

Studio clinico retrospettivo sulla sicurezza ed efficacia del trattamento di prima-linea con Somatostatina abbinata a Retinoidi, Melatonina, Vit.D₃ e basse dosi di Ciclofosfamide, in 20 casi di Carcinoma Mammario.

*Giuseppe Di Bella, Fabrizio Mascia, Alessandro Ricchi, Biagio Colori**

Di Bella Foundation, Via Guglielmo Marconi 51, 40122, Bologna, IT.- Rizzoli Institute, Scientific Research and Care Institute, Bologna.

INTRODUZIONE

Nei paesi occidentali il tumore della mammella costituisce la più frequente neoplasia femminile: nel solo periodo 1998-2002 ha rappresentato il 24,9% del totale delle diagnosi di tumore. Anche in termini di mortalità è risultata la prima fra le cause tumorali, con il 17,1% del totale dei decessi. Nell'anno 2012 è stato stimato che delle 226.870 donne alle quali è stata data una diagnosi di tumore, 39.510 moriranno di cancro al seno. Le stime dell' Italia mostrano come, a un anno dalla diagnosi, il tasso di sopravvivenza relativa è del 95% per gli uomini e del 97% per le donne. Questo valore decresce col passare del tempo e a distanza di 5 anni la probabilità di sopravvivere a un tumore alla mammella è dell'85% per entrambi i sessi.

Quasi tutte le donne con un tumore del seno, indipendentemente dallo stadio, subiscono, se le condizioni cliniche lo consentono, un intervento chirurgico per la rimozione della lesione.

Nei casi in cui ciò sia possibile si ricorre alla chirurgia conservativa (*quadrantectomia*) sovente seguita da radioterapia adiuvante a scopo preventivo. Durante l'intervento, si può altresì procedere all'asportazione di potenziali linfonodi maligni in sede ascellare ("*tecnica del linfonodo sentinella*"). Nella maggior parte delle pazienti con carcinoma *in situ*, così come negli stadi precoci (stadio I-II-III A), risulta talvolta necessario asportare più di un quadrante di seno mediante *mastectomia parziale o segmentale*: anch'essa seguita da terapia radiante. Le forme più avanzate (carcinoma metastatico, stadi IIIB-IIIC-IV), vengono trattate con l'asportazione dell'intero seno (*mastectomia radicale modificata*).

Ad oggi, l'asportazione chirurgica dei tessuti tumorali è l'unico mezzo ufficialmente riconosciuto per raggiungere, negli stadi non avanzati, la guarigione. Tuttavia, anche nei casi circoscritti, l'intervento chirurgico può esporre al rischio di distacco, dalle sezioni marginali, di residue cellule tumorali in grado di diffondersi in altri distretti corporei attraverso il flusso ematico, determinando successive disseminazioni a lungo raggio. Per tali ragioni, la resezione chirurgica della lesione tumorale viene associata con chemioterapia *adiuvante e neo-adiuvante*.

Le altre strategie terapeutiche prevedono l'impiego di molecole con blocco specifico del rilascio degli ormoni sessuali (*tamoxifene*). La prassi clinica prevede che questi vengano impiegati a seguito della asportazione della lesione e della successiva indagine immuno-istochimica per valutazione della presenza di recettori per gli estrogeni (ER) e progesterone (PR). In caso di positività vengono suggerite specifiche molecole.

Sebbene questo farmaco riduca drasticamente le ricadute, è ormai assodato come sia in grado di indurre, di fatto, una menopausa su base chimica, nonché pericolosi fenomeni tromboembolici, diminuzione dell'attività cognitiva ed un aumento del rischio di sviluppo di neoplasie (carcinoma dell'endometrio): tale rischio quadruplica dopo i canonici cinque anni di trattamento.

In sostituzione al tamoxifene, vengono impiegate molecole con medesima funzione (inibitori delle aromatasi: *anastrozolo, letrozolo*), ma con differente meccanismo d'azione. Attualmente,

quest'ultima classe di farmaci è riservata esclusivamente alle donne in età post-menopausale. Un ulteriore contributo, grazie agli avanzamenti delle conoscenze e delle tecniche di biologia molecolare, viene fornito gli anticorpi monoclonali. Un esempio è il *trastuzumab*, anticorpo monoclonale selettivo per i recettori del fattore di crescita epidermico (EGFR).

Sebbene i suddetti trattamenti abbiano favorito nel corso del tempo maggiori miglioramenti in termini di sopravvivenza, rimane tutt'ora discutibile il loro approccio, sovente invasivo, demolitivo, e a scapito delle condizioni psicosomatiche generali delle pazienti.

Prima di tutto, la chirurgia rimane di fatto un intervento mutilante e traumatico, anche in caso di trattamento conservativo, mentre il contributo dei regimi polichemioterapici si riduce a minime percentuali. Negli ultimi si sta valutando l'impiego giornaliero di basse dosi di chemioterapici *per os* (*chemioterapia metronomica*), con lo scopo sia di esaltare l'azione del farmaco sia di evitare gli effetti collaterali.

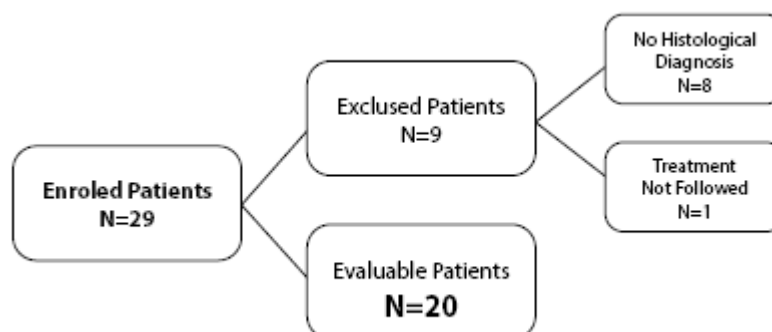
Dato ancor più interessante, negli ultimi decenni numerose molecole biologiche, tra cui la somatostatina e analoghi, la melatonina e differenti classi di vitamine, quali Retinoidi e Vitamina D3 e Tocoferoli, si sono mostrate potenzialmente utili nel trattamento preventivo [Fulan H et al] e terapeutico del tumore al seno. Numerosi studi *in vitro* condotti su svariate linee cellulari, ne hanno evidenziato le spiccate attività antitumorali, chiarendo da una parte i meccanismi d'azione, e aprendo la strada verso il raggiungimento di risultati incoraggianti nella pratica clinica. Tuttavia, sono limitati gli studi clinici a lungo termine sull'uomo e sulla loro associazione in un contesto multiterapico che ne esalti il sinergismo e l'interattività .

Gli autori riportano di seguito un studio clinico osservazionale retrospettivo condotto su 20 pazienti affette da carcinoma mammario, alle quali è stata somministrata la terapia biologia (*Metodo Di Bella, DBM*), mediante l'uso combinato a basse dosi di ciclofosfamide ed inibitori estrogenici più molecole ad appurata azione anti-tumorale, quali somatostatina/octreotide, melatonina, inibitori prolattinici, Retinoidi, Vitamine, E,C, D3, Calcio e componenti della matrice extracellulare.

MATERIALI E METODI

Criteri di arruolamento.

Nella presente investigazione sono state arruolate esclusivamente le pazienti con un Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) status 2 , con diagnosi istologica di tumore al seno e con caratteristiche di malattia misurabile in accordo con i *Response Evaluation Criteria in Solid Tumors* (RECIST). Altro requisito ai fini dell'arruolamento è stato l'assenza *dei regimi terapeutici standard* (interventi chirurgici, polichemioterapie, terapie radianti, anticorpi monoclonali), e di aver accettato, previo consenso informato, la somministrazione della terapia biologica di prima linea.



Il campione delle pazienti sopradescritto è stato ulteriormente suddiviso in due sottogruppi, in funzione dello stadio della patologia neoplastica:

Gruppo A: Pazienti in stadio precoce di neoplasia mammaria (stadi I, II, IIIA);

Gruppo B: Pazienti con malattia Localmente Avanzata/Metastatica (stadi IIIB, IIIC, IV).

Trattamento.

Tutte le pazienti hanno ricevuto una combinazione giornaliera di Somatostatina/octreotide, Melatonina, Retinoidi solubilizzati in Alfa Tocoferile Acetato, agonisti dopaminergici, inibitori estrogenici e dosaggi minimali di ciclofosfamide.

Nel dettaglio, sono state somministrate nelle seguenti modalità: dosaggio graduale *per os* di Ac Retinoico (gr 0,25) + axeroftolo palmitato (gr 0,25) + betacarotene (gr. 1) solubilizzati in alfa tocoferile acetato (gr 500, rapporto stechiometrico 1:1:4:2) una volta al dì per sette giorni a digiuno, dopo altri 7 giorni due volte al giorno; dalla terza settimana, per l'intera durata del trattamento, 3 volte al giorno, *per os*; diidrotachisterolo (10 gocce) in concomitanza con i Retinoidi; Somatostatina (1mg) somministrazione scalare (1 mg nei primi 7 giorni, con somministrazione finale di 3 mg a 21 giorni di trattamento) tetracosactide esacetato (1 mg) somministrazione iniziale intramuscolare ogni 7 giorni, monitorando costantemente pressione e glicemia, dopo 30 giorni 1\2 fiala settimanale; Octreotide a lento rilascio LAR (20 mg) ogni 3 settimane intramuscolo; Melatonina da 5 mg *per os*: 10 mg i al mattino, a mezzodì, la sera ai pasti oltre a 40 mg prima di coricarsi (dosaggio giornaliero complessivo medio = 70 mg); Cabergolina *per os* durante il pasto principale 1 mg (uguale a 1\2 compressa) 2 volte la settimana; Bromocriptina (2,5 mg) *per os* mezza compressa mattino e sera; Ciclofosfamide (50-100 mg) *per os*, dosaggio graduale: iniziare con 1 compressa al pasto principale, dopo una settimana 1cpr mattino e sera; Acido Ascorbico (Vit C) *per os*, dosaggio graduale: 1\2 cucchiaino(circa 2 grammi) in un bicchiere d'acqua mezzodì e sera durante il pasto insieme a Calcio lattato gluconato +calcio carbonato pari a 1000 mg di calcio nello stesso bicchiere; Condroitinsolfato (500 mg) una capsula mattino mezzodì e sera ai pasti; Maggiori dettagli inerenti alle modalità di somministrazione e alle rispettive posologie sono illustrati nella tab.1.

Tab. 1. DBM therapeutical regimen.

Drug	Chemical Information	Dosage	Route of administration	Frequency
Somatostatin	14 aa peptide	3 mg	subcutaneous	Daily (at night, 12 hours infusion)
Octreotide LAR	Octreotide Acetate 8 aa	20 mg	Intramusculus	Every 20 days
Melatonin	Melatonin 12% Adenosine 51% Glycine 37%	70–100 mg	per os	Daily
Retinoids *	All-Trans-Retinoic acid Axeroftole-Palmitate Beta-Carotene Alfa Tocopheryl Acetate	0.5 g 1 453 488.372 IU 0.5 g 909 000 IU 2 g 3 334 000 IU 1 000 g 1×10 ⁶ IU **	per os	Daily (3 times)
Vitamin C	L-Ascorbic Acid	2–4 g 40×10 ³ –80×10 ³ IU	per os	Daily
Vitamin D ₃	1,25-diOH-Tachysterol	15 200 IU	per os	Daily (3 times)
Synachten	Tetracosactide Acetate (ACTH)	1 mg	intramuscular	Once a week
PARLODEL*	Bromocriptine	2.5 mg ****	per os	Daily
DOSTINEX*	Cabergoline	0.5 mg		Twice a week
ENDOXAN*	Cyclophosphamide	50 mg	per os	Daily
Calcium	Lactate gluconate + carbonate	2 g	per os	Daily
Oestrogens Inhibitors	Anastrozole/exemestane Triptoreline/Leuprorelin acetate	1 mg	Parenteral	Monthly

* These molecules are mixed in solution form, a formulation which allows maximum bioavailability. The daily dose is calculated on the basis of body weight decimals; **** Can be used together with or instead of Bromocriptine.

Valutazione della risposta al trattamento delle lesioni target (Efficacia): Metodi Statistici e Analitici

I 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* (RECIST). 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). Nelle analisi di sopravvivenza, sono state valutate la sopravvivenza complessiva (*Overall Survival*, OS) e la sopravvivenza libera da progressione (*Progression Free Survival*, PFS).

Queste ultime analisi sono state effettuate mediante il metodo Kaplan-Meier, con un C.I. del 95% ed analizzate con l'ausilio del pacchetto software (versione 2.15.12, 2012).

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 dal *The Good Clinical Practices directives* e dalla Dichiarazione di Helsinki. Tutte le pazienti hanno pertanto dato il proprio consenso informato per la partecipazione allo studio.

RISULTATI

Un totale di 29 pazienti sono state consecutivamente trattate con terapia biologica (MDB) e monitorate dal periodo Gennaio 2009 - Dicembre 2012. Di queste, venti (20) hanno soddisfatto i criteri di valutazione e sono state arruolate all'interno della indagine retrospettiva.

L'età mediana era di 51 anni (intervallo: 30-70 anni), con un ECOG status 2. Il principale istotipo della lesione primaria è stato *carcinoma duttale infiltrante* (IDC, 15 casi, 75 %), mentre fegato, linfonodi e ossa costituivano le principali sedi di lesione secondaria (XX %, XX% e XX % rispettivamente).

Di seguito gli stadi della malattia al momento dell'arruolamento:

Malattia precoce (Gruppo A): Stadio I, 3 casi (15%); Stadio II, 10 casi (50%); Stadio IIIA, 2 casi (10%). I Grading erano: G1 20%; G2 40%, G3 13,3 %, n.d. (26,7 %).

Malattia Localmente avanzata/Metastatica (Gruppo B): Stadio IIIB, 1 caso (5%); Stadio IIIC, 1 caso (5 %); Stadio IV, 3 casi (15%). Di questi, 4 casi (80%) mostravano un grading G3.

Complessivamente, la risposta globale obiettiva (OR) [Risposta completa (CR) + risposta parziale (PR)] è stata osservata nel 75% (15 casi; 53.1- 88.8; 95% CI) delle pazienti, con una CR nel 50% dei casi (n=10; 30-70; 95% CI) (**Tabella 2**). Inoltre, l' 85.0% (17 casi; 63.9-94.7; 95% CI) delle pazienti ha ottenuto un beneficio clinico obiettivo. [CR+PR+SD].

Group A (Early Breast Carcinoma, I - II - IIIA Stages). La OR (CR+PR) è stata del 86.5% delle pazienti (13 casi - 62.1; 96.2 95% CI), con CR nel 67 % dei casi (n=10) (41.7-84.8; 95% CI).

In aggiunta, tutte le pazienti hanno ottenuto un beneficio clinico [CR+PR+SD] (**Tabella 3**).

Le mediane OS e TTP delle pazienti sono state di 24 mesi (xx.x-xx.x; 95% CI). (**Graph.1**)

Group B (Locally Advanced/Metastatic Carcinoma, III B - III C- IV Stages). La mediana OS delle pazienti è stata di 24.x mesi (xx.x-xx.x; 95% CI), con mediana TTP di 16.x mesi (xx.x-xx.x; 95% CI). La OR (CR + PR) è stata del 40.0% (2 casi; 12-77; 95% CI) delle pazienti, con CR nel 40% dei casi (n=2, xx.x-xx.x; 95% CI) (**Tabella 4**). Tre (3) casi (60%) risultavano in progressione P (23-88; 95% CI). (**Graph.2**)

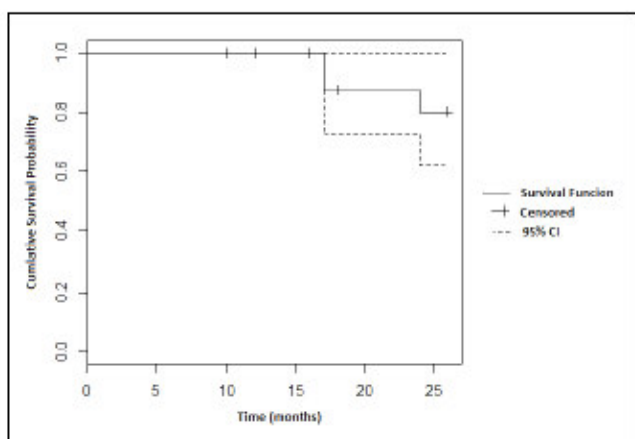


Fig. 1. Global cumulative overall survival of early + locally advanced/metastatic breast cancer cases (Groups A+B; N=20).

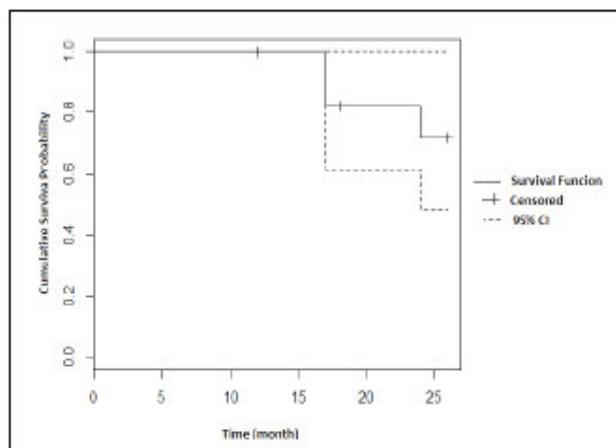


Fig. 2. Global cumulative overall survival of early stage breast cancer cases (Group A; N_A=12).

Tab. 2. Clinical baseline *in situ* Ductal carcinoma.

Median Age	51	Abs. Freq.	Rel. Freq (%)
Min	30		
Max	73		
ECOG (PS)	Grade 0	3	15
	Grade 1	7	35
	Grade 2	5	25
	Grade 3	5	25
Histotype	IDC	15	75
	DCIS	3	10
	Other	2	15
Molecular Profile**	PR+ (>80%)	12	100
	ER+ (>50%)	7	58
	Her/neu+	5	25
	n.a**	8	66
Histology Grade	G1	3	20
	G2	7	40
	G3	5	13.3
	n.a	5	26.7
Staging	0	2	10
	I	2	10
	II	8	40
	IIIA	3	15
	IIIC	2	10
	IV	3	15
Secondary lesions site	Lung	1	10
	Bone	3	30
	Lymphnode	6	30

DCIS: *in situ* Ductal carcinoma; IDC infiltrating ductal carcinoma; PR: Progesteron Receptor; Estrogen Receptor, Her/Neu type 2 Epidermal Growth Factor Receptor. * Total of 12 patients

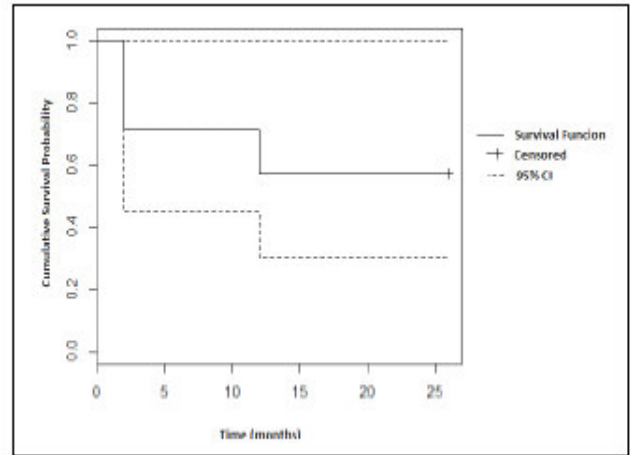


Fig. 3. Global cumulative overall survival of locally advanced/ metastatic breast cancer cases (Group B; N_B=8). * Two (2) patients dead.

Valutazione della sicurezza

I più frequenti fenomeni di tossicità rilevati nello studio, di grado I e II, sono stati i seguenti: tossicità ematologica (Leucopenia, xx%, xx-xx 95% IC), gastrointestinale (nausea xx%, xx-xx 95% IC; diarrea, xx%, xx-xx 95% IC) e stanchezza (xx%, xx-xx 95% IC). Questi fenomeni sono stati gli unici osservati. Una riduzione, ritardo, o sospensione temporanea del trattamento a causa di tossicità si è resa necessaria in n casi (xx, %; xx-xx 95% IC) con leucopenia (Sospensione di Ciclofosfamide sino a ripristino della conta leucocitaria), ed su n casi (xx, %; xx-xx 95% IC) di fenomeni gastrointestinali (Riduzione temporanea della Somatostatina).

Non sono stati riscontrati decessi associati con il trattamento.

Tab. 3. Global effectiveness with MDB in Breast Cancer (Groups A+B).

Resp. Rate	Cases Abs.Fr	Rel. Fr. (%)	95% CI
CR	11	55	34;74
PR	4	20	8;41
SD	2	10	3;30
P	3	15	5;36

Response Rates (N=20) CR: Complete remission; PR: Partial Remission; SD: Stable disease; P: Progression.

Tab. 4. MDB Effectiveness in early stage Breast Cancer.

Resp. Rate	Cases Abs.Fr	Rel. Fr. (%)	95% CI
CR	7	58	32;80
PR	4	33	14;61
SD	1	8	1;35
P	0	0	//

Response Rates (Group A; N_A=12) CR: Complete remission; PR: Partial Remission; SD: Stable disease; P: Progression.

Tab. 5. MDB Effectiveness in Locally-Advanced/Metastatic Breast Carcinoma.

Resp. rate	Cases Abs.Fr	Rel. Fr. (%)	95% CI
CR	3	37.5	14;70
PR	1	12.5	2.4;47
SD	1	12.5	2.4;47
P*	3	37.5	14;70

Response Rates (Group B; N_B=8). CR: Complete remission; PR: Partial Remission, SD: Stable disease, P: Progression

Table 6. Grades II toxicities phenomena.

	Ab. Freq.	Rel. Freq.	Active molecule	Grade of correlation
Haematological				
Leukopenia	7	35	Endoxan [®]	Probable
Gastrointestinal				
Nausea/Vomiting	5	25	somatostatin	Certain
Neurological				
Drowsiness	8	40	Melatonin	Probable

DISCUSSIONE

Razionale della Terapia e discussione dei dati clinici.

I fenomeni di proliferazione incontrollata e la perdita di differenziazione, anche se in misura diversa, sono denominatori comuni a tutte le neoplasie. Numerose investigazioni cliniche, nonché studi sperimentali, indicano chiaramente come alcuni ormoni pituitari, incluso il l'ormone della crescita (GH) e la Prolattina (PRL), abbiano un ruolo cruciale nello sviluppo e nella progressione del tumore al seno umano. Se da una parte l'espressione recettoriale ubiquitaria della Prolattina e del GH rappresenta una delle chiare conferme del ruolo mitogeno diretto e generalizzato di questi ormoni, d'altro canto è stato dimostrato il rapporto causale dose-dipendente, tra l'espressione recettoriale del GH e i processi di induzione e progressione tumorale. Infatti la concentrazioni di GHR e di GHRHR e' nettamente superiore nei tessuti tumorali del seno rispetto alla loro espressione recettoriale fisiologica e peritumorale, a ulteriore conferma del potente ruolo mitogeno del GH con un indice proliferativo dose-dipendente.

Attualmente è in fase di studio la meccanica temporale di tale processo etiopatogenetico: tra i più verosimili, sono stati suggeriti probabili meccanismi di segnalazione autocrina e/o paracrina, sulla base della rilevazione della produzione locale del GH e del IGF1 sui tessuti di Carcinoma mammario, peritumorale e fibroblasti. [Siriwardana G et. Al, 2006; Moody TW et al]. Ne consegue che la proliferazione cellulare è strettamente dipendente dall'asse Prolattina - GH-, e da molecole mitogene GH- dipendenti, da esso positivamente regolate, come l'*Epidermal Growth Factor* (EGF), il *Fibroblast Growth Factor* (FGF), l'*Hepatocyte Growth Factor* (HGF), l'*Insulin Growth Factor* (IGF1-2), il *Nerve Growth Factor* (NGF), il *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF), il *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), il *Trasforming Growth Factor* (TGF), oltre che da fattori di crescita prodotti dall'apparato gastrointestinale, come il *Peptide Vasoattivo Intestinale* (VIP), la *Colecistochinina* (CCK). Sia la proliferazione cellulare fisiologica che neoplastica, avvengono per mezzo di queste stesse molecole, che la cellula neoplastica utilizza in misura moltiplicata rispetto a quella sana. Da ciò si deduce come l'asse PRL-GH-IGF1 abbia una determinate influenza sullo sviluppo biologico neoplastico. Appare pertanto evidente come l'utilizzo di antagonisti biologici del

GH, come Somatostatina e analoghi, non riducono solo l'espressione e la trascrizione di fattori di crescita altamente mitogeni, come IGF1-2, EGF, FGF, VEGF, PDGF, ma estendono la loro regolazione negativa alle vie di segnalazione dei rispettivi bersagli recettoriali, con conseguenti riflessi antiproliferativi e antiangiogenici. Tale concezione sta lentamente emergendo attraverso le sempre più frequenti ricerche di base, sebbene ancora siano scarsi i modelli *in vivo*.

Le neoplasie mammarie rispondono mitogenicamente a IGF mediante la via di segnalazione innescata dal suo recettore IGFR. L'effetto soppressivo della SST e analoghi, sui livelli sierici di IGF1, è sia diretto, attraverso l'inibizione del gene di IGF, che indiretto, mediante la soppressione del GH e pertanto della sua induzione epatica di IGF1. [Watt HL et al]

Fino al momento in cui le cellule che costituiscono il primo aggregato tumorale di pochi millimetri non riescono a crearsi un proprio sistema di vasi sanguigni (*Angiogenesi neoplastica*), esse crescono con estrema lentezza e sono destinate a non superare le dimensioni di qualche millimetro, rimanendo allo stadio di "cancro in situ". L'espansione tumorale avviene solo quando il tumore realizza l'*angiogenesi*, riesce cioè a costruirsi una rete di vasi sanguigni per assicurarsi l'apporto di sostanze nutritive e l'eliminazione di scorie metaboliche. La letteratura ha documentato che ***tutti i passaggi dell'angiogenesi e le molecole che ad essa sinergicamente concorrono, (sia promotori dell'angiogenesi che fattori di crescita angiogenici) sono negativamente regolati dalla somatostatina e dai suoi analoghi e, anche se in misura minore, da tutti gli altri componenti del MDB.*** Se l'espansione neoplastica ha nell'angiogenesi un passaggio obbligato, e se l'angiogenesi è totalmente inibita dalla somatostatina, è ulteriormente chiarita e documentata la sua indicazione in tutti i tumori, in presenza o meno, di SSTR.

I Fenomeni di angiogenesi e neoangiogenesi, condizioni necessarie della progressione neoplastica, così come la cascata dei monociti, il rilascio paracrina di interleukina 8 e il contributo dei fattori di crescita (il cui sinergismo è essenziale per l'angiogenesi stessa), come il VEGF, TGF, IGF1, FGF, HGF, PDGF, costituiscono gli specifici bersagli molecolari negativamente regolati da Somatostatina e analoghi. L'inibizione dell'angiogenesi indotta dalla SST è sinergicamente potenziata da MLT, Retinoidi, vitamina D3, Vitamina E, Vitamina C, inibitori prolattinici e da componenti della matrice extracellulare. Anche le situazioni locali di ipossia/anossia e acidosi favoriscono l'angiogenesi, e in buona parte sono corrette dal miglioramento degli scambi emotissutali indotto dai componenti differenzianti del MDB.

Contemporaneamente, gli stessi effetti citostatico, antiproliferativo, antimetastatico della Somatostatina vengono sinergicamente incrementati dagli altri componenti del MDB.

Un ulteriore contributo viene fornito dalla somministrazione giornaliera di basse dosi [50-100 mg/die *per os*] di Ciclofosfamide (Endoxan). Questa posologia, oltre che ridurre drasticamente i noti effetti antiblastici/mielosoppressori, induce un marcato viraggio dei suoi meccanismi d'azione: innesco della cascata apoptotica mitocondrio dipendente, azione antiangiogenetica mediante l'abbattimento del VEGF.

Ampiamente documentata è anche l'attività inibitoria della SST su un altro potente fattore di crescita mitogeno, EGF, attraverso molteplici meccanismi:

- 1. Blocco del signaling dose-dipendente (Inibizione della fosforilazione tirosinica) del EGFR;
- 2. Riduzione dell'espressione di EGFR e del suo ligando (EGF) nelle cellule tumorali;
- 3. Abbattimento della concentrazione plasmatica di EGF.

La suddetta interferenza viene ulteriormente potenziata dalla concomitante somministrazione di MLT e Vitamina D3, la cui attività modulatrice nei confronti del fattore di crescita epidermico è ben nota. È stato osservato come i tumori al seno esprimano le sottoclassi recettoriali SSTR1, SSTR2, SSTR3, meno frequentemente SSTR5 [1,52]. Sebbene almeno nel 50% dei casi siano

scintigraficamente riscontrabili, ulteriori indagini immunoistochimiche hanno rilevato la presenza di STTR anche in soggetti con esito scintigrafico negativo [Körner M et al.; Mezi S]. Pertanto la presenza di STTR e di recettori neuroendocrini in una rilevante percentuale di questi carcinomi, costituisce un'ulteriore indicazione razionale all'impiego della SST, peraltro già ampiamente giustificata dalla già citata regolazione negativa sul GH, dei GF GH-correlati, e dell'angiogenesi.

E' oramai assodato come gli ormoni sessuali giochino un ruolo chiave nella eziologia e progressione del tumore al seno, così come su svariate neoplasie ormono-dipendenti, quali il tumore prostatico ed ovarico. Il principale meccanismo alla base di queste neoplasie è il risultato della prolungata stimolazione e sollecitazione ormonale, con gravi ripercussioni a lungo termine sulla crescita normale e funzione del tessuto bersaglio. Numerose evidenze sperimentali hanno dimostrato come sia il contributo degli ormoni sessuali, che gli GF da essi regolati, esercitino una profonda modulazione genica. La principale conseguenza di questa interferenza ormonale è rappresentata da una proliferazione cellulare incontrollata. L'impiego di basse dosi degli inibitori delle aromatasi di seconda generazione (Anastrozolo), già impiegata nella prassi clinica, combinati con MLT e SST; regola negativamente i processi di proliferazione ormono-dipendenti delle neoplasie Mammarie. Numerosi investigazioni precliniche e sull'uomo hanno evidenziato i meccanismi d'azione della MLT. Essendo la molecola associata al Signaling Pathways dello sviluppo sia fisiologico epiteliale che neoplastico, tale indolo possiede sia la proprietà neutralizzare selettivamente i segnali proliferativi degli estrogeni che di modularne negativamente la loro biosintesi locale. L'impiego della MLT si estende su tutti istotipi di carcinoma mammario, data l'elevata distribuzione di membrana delle sottoclassi recettoriali MT1-MT2. Numerosi studi epidemiologici hanno altresì dimostrato che tra le molteplici cause predisponenti al carcinoma mammario vi è lo stravolgimento dei livelli fisiologici circadiani. I meccanismi molecolari dell'indolo sono molteplici e riassumibili nei seguenti punti: abbattimento dell'espressione genica dei recettori per gli estrogeni; nonché del signaling indotto dagli stessi, interferenza sul metabolismo degli estrogeni, modulazione epigenetica, blocco dei processi di motilità cellulare, invasione e metastasi attraverso il blocco dell'espressione delle Metalloproteinasi

Nel dettaglio:

- (a)La sottoregolazione dell'asse riproduttivo ipotalamico-ipofisario, con conseguente riduzione dei livelli circolanti di estrogeni gonadici, rappresenta uno dei principali meccanismi neuroendocrini diretto della MLT;
- (b)La MLT è un modulatore selettivo del recettore per gli estrogeni può: agisce direttamente sulle cellule tumorali mammarie interferendo con l'attivazione recettoriale (ESR). Infine la Melatonina regola l'attività delle aromatasi, agendo da vero e proprio modulatore selettivo enzimatico, con azione sinergica con gli inibitori della aromatasi di seconda generazione e retinoidi.

La letteratura ha pertanto confermato i meccanismi d'azione antineoplastici differenzianti e antiproliferativi, antiangiogenetici e antimetastatici di tutti i componenti del MDB, sia *in vitro* che *in vivo*.

Nel presente studio retrospettivo viene confermata la risposta obiettiva di neoplasie mammarie al trattamento concomitante delle suddette molecole biologiche.

Dato altrettanto degno di nota, la risposta obiettiva ottenuta in 15 casi *senza fare riferimento ai consueti trattamenti poli-chemio-radio-terapici e/o chirurgici*; considerando che sia i fenomeni di recidiva che di metastasi post-operatorie attualmente sono la causa principale della mortalità correlata al cancro al seno, mentre l'impiego di dosi massicce di agenti antiblastici e di terapia radiante oltre che incrementare le mutazioni costituiscono un terreno fertile per l'attivazione di fattori promuoventi la crescita e progressione dei tumori ormono-dipendenti.

L'impiego combinato delle molecole MDB ha favorito una sopravvivenza al primo anno di *follow up* totale, aumentando significativamente, la mediana di sopravvivenza per le pazienti in stadio avanzato di malattia. Dei 5 casi sotto osservazione, attualmente si presenta una OS di oltre mesi, con una TPS di 13 mesi.

Il risultato obiettivo, in assenza di tossicità, mediante la riduzione progressiva, fino alla scomparsa, delle lesioni neoplastiche iniziali, nonché delle adenopatie ascellari, delle lesioni cerebrali, insieme al blocco di ogni disseminazione metastatica, evidenzia inequivocabilmente l'efficacia di questa terapia ed è conforme ai positivi risultati preliminari già pubblicati sull'uso del MDB nei nelle patologie linfoproliferative e sui carcinomi polmonari in stadio avanzato e cervico facciali.

Il MDB, senza necessità di ricovero ospedaliero e/o di strutture di Day Hospital, in assenza di tossicità e senza ridurre minimamente l'attività lavorativa, ha evitato il trauma chirurgico, e i rilevanti effetti collaterali dei consueti protocolli chemioterapici e di terapia radiante.

Ne consegue pertanto come l'applicazione precoce e come terapia di prima linea del MDB, in un organismo non debilitato dagli effetti tossici, mutageni e immunodepressivi della chemio-radioterapia, abbia grandemente facilitato il risultati di risposta obiettiva, sopravvivenza e qualità di vita.

CONCLUSIONI

Il razionale teorico dell'impiego di molecole biologiche sulle neoplasie mammarie, supportato dai risultati clinici sopra riportati; comprova la logicità ed efficacia della concezione multiterapica del MDB, terapia biologica dei tumori: l'interazione sinergica dei suoi componenti asseconda ed esalta le reazioni vitali e l'omeostasi antitumorale per metterle in condizione di contrapporsi all'anarchia dei processi neoplastici del microambiente tumorale.

Sinteticamente, la terapia biologica si propone di contrastare la progressione del fenotipo neoplastico attraverso:

- a) *L'inibizione della proliferazione* neoplastica mediante i processi cellulari di apoptosi/necrosi e privazione dei ormoni e fattori di crescita cellulari;
- b) *Il contrasto della spiccata tendenza mutagena* mediante l'attivazione diretta dei sistemi di riparazione del DNA, ed attraverso la riprogrammazione cellulare epigenetica.
- c) *Il blocco dell progressione neoplastica*, mediante l'abbattimento della formazione dei binari ematici (*Neoangiogenesi-Linfoangiogenesi*) e dei fenomeni di motilità cellulare (*migrazione*), essenziali per la disseminazione neoplastica a lungo raggio;
- d) *La difesa* dall'aggressione neoplastica attraverso il potenziamento delle difese naturali (immunità innata ed acquisita);

Il tumore infatti è da considerarsi come una deviazione afinalistica dell'omeostasi cellulare, per cui occorre riportare le reazioni biochimiche deviate verso la norma attraverso il potenziamento e la modulazione di tutti quei mezzi che la Fisiologia considera essenziali per la vita.

Il documentato sinergismo antiangiogenico di ogni componente del MDB, unitamente a quello antiproliferativo di somatostatina e inibitori prolattinici ed estrogenici e quello differenziante immunomodulante, trofico e omeostatico degli altri componenti del MDB, hanno conseguito questo risultato evitando da una parte la grave tossicità e danni a volte permanenti delle consuete terapie mediche del cancro, dall' altra incrementando notevolmente il PS e la qualità e durata della vita.

In conclusione, gli autori ritengono utile e doveroso segnalare tale indagine osservazionale per invitare la comunità scientifica ad un maggiore interesse. Riteniamo infatti che i pochi studi clinici

effettuati sull' impiego multiterapico sinergico di queste molecole biologiche andrebbero approfonditi ed estesi alle varie patologie neoplastiche esaurientemente documentati e diffusi. Futuri studi clinici randomizzati e a doppio cieco del suddetto trattamento sono ben auspicabili.