

4. BISFOSFONATI ED EFFETTO ANTINEOPLASTICO

Francesco Bertoldo, Serena Pancheri

Medicina Interna D, Policlinico "GB Rossi", Verona

Introduzione

Negli ultimi anni si sono accumulate varie evidenze, sia *in vivo* sia *in vitro*, di una possibile azione antineoplastica degli aminobisfosfonati (NBF).

Nel dettaglio gli NBF hanno dimostrato di esercitare un effetto antineoplastico indiretto attraverso la riduzione del rilascio di fattori di crescita dalla matrice ossea e di ritardare la crescita della neoplasia a livello scheletrico inibendo il riassorbimento osseo osteoclasto-mediato, azione in grado, inoltre, di rendere l'osso un microambiente meno favorevole alla colonizzazione neoplastica. A ciò si aggiungono le più recenti evidenze, che suggeriscono che gli NBF possano avere anche un effetto antineoplastico diretto [1]: questi, infatti, sono in grado di bloccare la farnesil pirofosfato sintetasi anche all'interno delle cellule neoplastiche, interrompendo così la via del mevalonato e la prenilazione proteica. Ne consegue l'inibizione di numerose funzioni cellulari, tra cui l'adesione, la migrazione, l'invasione e la proliferazione, e, in ultima analisi, l'apoptosi cellulare (*in vitro*). Potenzialmente, pertanto, se gli NBF venissero somministrati negli stadi precoci della malattia neoplastica, il processo di metastatizzazione potrebbe essere prevenuto o ridotto. Dimostrazioni di tale assunto si sono avute nel modello murino. In particolare la somministrazione di acido zoledronico nel topo ha inibito significativamente l'invasione cellulare midollare dopo inoculazione di cellule di carcinoma mammario, riducendo così la formazione spontanea di metastasi ossee o viscerali [1].

È stata inoltre esplorata in molti modelli la possibilità che la somministrazione di acido zoledronico e quella di alcuni agenti chemioterapici, quali docetaxel e doxorubicina, esercitino un effetto sinergico. In un modello murino con carcinoma mammario proprio l'associazione con doxorubicina ha dimostrato un potente effetto antineoplastico, ma solo se quest'ultima veniva somministrata prima dell'acido zoledronico [2,3], confermando per la prima volta l'effetto sinergico legato a uno schema sequenziale.

Infine vi sono dati emergenti relativi a un potenziale effetto antineoplastico degli NBF in altri possibili *pathway* cellulari. In particolare è stato dimostrato che gli NBF sono in grado di stimolare la proliferazione di un particolare *subset* di linfociti T, noti come linfociti T gamma-delta [1]. Queste cellule sono tra i principali effettori della risposta immunitaria cellulo-mediata nei confronti della patologia neoplastica ed è

quindi intuitivo che una loro espansione possa potenziare le difese immunitarie contro la neoplasia stessa. Altro ruolo importante è giocato dal potenziale antiangiogenico degli NBF: è ben noto, infatti, che la neoangiogenesi è fondamentale per la sopravvivenza delle cellule neoplastiche. Gli NBF si sono dimostrati in grado di inibire le funzioni delle cellule endoteliali vascolari *in vitro* e *in vivo* [1]. Inoltre, nel modello murino di neoplasia mammaria, hanno soppresso l'angiogenesi neoplastica bloccando la via di segnale collegata al VEGF (*vascular endothelial growth factor*) all'interno delle cellule endoteliali, inibendo così la crescita cellulare.

Nel corso degli anni 2009-2010, basandosi su questa mole di dati preclinici che evidenziano il potere antineoplastico degli NBF, sono stati condotti numerosi *trial* volti a dimostrare la loro efficacia anche nell'uomo; di seguito se ne riportano alcuni tra i più significativi.

Rassegna bibliografica

■ Terapia endocrina + acido zoledronico in pazienti affette da carcinoma mammario in pre-menopausa

Nel 2009 Gnant e coll. [4] hanno condotto un *trial* randomizzato controllato che ha esaminato gli effetti dell'aggiunta di acido zoledronico alla terapia standard in donne in pre-menopausa affette da carcinoma mammario endocrino-responsivo e prive di metastasi ossee. Sono state arruolate 1803 donne, poi randomizzate a ricevere goserelin (3,6 mg per via sottocutanea ogni 28 giorni) + tamoxifene (20 mg/*die per os*) o anastrozolo (1 mg/*die per os*) con o senza acido zoledronico (4 mg e.v. ogni 6 mesi) per 3 anni.

L'*endpoint* primario dello studio era la *disease free survival* (DFS), mentre quelli secondari erano la *recurrence free survival* (RFS), l'*overall survival* (OS) e la valutazione della massa ossea (BMD).

Le pazienti sono state seguite per un periodo medio di 47,8 mesi, in cui si sono verificati 137 eventi (decessi e riprese di malattia locoregionale o a distanza). Non sono state evidenziate differenze significative per quanto riguarda la percentuale di DFS, RFS e OS tra le pazienti trattate con anastrozolo e quelle con tamoxifene.

Molto interessante è invece il dato emerso dal confronto tra le pazienti trattate o meno con acido zoledronico. L'aggiunta di acido zoledronico, infatti, ha aumentato la DFS del 3,2%, che rappresenta una riduzione del 36% del rischio di progressione di malattia a un *follow-up* medio di 47,8 mesi ($p=0,01$). Inoltre ha determinato un miglioramento significativo anche della RFS, con una differenza assoluta tra le due popolazioni del 3,2%, corrispondente a una riduzione del rischio di ripresa di malattia del 36% (HR 0,64; IC 95% 0,46-0,91; $p=0,01$). Infine le pazienti trattate con acido zoledronico sono state interessate da un minor numero di eventi in tutte le categorie, comprese la ripresa di malattia locoregionale e a distanza, la comparsa di metastasi ossee e la ripresa di malattia nella mammella controlaterale.

Per quanto riguarda gli eventi avversi gravi, non si sono riscontrate differenze significative tra le pazienti trattate o meno con acido zoledronico.

Commento

Questo *trial* è la prima dimostrazione *in vivo* su un consistente numero di pazienti del possibile effetto antineoplastico dell'acido zoledronico.

I risultati emersi evidenziano chiaramente che l'aggiunta di acido zoledronico alla terapia adiuvante standard del carcinoma mammario endocrino-responsivo *early stage* risulta significativamente vantaggiosa in termini di DFS e RFS. Il *number needed to treat* per evitare la progressione di malattia in 1 paziente è di 31 nel gruppo di pazienti trattate con acido zoledronico. Il vantaggio ottenuto con l'aggiunta di acido zoledronico alla terapia è paragonabile a quello riscontrato con altri chemioterapici (paclitaxel, docetaxel), che hanno portato a una netta variazione nei recenti regimi terapeutici standard per il carcinoma mammario in popolazioni a medesimo rischio.

I risultati di questo studio vanno inoltre a confermare e rafforzare i dati emersi da altri *trial* condotti *in vivo*, in particolare l'analisi integrata dello Zometa-Femara Adjuvant Synergy Trial (ZO-FAST) [5]. Quest'ultimo è uno studio clinico randomizzato controllato che ha arruolato 2193 donne in post-menopausa affette da carcinoma mammario in terapia con letrozolo. Le pazienti sono state randomizzate a ricevere trattamento con acido zoledronico 4 mg e.v. ogni 6 mesi o immediatamente all'inizio della terapia con letrozolo oppure quando il loro *T-score* scendeva al di sotto di -2 DS. Il *follow-up* medio è stato di 36 mesi. Nelle pazienti trattate immediatamente si è riscontrato un aumento significativo del tempo di ricomparsa di malattia e di conseguenza un incremento della DFS (HR 0,588; $p=0,003$) (Figura 1).

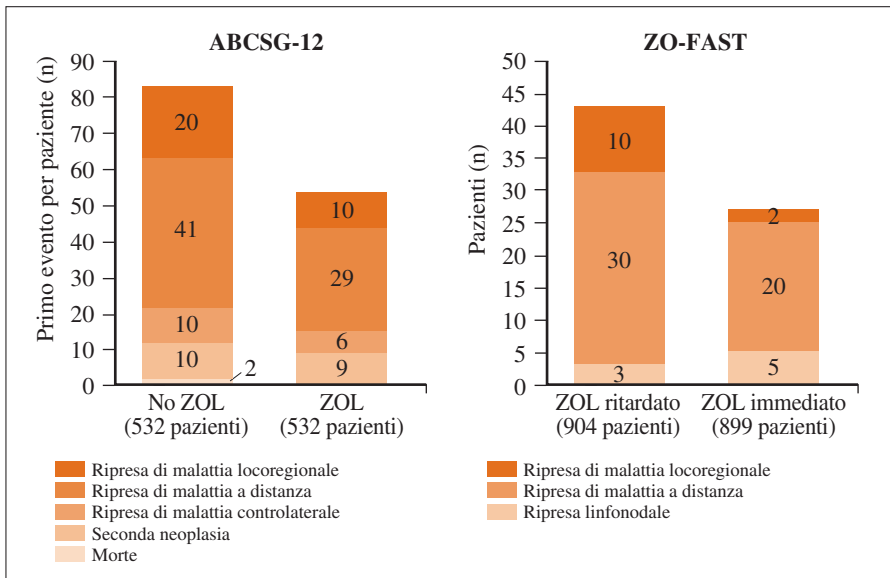


Figura 1. Riassunto dei risultati degli studi ABCSG-12 [4] e ZO-FAST [5] che valutano la terapia endocrina associata o meno alla somministrazione di acido zoledronico (4 mg ogni 6 mesi). In entrambi gli studi il trattamento con acido zoledronico è stato associato a una riduzione del rischio di ripresa di malattia locoregionale e a distanza

Il motivo per cui l'acido zoledronico accresce significativamente l'intervallo libero da malattia in questi *trial* non è ancora del tutto chiarito. È verosimile che la terapia abbia reso l'osso un ambiente meno favorevole alla colonizzazione da parte delle cellule neoplastiche bloccando il rilascio di fattori di crescita dalla matrice ossea. È tuttavia anche ipotizzabile che zoledronato abbia interferito con i processi angiogenetici alterando le normali funzioni cellulari delle cellule progenitrici endoteliali presenti nel midollo osseo o, infine, che la terapia possa interferire con i sistemi di ancoraggio della cellula neoplastica all'interno della nicchia midollare ossea.

Qualunque sia il meccanismo alla base dei dati rilevati, questi *trial* dimostrano per la prima volta un possibile effetto antineoplastico della terapia con acido zoledronico nell'uomo.

■ Associazione tra uso di bisfosfonati orali e riduzione del rischio di carcinoma mammario

Questa associazione è stata indagata in 3 studi pubblicati nel corso del 2010 e presentati a seguire.

Newcomb e coll. [6] hanno condotto uno studio caso-controllo che ha incluso 2936 pazienti affette da carcinoma mammario e 2975 controlli. Sono stati raccolti dati riguardanti l'uso di bisfosfonati, il tipo di farmaco assunto, la durata della terapia, la storia di fratture, la diagnosi di osteoporosi, eventuali variazioni di altezza e vari fattori di rischio per carcinoma mammario. Lo studio ha dimostrato che il rischio relativo per carcinoma mammario nelle donne trattate con bisfosfonati rispetto a quelle che non li avevano mai assunti era pari a 0,67 (IC 95% 0,51-0,89) e che un'assunzione prolungata (>25 mesi) era associata a una superiore riduzione del rischio relativo ($p=0,01$).

Il Breast Cancer in Northern Israel Study, condotto da Rennert e coll. [7], è invece uno studio caso-controllo condotto su 4039 donne in post-menopausa. Per ogni paziente sono stati registrati l'utilizzo e la dose del bisfosfonato e vari fattori di rischio per osteoporosi e carcinoma mammario. I risultati emersi hanno permesso di evidenziare una significativa riduzione del rischio di carcinoma mammario nelle pazienti che avevano assunto bisfosfonati, alle quali era associato un rischio relativo di 0,72 (IC 95% 0,57-0,90). È stata inoltre dimostrata un'associazione negativa tra durata della terapia e rischio di carcinoma mammario dopo 1 anno di utilizzo del bisfosfonato, senza ulteriori variazioni significative con l'aumentare degli anni di terapia.

Questa associazione tra riduzione del rischio di carcinoma mammario e utilizzo di bisfosfonati permaneva significativa anche dopo correzione per età, familiarità, *body mass index* (BMI), assunzione di calcio, ricorso a terapia ormonale sostitutiva e altri fattori di rischio.

Inoltre, le neoplasie mammarie identificate nelle donne che assumevano bisfosfonati erano caratterizzate da *marker* prognostici migliori, come evidenziato da un numero superiore di neoplasie positive per il recettore per gli estrogeni e una proporzione inferiore di tumori scarsamente differenziati (tali dati non raggiungevano la significatività statistica). Da quanto osservato gli autori concludono che l'utilizzo di bisfosfonati per più di 1 anno è associato a una riduzione del rischio relativo di svi-

luppare carcinoma mammario pari al 28% e che i tumori sviluppatasi nelle pazienti trattate con bisfosfonati tendono ad avere un profilo prognostico più favorevole.

Lo studio di Chlebowski e coll. [8] è caratterizzato da una numerosità superiore agli studi precedenti, infatti è stato condotto su una coorte di 154.768 pazienti arruolate nella Women's Health Initiative (WHI). Queste pazienti sono state intervistate in merito all'utilizzo di bisfosfonati (tipo, dose e durata): 2819 avevano assunto bisfosfonati *per os* (52,5% per meno di 1 anno, 37,1% per 1-3 anni, 10,4% per più di 3 anni).

A 5156 donne della popolazione totale è stato diagnosticato un carcinoma mammario, mentre a 1120 donne un carcinoma duttale *in situ*. Un'analisi aggiustata per età ha evidenziato che l'incidenza di neoplasia mammaria invasiva era inferiore del 31% nelle donne che assumevano bisfosfonati, mentre nel modello di analisi multivariata la riduzione di tale incidenza era pari a 32% (HR 0,68; IC 95% 0,52-0,88; $p < 0,01$).

Anche l'incidenza di neoplasia ER-positiva appariva inferiore (del 30%; HR 0,70; IC 95% 0,52-0,94; $p=0,02$) nelle donne che assumevano bisfosfonati. Non sono invece state evidenziate differenze significative relativamente a stadio e grado della neoplasia. Infine la mortalità dovuta a carcinoma mammario era più bassa nelle utilizzatrici di bisfosfonati (1,02 morti/10.000/anno) *vs* non utilizzatrici (2,13 morti/10.000/anno). Gli autori dello studio concludono che l'utilizzo di bisfosfonati orali è associato a una riduzione significativa dell'incidenza di carcinoma mammario invasivo, suggerendo che tali principi farmacologici possano esercitare effetti inibitori sulla neoplasia mammaria (Tabella 1).

Tabella 1. Bisfosfonati e incidenza di carcinoma mammario: studi a confronto

Autore	Numero di pazienti (% utilizzo BP)	Numero di controlli (% utilizzo BP)	Associazione con carcinoma mammario
Newcomb [6]	2936 (4,4%)	2975 (6,2%)	OR 0,67 (0,51-0,89)
Rennert [7]	1822 (10,5%)	2207 (14,8%)	OR 0,72 (0,57-0,90)
Chlebowski [8]	154.768 totali (1,8%) 5156 con carcinoma mammario		HR 0,68 (0,52-0,88)

BP= bisfosfonati; OR=*odds ratio*; HR=*hazard ratio*

Commento

Gli studi osservazionali che esaminano l'utilizzo dei bisfosfonati e il rischio di carcinoma mammario presentano un fattore confondente cruciale. I bisfosfonati, infatti, vengono somministrati a donne con perdita di massa ossea, cioè a donne che presentano verosimilmente un'esposizione cumulativa agli estrogeni ridotta e, di conseguenza, un rischio di sviluppare carcinoma mammario ridotto. Ne discende che per avere un dato significativo è importante poter conoscere le differenze in termini di

massa ossea tra le pazienti che assumevano bisfosfonati e quelle che non li assumevano. Nello studio di Newcomb i dati sono stati corretti per il BMI e per l'utilizzo di ormoni dopo la menopausa. Inoltre, per rilevare potenziali differenze nella BMD, sono state eseguite correzioni per altezza e diagnosi pregressa di osteoporosi. Tuttavia questi due parametri non sono surrogati ideali per la BMD in quanto la perdita di altezza è in genere un riscontro tardivo e la diagnosi di osteoporosi non fornisce alcuna informazione sulla BMD in donne che non si sono sottoposte a tale valutazione.

Nello studio di Rennert non sono state effettuate correzioni per potenziali differenze di BMD, mentre quello correlato alla WHI ha raccolto dati sulla BMD femorale in un *subset* di pazienti e dati utili a determinare uno *score* predittivo di rischio di frattura di femore in tutte le pazienti. L'algoritmo impiegato per il calcolo di tale *score*, validato e pubblicato [9], ha fornito un risultato altamente correlato ai valori di BMD. I dati dello studio sono stati quindi corretti per potenziali differenze di BMD.

Al di là della qualità analitica dei dati e della possibilità di correzione per tutti i possibili fattori confondenti, questi 3 studi osservazionali portano a risultati decisamente simili, cioè a una riduzione del 30% circa del rischio di sviluppare neoplasia mammaria nelle pazienti che assumono bisfosfonati orali per il trattamento dell'osteoporosi. Questi dati potrebbero configurarsi quale ulteriore prova di un effetto antineoplastico (diretto o indiretto) dei bisfosfonati, tuttavia sono necessarie ulteriori conferme da studi clinici randomizzati controllati. Infine il dato più interessante emerge forse dallo studio correlato alla WHI, che suggerisce che l'utilizzo dei bisfosfonati orali potrebbe ridurre anche il rischio di sviluppare carcinoma mammario ormono-negativo. Tale riscontro, se confermato, è di importanza cruciale in quanto i farmaci principali impiegati finora per il carcinoma mammario, quali tamoxifene e raloxifene, sono efficaci solamente nei carcinomi ormono-sensibili, mentre non possiedono alcuna influenza sulla riduzione del rischio di sviluppare carcinoma mammario ormono-negativo [10].

■ **Effetto dei bisfosfonati sulla sopravvivenza nel mieloma multiplo: confronto tra acido zoledronico e acido clodronico**

Morgan e coll. [11] hanno condotto un *trial* clinico randomizzato controllato che ha arruolato 1970 pazienti affetti da mieloma multiplo. Tali pazienti sono stati randomizzati a ricevere, oltre alla chemioterapia standard, terapia con acido zoledronico 4 mg e.v. ogni 4 settimane o clodronato 1600 mg *per os* al giorno, che veniva mantenuta sino alla progressione di malattia. Gli *endpoint* primari dello studio erano l'*overall survival* (OS), la *progression-free survival* (PFS) e l'*overall response rate* (ORR) e il *follow-up* medio è stato di 3,7 anni. Il trattamento con acido zoledronico ha ridotto la mortalità del 16% rispetto a clodronato (HR 0,84; IC 95% 0,74-0,96; p=0,0118) e aumentato l'OS di 5,5 mesi (50 mesi *vs* 44,5; p=0,04) e la PFS del 12% (HR 0,88; IC 95% 0,80-0,98; p=0,0179). Entrambi i trattamenti sono stati ben tollerati, con un'incidenza simile di insufficienza renale acuta ed eventi avversi gravi, tuttavia l'acido zoledronico è stato associato a un rischio maggiore di sviluppare osteonecrosi della mandibola (4% *vs* <1%). Gli autori affermano quindi che vi è evidenza di un aumen-

to significativo della OS indipendentemente dalla prevenzione degli eventi scheletrici correlati, riscontro che dimostra che la terapia con acido zoledronico possiede dei benefici clinici che vanno oltre la cosiddetta *bone health*.

Commento

I dati che emergono da questo studio sono forse i più interessanti. Infatti vi si documenta per la prima volta un aumento significativo della sopravvivenza dovuto alla terapia con acido zoledronico in pazienti affetti da mieloma multiplo. Inoltre è importante sottolineare che lo studio ha previsto un confronto non *vs* placebo, bensì *vs* clodronato, pertanto l'efficacia dell'acido zoledronico è risultata significativa anche nei confronti di un altro bisfosfonato. I pazienti trattati con acido zoledronico sono stati interessati da un numero significativamente inferiore di eventi scheletrici (SRE) rispetto a quelli trattati con clodronato (27% *vs* 35%; $p=0,0004$), pertanto è stato necessario correggere i dati di sopravvivenza per gli SRE al fine di verificare se l'aumento della sopravvivenza fosse legato proprio a un minore rischio di tali eventi.

È estremamente interessante sottolineare che i dati relativi alla sopravvivenza sono risultati significativi anche dopo correzione per gli SRE (HR 0,85; IC 95% 0,74-0,97; $p=0,018$ per acido zoledronico *vs* clodronato), confermandosi altamente indicativi di un ruolo esercitato dall'acido zoledronico che va al di là della *bone health* (Figura 2).

Gli autori hanno inoltre effettuato una subanalisi dei dati a 4 mesi dall'inizio della terapia e già dopo un intervallo di tempo così breve si è potuto riscontrare che sia l'OS sia la PFS risultavano significativamente migliori nel gruppo trattato con acido zoledronico. Questo dato potrebbe quindi suggerire un vantaggio dell'utilizzo precoce

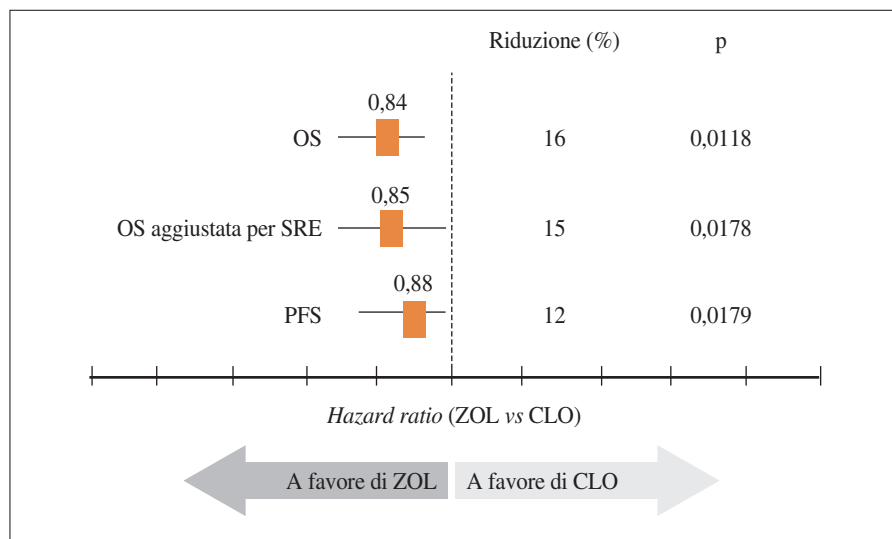


Figura 2. Hazard ratio per overall survival (OS), OS corretta per eventi scheletrici (SRE), progression free survival (PFS) per acido zoledronico (ZOL) *vs* clodronato (CLO) durante l'intero periodo di *follow-up* in pazienti affetti da carcinoma mammario [11]

della terapia con acido zoledronico, in linea con quanto suggerito anche dallo ZO-FAST di cui si è parlato più sopra. Infine questo studio concentra l'attenzione su un problema non ancora risolto della terapia con NBF in pazienti metastatici o affetti da mieloma multiplo: la durata della terapia stessa. Nel lavoro, infatti, la terapia veniva protratta fino a progressione di malattia e i vantaggi in termini di OS e PFS si mantenevano per tutta la durata del *follow-up* (circa 5 anni). Questo dato sembrerebbe quindi suggerire la necessità di protrarre la terapia almeno fino a evidente progressione della malattia mielomatosa o a scadimento del *performance status*. Le principali linee guida [12,13] oggi disponibili si rivelano purtroppo inconsistenti relativamente a questo dato, pertanto saranno verosimilmente necessari ulteriori *trial* disegnati *ad hoc* per definire al meglio questa annosa problematica.

Bibliografia

1. Stresing V, Daubinè F, Benzaid I et al (2007) Bisphosphonates in cancer therapy. *Cancer Lett* 257:16-35
2. Ottewill PD, Deux B, Monkkonen H et al (2008) Differential effect of doxorubicin and zoledronic acid on intraosseous versus extraosseous breast tumor growth in vivo. *Clin Cancer Res* 14:4658-4666
3. Ottewill PD, Monkkonen H, Jones M et al (2008) Antitumor effects of doxorubicin followed by zoledronic acid in a mouse model of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 100:1167-1178
4. Gnant M, Milneritsch B, Schipping W et al (2009) Endocrine therapy plus zoledronic acid in premenopausal breast cancer. *N Engl J Med* 360:679-691
5. Eidtmann H, Bundred NJ, DeBoer R et al (2009) The effect of zoledronic acid on aromatase inhibitor associated bone loss in postmenopausal women with early breast cancer receiving adjuvant letrozole: 36 months follow-up of ZO-FAST. *Cancer Res* 69 [Suppl. 1]:74s
6. Newcomb PA, Trentham-Dietz A, Hampton JM (2010) Bisphosphonates for osteoporosis treatment are associated with reduced breast cancer risk. *Br J Cancer* 102:799-802
7. Rennert G, Pinchev M, Rennert HS (2010) Use of bisphosphonates and risk of postmenopausal breast cancer. *J Clin Oncol* 28:3577-3581
8. Chlebowski RT, Chen Z, Cauley JA et al (2010) Oral bisphosphonate use and breast cancer incidence in postmenopausal women. *J Clin Oncol* 28:3582-3590
9. Robbins J, Aragaki AK, Kooperberg C et al (2007) Factors associated with 5-years risk of hip fracture in postmenopausal women. *JAMA* 298:2389-2398
10. Visvanathan K, Chlebowski RT, Hurley P et al (2009) American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update on the use of pharmacologic interventions including tamoxifen, raloxifene, and aromatase inhibition for breast cancer risk reduction. *J Clin Oncol* 27:3235-3258
11. Morgan GJ, Davies EF, Gregory W et al (2010) First line treatment with zoledronic acid as compared with clodronic acid in multiple myeloma (MRC Myeloma IX): a randomized controlled trial. *Lancet* 376:1989-1999
12. Terpos E, Sezer O, Croucher PI et al (2009) The use of bisphosphonates in multiple myeloma: recommendations of an expert panel on behalf of the European Myeloma Network. *Ann Oncol* 20:1303-1317
13. Kyle RA, Yee GC, Sommerfield MR et al (2007) American Society of Clinical Oncology 2007 clinical practice guideline update on the role of bisphosphonates in multiple myeloma. *J Clin Oncol* 25:2464-2472