús Martín⁹, José Mariano Hernández¹⁰, Anabelle Chinae¹¹, Luis Palomera¹², Yolanda González¹³, Felipe Prósper¹⁴, Rebeca Iglesias¹⁵, Asunción Echeveste¹⁶, Miguel T. Hernández¹⁷, Cristina Encinas¹⁸, I Trocóniz¹⁹, Lidice Vidal¹, Pilar Hernandez-Campo¹, Julián Gorrochategui¹, Belén Liébana¹, Daniel Primo¹, Teresa A. Bennett¹

¹Vivia Biotech, Madrid, ²Hospital Clínico Universitario de Salamanca, Salamanca, ³Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Barcelona, ⁴Hospital Universitario Doce de Octubre, Madrid, ⁵Hospital Clínico San Carlos, Madrid, ⁶Hospital Regional Universitario Carlos Haya, Málaga, ⁷Hospital Infanta Sofía, Madrid, ⁸Hospital General Universitario Morales Meseguer, Murcia, ⁹Hospital Universitario Virgen Del Rocío, Sevilla, ¹⁰Hospital General de Segovia, Segovia, ¹¹Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, ¹²Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Zaragoza, ¹³Hospital Universitari de Girona Dr. Josep Trueta, Girona, ¹⁴Clínica Universitaria de Navarra, Navarra, ¹⁵MD Anderson Cancer Center, Madrid, ¹⁶Hospital Universitario Donostia, Donostia, ¹⁷Hospital Universitario de Canarias, Tenerife, ¹⁸Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, ¹⁹Universidad de Navarra, Navarra.

ABSTRACT

Fundamento: Somos pioneros en un método automatizado de citometría de flujo para medir el perfil farmacológico *ex vivo* de fármacos para el tratamiento del Mieloma Múltiple (MM) en muestras de pacientes, colaborando con PETHEMA.

Métodos y pacientes: Se incluyeron muestras de médula ósea de pacientes con MM de 17 hospitales de España, incubadas a 48h con 8 concentraciones de cada fármaco en la muestra total. La depleción de las células plasmáticas patológicas se determinó con anticuerpos monoclonales y AnexinaV y se analizó mediante la plataforma ExviTech®. Los parámetros de eficacia (Emax), expresada como índice de supervivencia, y potencia (EC50), como concentración de fármaco, se estimaron con modelos farmacológicos estándar.

Resultados: En la tabla 1 se muestra el perfil farmacológico *ex vivo* medio de 17 fármacos, divididos en clásicos (rosa) y novedosos (azul), así como el número de muestras testadas por fármaco. Dexametasona (DEX) y Prednisona (PRE) fueron testadas solo en 10-11 muestras pues su incubación a 48h fue insuficiente y se incrementó a 96h. Emax y EC50 se muestran en términos de media y desviación estándar y la variabilidad interpaciente (VIP), como el coeficiente de variación en porcentaje. La EC50 *ex vivo* medida no corresponde a potencia clínica de los fármacos. Entre los fármacos convencionales, Bortezomib es el que produce mayor depleción (supervivencia media 2.3%±5) con la máxima potencia (mínima EC50 0.03µM). Todos los fármacos clásicos, excepto los corticoides (DEX, PRE) muestran máxima eficacia en términos de depleción. DEX es 390 veces más potente que PRE, aunque existe un grupo de pacientes más sensible a PRE. Fármacos que detienen el ciclo celular son ordenados según su potencia media. Doxorubicina es la más potente aunque escasamente usada. Vincristina es también potente con una mayor VIP; pacientes muy sensibles podrían beneficiarse de bajas dosis, con mínima neurotoxicidad. Bendamustina es menos potente con una baja VIP sugiriendo un potencial terapéutico menor.

Todos los fármacos novedosos tienen alta eficacia, siendo los más potentes los epigenéticos: Panobinostat y Vorinostat. El primero es 48 veces más potente. Tanespimicina tiene alta potencia y una alta VIP, por lo que podría servir como diagnóstico de acompañamiento.

METHODS

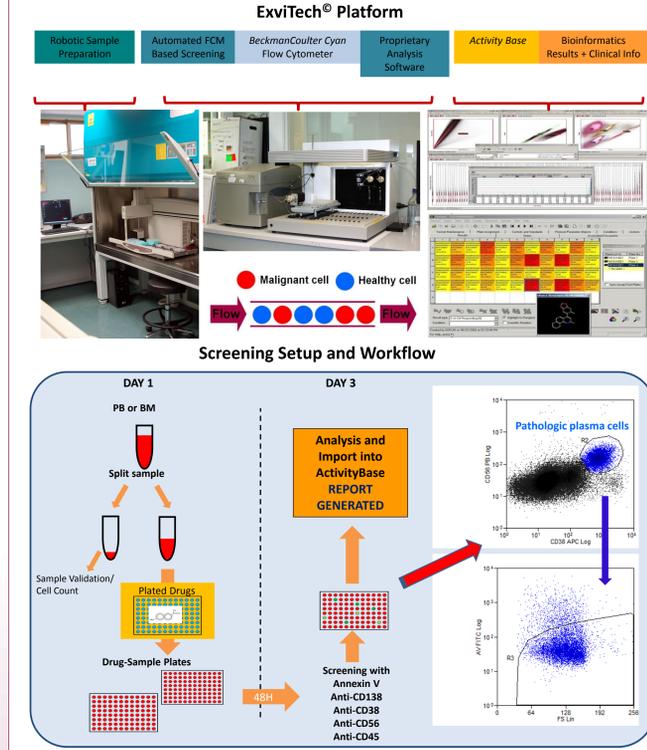


PLATE SETUP

MM Plate 1												MM Plate 2											
A	B	C	D	E	F	G	H	A	B	C	D	E	F	G	H								
DMSO 0.2%						DMSO 0.2%						DMSO 0.2%											
BORTEZOMIB 31µM						DEXAMETHASONE 150µM						DOXORUBICIN 3µM											
DEXAMETHASONE 150µM						PREDNISONA 90µM						VINCRISTIN 5µM											
PREDNISONA 90µM						BENDAMUSTINE 300µM						ETOPOSIDE 300µM											
BENDAMUSTINE 300µM						MELPHALAN 15µM						RAPAMYCIN 200µM											
MELPHALAN 15µM						CYCLOPHOSPHAMIDE 100µM						EVEROLIMUS 200µM											
CYCLOPHOSPHAMIDE 100µM												TEMSIROLIMUS 200µM											

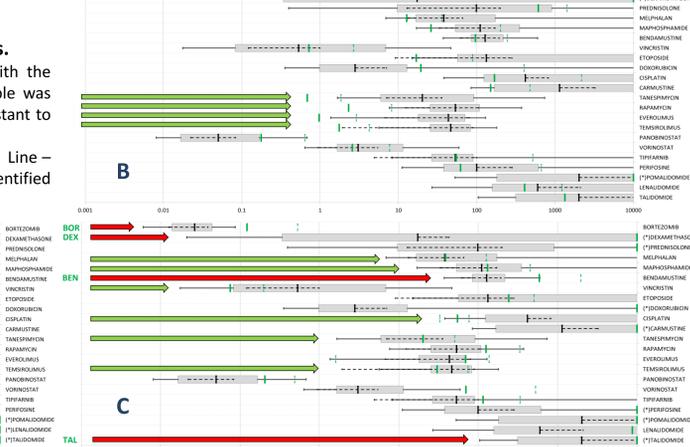
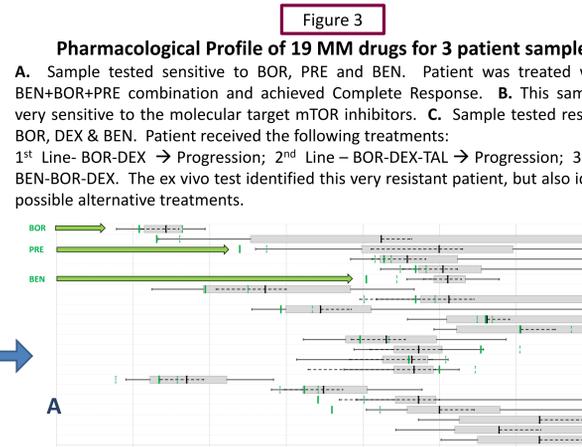
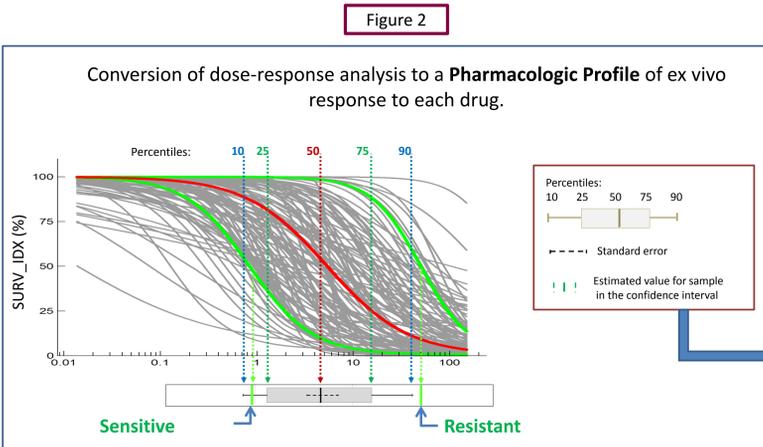
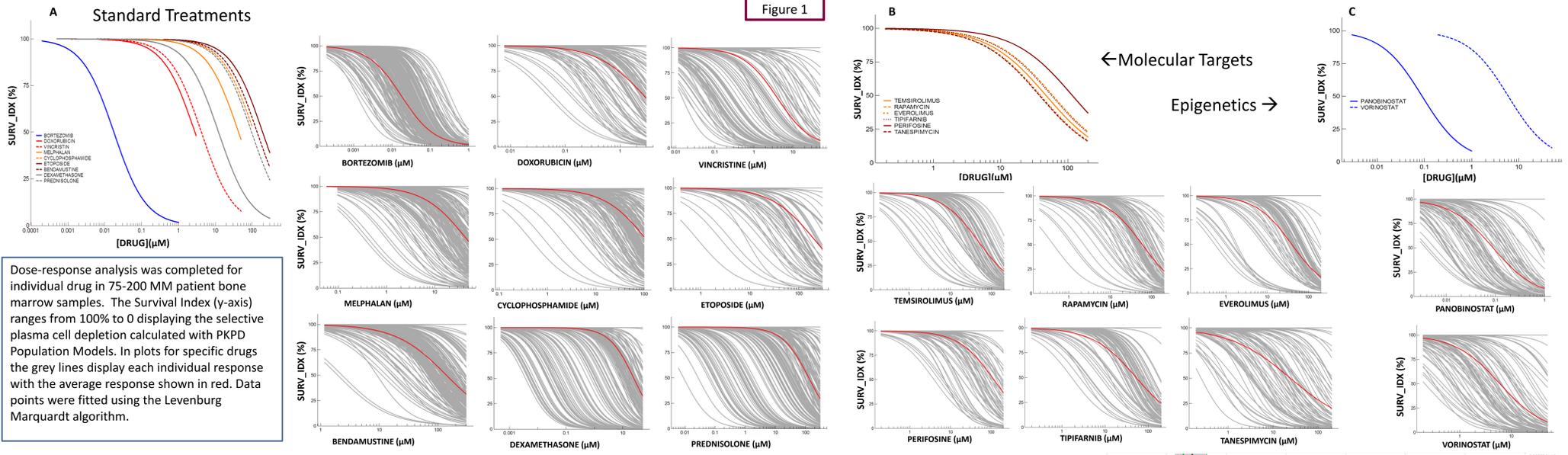
Eight concentrations of each drug or drug combination is run for the most used treatment protocols. The max concentration used of some drugs is listed.

Table 1

FÁRMACO	N	Eficacia máxima EMAX (% Supervivencia)			Potencia EC50 (µM)			Mecanismo de acción
		MEDIA	DESV.STD	VIP (%)	MEDIA	DESV.STD	VIP (%)	
BORTEZOMIB	106	2,3	5,1	223,3	0,029	0,029	99,3	Proteosoma
DOXORUBICINA	35	4,7	12,8	273,8	0,93	0,848	91,2	Interrupción ciclo celular
VINCRISTINA	47	13,9	17,4	125,1	3,212	13,743	427,9	
MELPHALAN	44	15	23,3	156	14,07	15,428	109,7	
CYCLOFOSFAMIDA	59	10,9	19,4	177,7	53,999	55,866	103,5	
ETOPOSIDO	25	11,3	17	150,4	95,302	124,998	131,2	
BENDAMUSTINA	90	1,4	5,6	390,2	118,891	65,111	54,8	Glucocorticoide
DEXAMETASONA 96h	11	37,4	16,1	43	0,038	0,039	100,8	
PREDNISONA 96h	10	34,2	22	64,5	15,654	47,212	301,6	
PANOBINOSTAT	49	5,6	11,5	203,3	0,048	0,058	120	Epigenético
VORINOSTAT	51	6,3	9,9	157,4	2,379	2,193	92,2	
TANESPIMICIN	39	7,3	12,1	164,4	12,47	24,279	194,7	Diana molecular
TEMSIROLIMUS	36	0,5	2,1	384,5	40,345	36,984	91,7	
RAPAMYCIN	31	6,2	13,7	221,8	51,575	45,934	89,1	
EVEROLIMUS	38	4,8	14,2	296,7	38,556	30,424	78,9	
TIPIFARNIB	31	3,1	7,8	256,2	35,328	29,924	84,7	
PERIFOSINA	25	11,8	20,7	175,1	38,177	64,103	167,9	

N=Número de muestras; DESV.STD=Desviación estándar; VIP: Variabilidad interindividual.

RESULTS



CONCLUSIONS

- We have developed an automated system that, in a fast and accurate way, is able to determine the ex vivo sensitivity of multiple samples to many different drugs.
- This approach could be used as a companion diagnostic to identify subsets of patients for which new treatments such as panobinostat or Tanespimycin could be effective.
- The Pharmacological Profiles could be used to personalize treatment for individual patients.
- Correlation of this ex vivo sensitivity with the clinical efficacy is currently being performed in a study under the supervision of the PETHEMA/GEM groups.

ACKNOWLEDGEMENTS

Special Thanks to the Patients and Hospitals for Providing the Samples (listed alphabetically)

- ❖ Centro Oncológico MD Anderson, MADRID
- ❖ Clínica Universidad de Navarra, PAMPLONA
- ❖ Hospital Carlos Haya, MÁLAGA
- ❖ Hospital Universitario de Canarias, TENERIFE
- ❖ Hospital Clínico San Carlos, MADRID
- ❖ Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, ZARAGOZA
- ❖ Hospital Clínico Universitario de Salamanca, SALAMANCA
- ❖ Hospital Doce de Octubre, MADRID
- ❖ Hospital de Donostia, DONOSTIA
- ❖ Hospital General de Segovia, SEGOVIA
- ❖ Hospital Germans Trias i Pujol, BARCELONA
- ❖ Hospital Gregorio Marañón, MADRID
- ❖ Hospital Infanta Sofía, MADRID
- ❖ Hospital Josep Trueta, GERONA
- ❖ Hospital Morales Meseguer, MURCIA
- ❖ Hospital Ramón y Cajal, MADRID
- ❖ Hospital Virgen del Rocío, SEVILLA

Grants supporting this work:
 Programa PRIMER Castilla y León (04/09/AS/0028)
 ADE Medicina Personalizada 2007 (04/06/SA/0009)
 Programa Reindustrialización 2011 MITYC (REI-040000-2011-777)
 Programa Torres Quevedo, MICINN
 Programa Innocorpora, MICINN