

Il Metodo Di Bella (DBM) nel trattamento delle neoplasie prostatiche: un report retrospettivo preliminare di 16 pazienti e revisione della letteratura

ABSTRACT

Scopo: Valutare la risposta obiettiva e la sicurezza della somministrazione combinata di Somatostatina, Melatonina, retinoidi, Vitamina D₃, agonisti dopaminergici e bassi dosi di ciclofosfamide associati al blocco ormonale su pazienti con diagnosi istologica di adenocarcinoma (Pac)

Materiali e Metodi: E' stata retrospettivamente visionata la documentazione clinica di 30 pazienti con adenocarcinoma prostatico non invasivo e metastatico giunti presso la Fondazione; ai quali è stato somministrato il trattamento multimodale di prima linea.

Risultati: 16 pazienti hanno soddisfatto i criteri di valutazione. Età mediana di 64 anni. Stadio della malattia: 8 pazienti (50%) in stadio II. Per lo stadio di malattia disseminata (Stadio IV), ossa e linfonodi costituivano le sedi metastatiche. Complessivamente, è stata osservata una risposta obiettiva globale (OR) [Risposta completa (CR) + Risposta Parziale (PR)] nel 69 % dei pazienti, con un 80 % di beneficio clinico obiettivo [CR+PR+SD] (Table 3). *Per quanto concerne il gruppo di malattia locale*, è stata riscontrata una risposta obiettiva OR nell' 87,5 % dei pazienti (7 casi; 53-98; 95% IC), con CR nel 62,5 % dei casi (5 casi, 31-86; 95% CI). Per i pazienti con malattia metastatica, la OR è stata del 50 % (4 casi; 21-78; 95% CI), con una CR nel 20% dei casi (2 casi) e 75 % di beneficio clinico.

Conclusioni: Il presente studio preliminare mostra come i pazienti affetti da forme precoci e disseminate di adenocarcinoma, se non precedentemente trattate da approcci chirurgici e/o chemio-radioterapici, possono avere un più che positivo beneficio clinico con il protocollo che il MDB prevede in queste neoplasie. Ulteriori studi clinici sono fortemente raccomandati

Key Words: Prostate Cancer, somatostatin/octreotide; melatonin;retinoids; vitamines E, D3, C; Bromocriptin; Cabergoline, androgen deprivation

INTRODUZIONE

Le principali strategie terapeutiche per la cura del tumore della prostata si avvalgono essenzialmente dell'utilizzo della chirurgia (*laparoscopia e/o prostatectomia*), della chemioterapia e dell'impiego di radiazioni (*external beam radiation e/o brachiterapia LDR e HDR, IMRT*), sovente associati alla ormono-terapia (LH-RH agonisti, antiandrogeni). Sebbene questi trattamenti abbiano ottenuto risultati discreti in termini di sopravvivenza, l'efficacia antitumorale non raramente risulta limitata a remissioni, mentre le guarigioni reali, stabili, sono sensibilmente più ridotte. Ciò è dovuto principalmente per l'elevata eterogeneità clonale del tumore che conferisce una minore responsività ai trattamenti; nonchè per la complessità dei segnali cellulari, anche a seguito della introduzione di nuove molecole antitumorali introdotte nell'ultima decade. Infatti, dato che lo spegnimento di un solo fattore causale (come l'androgeno), o di un unico target per mezzo di singoli anticorpi monoclonali di ultima generazione non può ovviamente eradicare una complessa patologia multifattoriale come il cancro, sono recentemente valorizzati e applicati alcuni meccanismi concetti della strategia del Metodo Di Bella (*Di Bella Method, MDB*) tra i quali l'uso combinato di molteplici agenti a "bersaglio molecolare". Stanno incrementandosi le ricerche che confermano le basi biochimiche e le risposte cliniche di tali concetti terapeutici. Tra questi, specialmente nella ricerca di base, sta emergendo con chiara e assoluta evidenza il cruciale ruolo oncogeno ubiquitario e interattivo dell'ormone della crescita (GH) e della Prolattina (PRL), in ogni neoplasia. Questi increti ipofisari intervengono pertanto anche sullo sviluppo e nel differenziamento delle neoplasie prostatiche. Studi preclinici e clinici confermano e valorizzano l'impiego dei rispettivi inibitori della crescita neoplastica documentando ampi benefici in termini di risposta e sicurezza/tollerabilità. Nel presente studio si riportano i risultati preliminari relativi alla somministrazione di molecole biologiche del MDB su 20 pazienti affetti da neoplasia prostatica locale e metastatica

MATERIALI E METODI

Criteri di Scelta del Paziente. Sono stati valutati esclusivamente i pazienti con una diagnosi di carcinoma prostatico e con le caratteristiche di malattia misurabile in accordo con il RECIST. Tutti i pazienti, dopo consenso informato, hanno accettato la somministrazione del trattamento biologico come terapia di prima linea.

Il campione di pazienti sopra-menzionato è stato altresì suddiviso in due gruppi:

Gruppo A: pazienti in stadio di Ca prostatico locale/non invasivo (Stadio II: pT₂, N₀, M₀)

Gruppo B: pazienti in stadio di Ca prostata metastatico (Stadio IV: qualunque pT, qualunque N, M₁)

Trattamento. Tutti pazienti hanno ricevuto una combinazione giornaliera di Somatostatina (SST), Melatonina (ML), Retinoidi solubilizzati in Alfa Tocoferile Acetato, agonisti dopaminergici, inibitori androgenici e dosaggi minimali di ciclofosfamide. Nel dettaglio, sono state somministrate nelle seguenti modalità: soluzione di acido retinoico tutto trans (ATRA, 1543488.372 UI), axeroftolo palmitato (909000 UI), betacarotene (3334000 UI) in alfa tocoferile acetato (1000000 UI), in rapporto stechiometrico di 1:1:4:2; dosaggio graduale; in concomitanza con diidrotachisterolo (colecalfiferolo-Vit.D₃, ATITEN[®]; 15200 UI). Somatostatina: somministrazione scalare; 1 mg nella prima settimana, incrementando di 1 mg ogni settimana fino a 3 mg al 21° giorno di trattamento. Tetracosactide (Synachten[®] - ACTH di sintesi) con monitoraggio frequente di pressione e glicemia; 0,25 mg 2 volte la settimana intramuscolo; octreotide LAR (a lento rilascio) da 20 mg ogni mese intramuscolo; melatonina da 5 mg *per os*: 10 mg distribuiti al mattino, a mezzodì, la sera ai pasti e 40 mg prima di coricarsi (dosaggio giornaliero complessivo = 70 mg); Cabergolina (Parlodel[®]) 0,25 mg *per os* a mezzodì (mezza compressa da 0,5 mg) 2 volte la settimana; Bromocriptina[®] (2,5 mg) *per os* compressa mattino e sera; Ciclofosfamide[®] (50 mg) *per os*, dosaggio graduale: iniziare con 1 compressa al dì, dopo una settimana 1 mattino e sera; Acido Ascorbico (Vit C) *per os*, dosaggio graduale: 1/2 cucchiaino (40000 UI) in un bicchiere d'acqua mezzodì e sera durante il pasto con 500 mg di calcio-ione nello stesso bicchiere; Taurina (500 mg) una capsula mattino e sera; Condroitinsolfato (500 mg) una capsula mattino mezzodì e sera ai pasti; Intrafer[®] 20 gocce al pasto principale; Calciolevofolinato 22 mg una cps al giorno. Maggiori dettagli inerenti alle modalità di somministrazione, concentrazioni e rispettive posologie sono illustrati nella tabella (Tab5).

Valutazione della risposta al trattamento delle lesioni target (Efficacia): Metodi Statistici e Analitici: criteri di valutazione alla risposta obiettiva fanno riferimento alle linee guida adottate dalla World Health Organization (*WHO handbook*) e dai tassi di risposta *Response Evaluation Criteria In Solid Tumors* (Patrick T et al, 2000). Questi sono classificati in: Risposta Globale (**OR**); Risposta Completa (**CR**); Risposta Parziale (**PR**); Malattia Progressiva (**P**); Malattia Stabile (**SD**), espressi come frequenza assoluta (n), relativa (%), ed intervallo di confidenza del 95% (95% CI).

Valutazione della Sicurezza e della Tossicità. Per la valutazione della tossicità sono stati considerati esclusivamente gli eventi avversi potenzialmente correlabili al trattamento (gradi di correlazione: *possibile, probabile o certo*, espressi come frequenza assoluta (n), relativa (%), ed intervallo di confidenza (CI) al 95%).

Questo studio è stato condotto in accordo con le direttive stabilite dalla *Dichiarazione di Helsinki*. Tutti i pazienti hanno pertanto dato il proprio consenso informato per la raccolta e supervisione dei dati clinici.

RISULTATI

E' stato somministrato il MDB come trattamento di prima linea su un totale di 30 pazienti giunti presso la nostra Fondazione per un periodo di oltre 5 anni. I pazienti sono stati monitorati dal 2009 al 2012 (mediana di follow-up di 16 mesi, min 5, max 37). Di questi, 16 hanno rispettato i criteri di eleggibilità ed è stata pertanto retrospettivamente visionata la documentazione. Per quanto concerne i pazienti esclusi (14), 8 di questi non erano in possesso di alcuna diagnosi istologica mentre 6 pazienti non hanno seguito il regime in maniera continua (vedi Diagramma di flusso). La tabella 1 mostra le caratteristiche cliniche dei pazienti al momento della prima visita: età mediana di 64 anni (range 40-74 anni), stadio della malattia= grado 6 e 7 (gleason Score) nel 37.5 % e 62.5% rispettivamente. Il principale istotipo delle lesioni primarie è stato *Adenocarcinoma prostatico* (Pca) mentre ossa e linfonodi costituivano le principali sedi metastatiche. Complessivamente, è stata osservata una risposta obiettiva globale (OR) [Risposta completa (CR) + Risposta Parziale (PR)] nel 69% dei pazienti (11 Casi, 44-86; 95% IC), con una Risposta Completa pari al 44 % (7 casi; 23-67; 95% CI). In aggiunta, l' 87.,5 % (14 casi; 57-93; 95% CI) dei pazienti ha ottenuto un beneficio clinico obiettivo [CR+PR+SD] (Table 3). *Gruppo A (Early Prostate Cancer, T2, MDB first line, N_A= 8)*. E' stato riscontrata una risposta obiettiva OR (CR+PR) nel 87,5 % dei pazienti (7 casi; 41-93; % CI), con una CR nel 62.5 % dei casi (n=5, 21-79; 95% IC). *Gruppo B (Metastatic Prostate Carcinoma, T2, MDB second Line, N_B=8)*. Per i pazienti in stato di malattia metastatica, la OR (CR + PR) è stata del 50 % (4 casi; 22-79; 95% CI) dei pazienti, con una CR nel 25% dei casi (2 casi, 7-59; 95% IC). Sei (6) pazienti (75 %) ha ottenuto un beneficio clinico [CR+PR+SD].

Valutazione della sicurezza

I fenomeni transitori più frequenti di tossicità (grado II) sono stati i seguenti:

Tossicità ematologia (leucopenia leggera 61.5 %), tossicità gastrointestinale (Nausea, 30%), e stanchezza (8%). Una riduzione, sospensione o discontinuità del trattamento a causa di tossicità si è resa necessaria in pazienti con leucopenia (sospensione della ciclofosfamida sino al ripristino dei valori), e nei fenomeni gastrointestinali.

DISCUSSIONE

Razionale del trattamento e discussione dei dati preliminari

La maggior comprensione delle basi biologiche e fisiologiche della eziopatologia del cancro ha portato gradualmente verso l'identificazione di nuovi segnali molecolari coinvolti nei molteplici e complessi segnali cellulari ed alla formulazione di nuove strategie sempre più mirate per il trattamento dei tumori ormono-dipendenti (seno e prostata). E' ben noto come meccanismi di crescita cellulare del tumore della prostata si basino principalmente sull'azione androgenica e sulla concomitante produzione/secrezione neuroendocrina, con speciale riferimento al ruolo di altri fattori di crescita (*Growth Factors*, GF), rilasciati sia al livello dell'asse ipotalamo-ipofisario (*Growth Hormone Release Hormone*, GHRH; GH e PRL) che sistemico. In tal senso sono stati valutati agonisti e antagonisti dell'ormone di rilascio dell'ormone luteinizzante (LHRH), antagonisti della bombesina/peptidi di rilascio della gastrina, ormoni del rilascio dell'ormone della crescita (GHRH) nonché gli analoghi della somatostatina ed agonisti dopaminergici. Malgrado il loro impiego nella pratica clinica sia limitato ai tumori Neuroendocrini, emergono con crescente evidenza in letteratura dati significativamente importanti relativi sia alla loro espressione che geniche che localizzazione immunoistochimica recettoriale su svariati tumori Neuroendocrini: risultati sovrapponibili sono stati ottenuti anche per il *Peptide Intestinale Vasoattivo* (VIP), bombesina (BN) e somatostatina (SSTR), la cui espressione è stata riscontrata sia nelle differenti forme di cancro della prostata (Pca) che sulla sua forma precursore (HGPIII) ed epitelio normale (Nep). Similmente, sono stati evidenziati significativi risultati per tutte le forme tumorali che esulano dal conteso NE, a ulteriore conferma del rationale del trattamento multi terapeutico MDB con analoghi della somatostatina in combinazione con molecole ad attività citostatica e differenziante impiegati nel contesto di una "terapia biologica a bersaglio recettoriale" nei confronti del fenotipo neoplastico. Tale strategia estende la sua azione anche alle differenti stazioni dell'asse ipotalamo-ipofisario-epatico e non si limita alla semplice attivazione diretta del pathway antiproliferativo. Infatti l'altro fondamentale meccanismo antitumorale, indiretto, si realizza attraverso la riduzione della biodisponibilità del GH, dell'IGF-I di derivazione epatica e di tutti i GF, tutti GH dipendenti, rilasciati nel microambiente tumorale responsabili del fenomeno della progressione tumorale, quale motilità cellulare, metastasi ed eterogeneità clonale. La ridotta biodisponibilità del GH inibisce pertanto l'angiogenesi neoplastica regolando negativamente i fattori di crescita sinergici con le molecole promotrici dell'angiogenesi, e quelli modulanti il microambiente sistemico tumorale con rilevante efficacia antiblastica. E' stato inoltre osservato

come questa multiterapia biologica ripristini altresì la responsività dei tessuti verso gli antiandrogeni, ottenendo pertanto delle risposte cliniche obiettive. Parallelamente, è stato confermato un ruolo cruciale dei recettori D2R sia nel controllo diretto della crescita cellulare che nella interazione antiproliferativa con la somatostatina: il loro pathway di proliferazione viene infatti significativamente inibito quando questa particolare sottoclasse di recettori viene attivata in maniera sinergica in associazione con la sottoclasse 5 dei recettori della SST (SSTR5). La stessa deprivazione degli androgeni favorisce una sovraregolazione dei recettori SSTR per la Somatostatina, aumentando pertanto la probabilità di risposta positiva (**Mazzucchelli et al, 2011**). Anche un altro componente del MDB, la vitamina E, incrementa l'espressione recettoriale della somatostatina con evidenti effetti antiproliferativi. Le proprietà citostatiche della SST nella prostata sono mediate nel loro pathway dalle fosfotirosine fosfatasi SHP-1, presenti nella cellule della prostata. Questi dati suggeriscono un' interazione recettoriale dinamica indotta dai ligandi Somatostatina e Dopamina, che potrebbe essere basilare per una marcata azione antitumorale (**Zapata PD et al, 2009**). Lo stesso aumento della responsività alle forme refrattarie è da ricondurre alle ormai note proprietà antitumorali di Melatonina (ML), retinoidi (ATRA, Beta-carotene) e Vitamina D₃: la melatonina (ML) possiede molteplici proprietà antiproliferative, promuove il differenziamento cellulare verso il fenotipo neuroendocrino (controllo epigenetico), quest'ultimo caratterizzato da una crescita di tipo androgeno-dipendente (**Shiu SY et al, 2010**). Il differenziamento cellulare promosso dalla melatonina non è mediato dalla sola attivazione della PKA (sebbene questa aumenti, in uno stato transitorio, i livelli del messaggero cAMP) . La melatonina influenza marcatamente lo stato proliferativo delle cellule tumorali prostatiche. Insieme ai dati precedenti, i presenti risultati indicano il sinergismo antiproliferativo tra la melatonina e la androgen deprivation nei tumori sensibili agli androgeni. Questa duplice azione del segnale antiproliferativo suggerisce la mediazione della via recettoriale MT1 verso una sottoregolazione del segnale AR-dipendente ed a una sovraregolazione della proteina p27. Pertanto, i cambiamenti fenotipici causati dal trattamento cronico di questo indolo, rendono le cellule maggiormente responsive all'azione di citochine (TNF-alfa e il TRAIL) SST, antagonisti androgenici nonché ad alcuni componenti chemioterapici, se somministrati a basse dosi (chemioterapia metronomica) . Un importante contributo viene fornito il colecalciferolo, agente attraverso il proprio recettore nucleare (VDR).

E' da ben noto che questo tipo di pro-ormone liposolubile esercita diverse attività oncosuppressive, anche interagendo con gli altri componenti della multiterapia nell'inibire la proliferazione delle cellule tumorali e in innescando la cascata dell'apoptosi, differenziazione, riduzione della invasione cellulare, l'angiogenesi e la migrazione / invasione (inibizione extracellulare / gene down-regulation

delle Matrix metalloproteinasi MMP e l'espressione di molecole di adesione della membrana cellulare e promozione dell'adesione cellulare attraverso un aumento dell'espressione di E-caderine, regolazione della chemiotassi di aderenza delle cellule verso la circolazione sanguigna, considerando un effetto antimetastatico) sia *in vitro* che *in vivo* (Yin et al. 2009). Inoltre, la sintesi delle prostaglandine e il segnale / b-catenine Wnt sono influenzati anche dalla vitamina D3 ed analoghi. Infine, I retinoidi costituiscono una famiglia di composti organici che vengono impiegati per il trattamento di svariate patologie, comprese numerose forme di neoplasie ematologiche. I retinoidi sono fondamentali per il normale sviluppo della prostata e regolano negativamente la crescita di svariate linee cellulari tumorali prostatiche così come la progressione *in vivo* [ref]. Tra questi, l'acido retinoico tutto trans (ATRA) è stato largamente studiato, mostrando una spiccata attività differenziante. Uno dei meccanismi d'azione consiste nella riduzione dei processi di metilazione (modulazione epigenetica) a livello dei geni HOX (HOXB3) e nella regolazione della formazione delle giunzioni gap nelle cellule di tumore alla prostata androgeno responsive). Complessivamente, numerose ricerche *in vivo* ed *in vitro* dimostrano come l'ATRA rallenti la proliferazione cellulare tumorale, inducendo l'apoptosi (abbattimento della espressione di survivina). Uno dei meccanismi antitumorali, è rappresentato dalla regolazione selettiva (p21 e p27) con cui l'ATRA è in grado di inibire i processi proliferativi tipici del cancro prostatico. Dato che i retinoidi agiscono inducendo il differenziamento cellulare e la maturazione, risulta chiaro come il loro impiego possa rivelarsi verosimilmente utile nella reversione della patogenesi neoplastica. Altri recenti bersagli molecolari includono i recettori ai retinoidi (RAR e RXR), dei glucocorticoidi (GR), degli estrogeni (ER) ed i recettori attivati dai perossisomi (PPAR).

CONCLUSIONI

I nostri risultati preliminari, sebbene la fase di inferenza sia stata effettuata a partire da un numero relativamente basso di soggetti, suggeriscono come gli individui affetti da neoplasia prostatica,

sovente in condizioni metastatiche e poco responsivi alla terapia ormonale, possano ottenere dei risultati incoraggianti con la combinazione di farmaci biologici. Poichè i risultati relativi agli approcci chirurgici – radioterapici sono discordanti, suggeriamo ulteriori indagini cliniche per l'impiego in prima linea del suddetto trattamento e il suo possibile impiego nella pratica clinica oncologica