

**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**

Sede Amministrativa: Università degli Studi di Padova

Dipartimento di *Scienze Cardiologiche, Toraciche e Vascolari*

SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN : Scienze Mediche, Cliniche e Sperimentali.

INDIRIZZO: Metodologia Clinica, Scienze Endocrinologiche, Diabetologiche e Nefrologiche.

CICLO: XXVIII

Eventi endocrini correlati alla somministrazione di farmaci antitumorali

Direttore della Scuola : Ch.mo Prof. Gaetano Thiene

Coordinatore d'indirizzo: Ch.mo Prof. Roberto Vettor

Supervisore :Ch.mo Prof. Giuseppe Opocher

Correlatore: Dr.ssa Stefania Zovato

Dottorando : Sonia Faoro
(firma del dottorando)

ABBREVIAZIONI	4
INTRODUZIONE	5
Effetti collaterali e reazioni avverse ai farmaci antitumorali (ADR)	5
Nuove classi di farmaci oncologici ed effetti avversi di tipo endocrino.....	6
a. Gli Inibitori di terza generazione dell'aromatasi.....	6
b. Gli Inibitori delle Tirosinkinasi.	8
c. Gli Inibitori del Checkpoint Immunitario.....	9
CAPITOLO 1.....	11
Ipotiroidismo secondario alla somministrazione di Sunitinib nel carcinoma renale avanzato (mRCC) come fattore predittivo di risposta alla terapia. Uno studio retrospettivo e una meta-analisi.	11
1.1. Premessa.....	11
1.2. Obiettivi dello studio.....	13
1.3. Pazienti e metodi	14
1.4. Analisi Statistica.....	16
1.5. Risultati	17
1.5.1. Analisi di sopravvivenza (Studio IOV).....	17
1.5.2. Meta-analisi	19
1.6. Discussione	23
1.7. Conclusioni.....	25
CAPITOLO 2.....	26
Ipfosite autoimmune (HI) secondaria a somministrazione di ipilimumab in pazienti affetti da melanoma metastatico.	26
Proposta di un algoritmo clinico di sorveglianza	26
2.1 Premessa.....	26
2.2 Obiettivi.....	28
2.3 Metodi	28
2.4 Presentazione e discussione dei casi clinici.....	30
2.5 Proposta di percorso diagnostico terapeutico a scopo osservazionale.....	32
2.6 Conclusione.....	33
CAPITOLO 3.....	38
Acido Zoledronico nella profilassi antifratturativa di donne in post menopausa con carcinoma mammario in terapia ormonale adiuvante (CTIBL- cancer treatment-induced bone loss)	38
3.1 Premessa.....	38
3.2 Razionale dell'Acido Zoledronico nella CTIBL	39
3.3 Impatto sulla sopravvivenza della terapia adiuvante con bisfosfonati nel carcinoma della mammella in stadio precoce: analisi della letteratura.....	40
3.4 Obiettivi dello studio.....	41
3.5 Disegno dello studio	41
3.6 Calcolo della numerosita' campionaria	42

3.7	Popolazione in studio	42
3.8	Criteri di inclusione ed esclusione	43
3.9	Materiali e Metodi.....	43
3.10	Analisi statistica.....	44
3.11	Risultati	44
3.11.1	Primo obiettivo	44
3.11.2	Secondo obiettivo.....	47
3.11.3	Terzo obiettivo.....	49
3.12	Discussione	49
3.13	Conclusioni.....	51
	Bibliografia.....	52

ABBREVIAZIONI

ACTH	ormone corticotropo	IH	ipofisite autoimmune
ADH	ormone antidiuretico o vasopressina	IL2	interleuchina 2
AES	Eventi avversi	INF	interferone
AI	Inibitori dell'aromatasi	IOV	Istituto Oncologico Veneto
AIFA	agenzia italiana del farmaco	KIT	recettore del fattore della cellula staminale
AIOM	Associazione di Italiana di Oncologia Medica	LH	ormone luteinizzante
anti-CTL4	anticorpo monoclonale contro Antigene 4 del linfocita T citotossico	MOC	Mineralometria Ossea Computerizzata
ASCO	American Society of Clinical Oncology	mRCC	carcinoma a cellule renali metastatico
BMD	densità minerale ossea	OS	sopravvivenza globale
CI	intervallo di confidenza	PDGFR	recettore del fattore di crescita di derivazione piastrinica
CSF-1R	recettore del fattore stimolante le colonie	PFS	sopravvivenza libera da progressione
CTIBL	Trattamento anti tumorale associato a perdita ossea	PRL	prolattina
CTL4	Antigene 4 del linfocita T citotossico	RET	recettore del fattore neurotrofico di derivazione gliale
CTX	Telopeptide C-Terminale del Collagene di Tipo 1	RMN	risonanza magnetica nucleare
DFS	sopravvivenza libera da malattia	SERM	modulatore selettivo del recettore degli estrogeni
EMA	European Medicines Agency	SSN	Servizio Sanitario Nazionale
FDA	Food and Drug Administration	TAA	antigeni associati ai tumori
FLT3	recettore del fattore Fms simile	TKI	inibitori tirosinchinasi
FSH	ormone follicolo stimolante	TSH	ormone tireotropo
HR	Hazard Ratio	VEGFR	recettore del fattore di crescita vascolare endoteliale
IGF-1	fattore di crescita insulino simile tipo 1	VHL	von Hippel-Lindau.

INTRODUZIONE

Effetti collaterali e reazioni avverse ai farmaci antitumorali (ADR)

Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità l'effetto collaterale del farmaco è un *effetto del farmaco secondario praticamente inevitabile prodotto a dosi terapeutiche*, mentre la reazione avversa (ADR) è qualsiasi effetto nocivo non voluto ed indesiderato che avviene sempre a dosi normali di farmaco.

Nella pratica clinica oncologica, è difficile distinguere tra effetto collaterale e reazione avversa in quanto i farmaci antitumorali tradizionali (o citotossici) presentano un basso indice terapeutico (ovvero un basso rapporto tra la dose tossica e la dose terapeutica). I pesanti effetti collaterali, causati dai trattamenti oncologici, sono considerati come “scontati” sia dal paziente sia dal medico ai fini dell'efficacia della terapia. Per tale motivo, la pratica della segnalazione di ADR in area oncologica è poco applicata e con un livello estremo di “under-reporting” rispetto ad altre classi di medicinali (1).

La tossicità dei farmaci antitumorali tradizionali (o citotossici) è dovuta al loro meccanismo d'azione poco selettivo, che ha come bersaglio il DNA delle cellule (tumorali e non). Sono attivi verso i tessuti a crescita rapida, come le cellule tumorali, ma anche come i bulbi piliferi, le mucose, il midollo osseo, le cellule germinali, con i conseguenti inevitabili effetti tossici quali perdita di capelli, nausea, vomito, diarrea, neutropenia, menopausa precoce, ecc...

In letteratura, esistono molti studi relativamente a questo tipo di reazioni avverse. Tant'è che, durante gli studi clinici, gli oncologi sono attenti nel documentarne la frequenza e la gravità e nel cercare di prevenirli e di gestirli.

Peraltro, la terapia oncologica è in continua evoluzione ed ai farmaci convenzionali si stanno affiancando nuovi agenti.

Seguendo il mito del “magic bullet”, negli ultimi 15 anni (la data di immissione in commercio di Herceptin, il primo farmaco antitumorale a bersaglio molecolare, è avvenuta nell'agosto del 2000) i grandi colossi farmaceutici hanno introdotto nel mercato farmaci “molecolarmente” orientati (anticorpi monoclonali, inibitori di tirosin chinasi, ecc.) che avrebbero dovuto essere in grado di distruggere le cellule neoplastiche con un meccanismo molecolare mirato verso un bersaglio fisso e con minimi effetti tossici.

In realtà, l'idea di “target therapy” intesa come terapia mirata verso un bersaglio tumorale selezionato e fisso, sta tramontando: si è visto, infatti, che i “bersagli fissi” della cellula tumorale si modificano in continuazione creando resistenze alla terapia, ma possono anche essere geneticamente diversi da individuo a individuo.

Inoltre, nella pratica clinica, è emerso che tali nuove terapie possono causare effetti avversi e problemi inaspettati (come, per esempio, la cardi tossicità da trastuzumab, la sindrome veno-occlusiva epatica da gemtuzumab ozogamicina, “l’ipersensibilità” da anticorpi monoclonali, la polmonite interstiziale da gefitinib, ecc.).

Comunque, nonostante l’inconsistenza della definizione “target therapy”, questi trattamenti esprimono, in alcuni casi, un’efficacia superiore ai trattamenti tradizionali, specialmente nello stadio metastatico del tumore.

In seguito all’introduzione di queste nuove molecole, si è altresì visto che è cambiato il tipo di segnalazioni di ADR e/o effetti tossici dovuti a terapie antitumorali.

Per esempio, da uno studio di Phyllis M. Lau del 2004 - sull’incidenza, la prevedibilità e la gravità delle reazioni avverse in pazienti oncologici ospedalizzati – emerge che le dieci più frequenti tossicità sono causate dalle terapie oncologiche tradizionali (2)

Invece, da un recente lavoro di Christine Carrington relativo alla terapia antitumorale orale con inibitori della tirosin kinasi risulta che l’elenco degli effetti avversi più frequenti è modificato essendo comparsi, accanto a quelli di tipo gastrointestinale e dermatologico, quelli respiratori, cardiovascolari ed endocrini (3).

Lo scopo del presente lavoro è quello di analizzare le diverse ricadute cliniche associate agli eventi avversi di tipo endocrino causati dalla somministrazione di farmaci antitumorali a bersaglio molecolare.

Nuove classi di farmaci oncologici ed effetti avversi di tipo endocrino.

Svolgendo una ricerca nella banca dati PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) – con l’immissione di parole chiave, come “cancer patients” AND “adverse drug reactions” AND “endocrine system” si ottengono solo 26 citazioni relative a eventi avversi di tipo endocrino causati da terapie oncologiche (4)

Dal 1993 al 2008, sono citati lavori riguardanti prevalentemente effetti tossici causati dalla radioterapia a livello cerebrale e dalla chemioterapia classica a livello gonadico.

Dal 2006 in poi, sono menzionati studi sugli effetti tossici di tipo endocrino di tre nuove classi di farmaci ovvero gli inibitori dell’aromatasi di III generazione, gli inibitori della tirosinkinasi e gli inibitori del Checkpoint Immunitario (in particolare gli anti-CTL4).

a. Gli Inibitori di terza generazione dell’aromatasi

Gli inibitori dell’aromatasi inibiscono o inattivano l’enzima, determinando la soppressione totale della sintesi di estrogeni, in particolare nelle donne in post-menopausa.

Sono classificati in inibitori di tipo 1 (o inattivatori enzimatici steroidei: sono steroidi analoghi dell'androstenedione che si legano irreversibilmente al medesimo sito della molecola dell'aromatasi) ed in inibitori di tipo 2 (o inibitori enzimatici non steroidei: sono sostanze a struttura non steroidea che si legano reversibilmente al gruppo eme dell'enzima aromatasi) (5).

Un'ulteriore classificazione è quella che prevede tre generazioni di inibitori distinguendoli sulla base del tempo di scoperta; si parla perciò di inibitori di I, II e III generazione.

Nella presente tesi sono considerati quelli di III generazione e sono l'anastrozolo (Arimidex®) il letrozolo (Femara®) e l'esamestano (Aromasin®). Tali composti non influenzano in modo significativo la steroidogenesi surrenalica (e non modificano quindi i livelli basali di cortisolo ed aldosterone) ed hanno il vantaggio di poter essere somministrati per via orale. L'anastrozolo, il letrozolo sono inibitori dell'aromatasi di tipo 2 (non steroidei). Essi hanno una emivita plasmatica di circa 48 ore. L'esamestano è invece un inibitore dell'aromatasi di tipo 1 (inattivatore steroideo). La sua emivita plasmatica è di 27 ore (6,7). Gli inibitori dell'aromatasi di terza generazione hanno dimostrato negli studi preclinici una elevata potenza (superiore di tre ordini di grandezza rispetto a quella dell'aminoglutetimide), associata ad una buona tollerabilità.

Sono utilizzati nella terapia ormonale adiuvante di donne in post-menopausa con carcinoma mammario che esprime i recettori estrogenici (ER) e progestinici (PgR) (70-80% di tutti i tumori mammari), svolgendo un'azione anti-estrogenica totale. In queste pazienti, infatti, la sintesi di estrogeni a partire dal testosterone è l'unica via di produzione di estrogeni.

L'efficacia di un trattamento ormonale adiuvante in una paziente operata di neoplasia mammaria, dipende dallo stato menopausale. Nelle donne in premenopausa il trattamento ormonale di riferimento è il tamoxifene (un antagonista recettoriale degli estrogeni) che, se somministrato per 5 anni, riduce il rischio di recidiva del 44% al di sotto dei 40 anni e del 29% tra i 40 ed i 50 anni. Nelle donne in post-menopausa l'utilizzo del tamoxifene è stato sostituito dall'impiego degli inibitori dell'aromatasi, che si sono dimostrati più efficaci in termini di riduzione assoluta del rischio di recidiva (8).

Uno dei principali effetti collaterali degli inibitori dell'aromatasi è il riassorbimento osseo infatti vengono anche definiti trattamento anti-cancro associati a perdita di massa ossea (CTIBL).

Tale effetto assume un'importanza maggiore in donne in post-menopausa già predisposte in modo fisiologico alla riduzione di densità ossea. Infatti, la totale soppressione degli estrogeni plasmatici si traduce in un ulteriore incremento del riassorbimento osseo, documentato attraverso l'analisi di alcuni biomarker specifici di attività del tessuto osseo. Tutti gli inibitori dell'aromatasi sono risultati associati ad un rischio maggiore di fratture ossee rispetto a Tamoxifene (9,10).

Le pazienti in trattamento con inibitori dell'aromatasi sono, pertanto, sottoposte a terapia antifratturativa con farmaci utilizzati nell'osteoporosi secondo le indicazioni della Nota AIFA n.79.

In questa tesi si approfondiscono gli aspetti della terapia con acido zoledronico utilizzato per prevenire le fratture ossee in questa tipologia di pazienti.

b. Gli Inibitori delle Tirosinkinasi.

Inibitori della tirosina chinasi (TKI) sono una nuova classe di farmaci antitumorali, che agiscono inibendo l'attività degli enzimi tirosin chinasi associate a diversi recettori cellulari.

Le tirosin-chinasi, sono enzimi che catalizzano il trasferimento di un gruppo fosfato da molecole donatrici ad alta energia, l'adenosina trifosfato (ATP), a residui tirosinici associati a specifici recettori, regolando il segnale intracellulare di importanti vie metaboliche coinvolte nella proliferazione, differenziazione e apoptosi cellulare.

Gli inibitori delle tirosin kinasi sono piccole molecole idrofobiche che attraversano la membrana cellulare e svolgono la loro attività antitumorale all'interno della cellula impedendo la fosforilazione della tirosina da parte ATP e inibendo la trasduzione del segnale intracellulare (11, 16).

Sono classificati - in base al tipo di interazione molecolare con sito di legame per l'ATP sul dominio catalitico delle tirosin-kinasi - in tipo I, II e III.

I TKI di tipo I riconoscono la conformazione attiva dell'enzima e si legano al sito di legame per l'ATP attraverso un legame idrogeno competendo con l'ATP stessa. Sunitinib è un inibitore di tipo I.

Gli inibitori di tipo II, invece, agiscono sulla chinasi inattiva e competono in modo indiretto con ATP perché si inseriscono nella tasca idrofobica adiacente al sito di legame per l'ATP bloccandolo. Sorafenib appartiene a questa classe.

Infine, quelli di Tipo III sono definiti anche inibitori covalenti perché si legano con legame covalente alla cisteina in siti specifici dell'enzima. In questo modo l'inibitore blocca con un legame irreversibile il sito. Un esempio di inibitore irreversibile è Vandetanib.

Uno dei vantaggi, rispetto ad altri farmaci antitumorali a bersaglio molecolare come gli anticorpi monoclonali, è la somministrazione per via orale.

Il primo farmaco di questa classe ad essere introdotto nella terapia oncologica è stato Imatinib (Glivec®) nel 2001. Dal 2001 sono stati introdotti in commercio molti altri prodotti ed il loro uso sta diventando molto comune nel trattamento di tumori ematologici e solidi (Tabella 1)

Farmaco	Patologia Tumorale
Axitinib	<i>Carcinoma renale metastatico</i>
Dasatinib	<i>Tumori ematologici</i>
Erlotinib	<i>Adenocarcinoma polmonare</i>
Gefitinib	<i>Adenocarcinoma polmonare</i>
Imatinib	<i>Tumori ematologici</i>
Lapatinib	<i>Carcinoma della mammella metastatico</i>
Nilotinib	<i>Tumori ematologici</i>
Pazopanib	<i>Carcinoma renale metastatico, sarcoma dei tessuti molli</i>
Sorafenib	<i>Carcinoma renale metastatico, epatocarcinoma</i>
Sunitinib	<i>tumore stromale del tratto gastrointestinale, carcinoma renale avanzato/metastatico, tumori neuroendocrini pancreatici</i>
Vandetanib	<i>Tumore midollare della tiroide</i>

Tabella 1. Inibitori delle tirosin-chinasi utilizzati in terapia

Sebbene i TKI sono stati studiati per colpire specifici recettori, è evidente che l'attività "multi target" comporta inevitabilmente la comparsa di effetti collaterali indesiderati poco comuni nella terapia antitumorale convenzionale, come ad esempio quelli endocrino correlati (12).

Tra gli effetti endocrino correlati con la somministrazione di TKI compare l'ipotiroidismo.

In questa tesi e' stata analizzata la relazione tra ipotiroidismo e sopravvivenza in pazienti affetti da carcinoma renale metastatico (mRCC) in trattamento con Sunitinib.

c. Gli Inibitori del Checkpoint Immunitario

Sono una nuova classe di farmaci immunoterapici che sfruttano la capacità del sistema immunitario di individuare ed eliminare le cellule tumorali.

I recettori del linfocita T coinvolti in questo processo sono di due tipi: CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated antigen-4) e PD-1 (Programmed cell Death-1).

I farmaci corrispondenti sono anticorpi monoclonali anti-CTLA4 (ipilimumab) e anti-PD-1 (pembrolizumab e nivolumab)

CTLA-4 è un recettore di membrana del Linfocita T attivato che legandosi ad una proteina di superficie della cellula bersaglio blocca l'attività citotossica del linfocita stesso. Esso è espresso entro 48 ore dall'attivazione del linfocita T (legame dell'antigene al recettore TRC) e a seguito del legame con uno dei suoi ligandi (CD80 e CD86) espressi sulle cellule presentanti l'antigene, trasmette all'interno del linfocita un segnale di tipo inibitorio, contribuendo così alla regolazione omeostatica della risposta immunitaria con riduzione della proliferazione cellulare (arresto del ciclo cellulare in fase G1-S) e l'arresto della secrezione di citochine.

Questo meccanismo fisiologico immunomodulatore consente una risposta immunitaria controllata riducendo il rischio di fenomeni di autoimmunità.

Gli anti-CTLA4 legandosi al recettore bloccano questo meccanismo di autoregolazione, enfatizzando l'attività citotossica dei Linfociti T.

La principale tossicità di questa classe di farmaci è naturalmente immuno-correlata ed è ascrivibile proprio al meccanismo d'azione che comporta una prolungata attività citotossica da parte dei linfociti. Il rilascio massivo di citochine infiammatorie a seguito del blocco del recettore CTLA4 causa, oltre all'effetto terapeutico, anche gli effetti collaterali a carico di vari organi e tessuti.

Le reazioni avverse immunocorrelate più frequenti sono a carico del fegato, della cute, del tratto gastro-enterico, del sistema endocrino. Tra le endocrinopatie immunocorrelate compare l'ipofisite autoimmune che pare essere il più frequente effetto collaterale endocrino segnalato negli studi clinici di farmaci anti-CTLA4 specie con Ipilimumab (14,15).

Ipilimumab (Yervoy®) è stato il primo farmaco di questa classe approvato per l'utilizzo nel melanoma metastatico in Italia nel 2013.

In questa sede sarà proposto un algoritmo clinico per la diagnosi precoce e la gestione a lungo termine dell'ipofisite autoimmune secondaria alla somministrazione di Ipilimumab.

CAPITOLO 1

Ipotiroidismo secondario alla somministrazione di Sunitinib nel carcinoma renale avanzato (mRCC) come fattore predittivo di risposta alla terapia. Uno studio retrospettivo e una meta-analisi.

1.1. Premessa

Il carcinoma a cellule renali (RCC) rappresenta il tumore dell'apparato urinario più frequente. Fino al 30% dei pazienti con RCC si presenta alla diagnosi già con malattia metastatica (mRCC) e le recidive si sviluppano in circa il 40% dei pazienti trattati per malattia locale (1).

Esistono diversi sottotipi di RCC, il più frequente - oltre l'80% - è il tipo istologico a cellule chiare (2).

In passato, a causa dell'elevata resistenza alla chemioterapia citotossica e limitata sensibilità alla radioterapia, il trattamento farmacologico di elezione per il trattamento in prima e seconda linea del mRCC era la immunoterapia con interleuchina-2 (IL2) o interferone- α (IFN α). Tuttavia, la percentuale di risposta a queste citochine è bassa (5-20%) e la percentuale di sopravvivenza a 5 anni è inferiore al 10% (1,2).

In tale quadro di scarse opzioni terapeutiche, si è resa evidente ed urgente la necessità di sviluppare nuovi farmaci per il trattamento del mRCC.

L'orientamento della ricerca oncologica verso farmaci mirati ha consentito lo sviluppo clinico e l'approvazione di nuovi farmaci a bersaglio molecolare (targeted therapy) per la terapia di prima e di seconda linea del mRCC.

Negli ultimi anni, quindi, gli oncologi, si trovano ad affrontare una nuova sfida nel processo decisionale per il trattamento dei pazienti con carcinoma renale metastatico. Ci sono, infatti, più alternative come trattamento di prima e seconda linea e la terapia dovrebbe essere scelta sulla base del miglior rapporto rischio/beneficio, tenendo presente le caratteristiche di ogni paziente in relazione alle caratteristiche dei singoli farmaci.

Sta emergendo, pertanto, la necessità di trovare fattori predittivi di efficacia della terapia che coadiuvino i clinici nella scelta della sequenza di terapia ideale per ogni paziente (3).

Sunitinib ha dimostrato una efficacia superiore rispetto alle terapie convenzionali sia in prima sia in seconda linea (3,4). È un inibitore dei recettori del fattore di crescita di derivazione piastrinica (PDGFR α e PDGFR β), dei recettori del fattore di crescita vascolare endoteliale (VEGFR1, VEGFR2 e VEGFR3), del recettore del fattore della cellula staminale (KIT), del recettore tirosin-chinasico FLT3

(Fms-like tyrosine kinase 3), del recettore CSF-1R (colony stimulating factor receptor (CSF-1R)) e del recettore del fattore neutrofico di derivazione gliale (RET). E' stato il primo farmaco di questa classe ad essere approvato per il carcinoma avanzato a cellule renali (RCC). E' anche utilizzato nel trattamento del tumore stromale gastrointestinale e del tumore neuroendocrino pancreatico.

La dose raccomandata di Sunitinib (Sutent®) nel carcinoma renale è 50 mg da assumere per via orale una volta al giorno, per 4 settimane consecutive, seguite da 2 settimane di riposo (schema 4/2) in modo da effettuare un ciclo completo di 6 settimane (4).

Gli effetti avversi più comuni osservati durante la terapia comprendono affaticamento, diarrea, nausea, mucosite e / o stomatite, eruzioni cutanee, sindrome mano-piede e ipotiroidismo. L'ipotiroidismo, che non era stato segnalato nei primi studi di fase III, si è dimostrato un effetto avverso frequente (>1/10, in studi successivi. Pertanto, è raccomandata la valutazione della funzionalità tiroidea, con la misurazione dei valori di laboratorio, al basale e, durante il trattamento ogni 3 mesi, in tutti i pazienti (4).

Vari studi condotti negli ultimi anni (5-13) hanno cercato di stimare il valore predittivo di efficacia clinica dell'ipotiroidismo nei pazienti trattati con Sunitinib (e con altri inibitori della tirosinkinasi) ma la correlazione tra questo effetto e la sopravvivenza libera da malattia e globale, è tuttavia ancora controversa e non sempre coerente fra i diversi studi.

Recentemente, è stata condotta una meta-analisi per determinare se l'ipotiroidismo acquisito durante la terapia con inibitori della tirosin-kinasi (sunitinib e sorafenib) possa essere un fattore predittivo di efficacia della terapia in pazienti con carcinoma renale metastatico (16) ed i risultati sembrano confermare un beneficio in termini di sopravvivenza globale o OS (end point secondario), ma non di sopravvivenza libera da progressione o PFS (end point primario).

IOV STUDY		† No. (%)
N.PATIENTS		44
GENDER	F	12 (27)
		33 (73)
AGE	63,8 (range 45- 84)	
MEDIAN TIME THERAPY	21 (range 1-72)	
MEDIAN NUMBER CYCLES	14 (range 1-46)	
HYPOTHYROIDISM PREVALENCE	27/44 (61)	
HISTOLOGY	ND	9/44(20)
	Chromophobe RCC	2/44(4)
	Clear cell RCC	34/44(75)
ECOG performance status	ND	8/44 (18)
	0	27/44 (60)
	1	9/44(20)
	2	1/44 (2)
N. METASTATIC SITES	1	33/44 (73)
	2	11/44 (24)
	3	1/44 (2)
NEPHRECTOMY	43/44 (96)	
PREVIOUS THERAPY	9/44 (20)	
ASSOCIATED DISEASES	32 (71)	
CARDIOVASCULAR	15(33)	
OTHER CANCER	5(11)	
GENITOURINARY	5(11)	
ENDOCRINE AND METABOLIC	9(20)	
GASTROINTESTINAL	4(9)	
RHEUMATIC	1(2)	
VON HIPPEL LINDAU SYNDROME	5(11)	
Sites of metastasis, † No. (%)		
Other sites	14 (33)	
Lung	11 /24)	
Liver	7 (15)	
Bone	7 (15)	
Pancreas	3 (6)	
Kidney	3 (6)	

Tabella 1.1 Caratteristiche dei pazienti studio IOV

1.2. Obiettivi dello studio

L'obiettivo generale del presente lavoro è quello di valutare se l'ipotiroidismo secondario alla somministrazione di sunitinib nel carcinoma renale possa essere un fattore predittivo di risposta alla terapia. Tale valutazione sarà effettuata sulla base della sopravvivenza libera da progressione (PFS, outcome primario) e della sopravvivenza globale (OS, outcome secondario).

Allo scopo sono state condotte 2 analisi:

- Uno studio osservazionale retrospettivo di una coorte di 45 pazienti dell'Istituto Oncologico Veneto (Studio IOV2016);
- Revisione della letteratura ed esecuzione di una meta-analisi (incluso lo studio IOV2016).

1.3. Pazienti e metodi

Nello studio retrospettivo sono stati inclusi 45 pazienti affetti da RCC metastatico sottoposti ad almeno 1 trattamento con Sunitinib presso l'Istituto Veneto di Oncologia di Padova (IOV), nel periodo 2008 - 2015.

I dati riguardanti la casistica in studio sono stati ottenuti mediante la revisione delle cartelle cliniche.

Sul totale dei pazienti, 12 pazienti erano donne (27%) e 33 maschi (73%). L'età media era di 63, 8 anni (range 45-84). Per la maggior parte dei pazienti sunitinib rappresentava la prima linea di trattamento (n = 36).

Tutti i pazienti hanno ricevuto Sunitinib a 50 mg al giorno a cicli ripetuti di 6 settimane (4 settimane consecutive di sunitinib seguite da due settimane di riposo).

In base alla tossicità del trattamento sono stati fatti aggiustamenti della dose (a 37,5 o 25 mg al giorno) come raccomandato dalla scheda tecnica del farmaco. Tutti i pazienti selezionati rispondono ai criteri di eleggibilità per la prescrizione di sunitinib del registro di monitoraggio intensivo dell'AIFA (14).

In Italia l'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) ha appositamente istituito il Registro dei farmaci oncologici sottoposti a monitoraggio con lo scopo di consentire da una parte la verifica dell'appropriato uso di questi farmaci, dall'altra di raccogliere dati di tossicità per meglio definire il loro profilo di sicurezza.

La maggior parte dei pazienti ha subito nefrectomia (96%), l'80% presenta una buona performance status (0-1) e il 73% ha solo un sito di metastasi. L'istologia prevalente è quella a cellule chiare (75%).

I pazienti hanno ricevuto una mediana di quattordici cicli di trattamento (range 1-46 sunitinib). Le principali malattie associate alla patologia tumorale sono di tipo cardiovascolare (n.15) e endocrino-metaboliche (n.9). Cinque pazienti sono affetti dalla sindrome di von Hippel-Lindau.

In tabella 1.1 sono indicate le caratteristiche generali della popolazione in studio.

Sulla base delle raccomandazioni della scheda tecnica e del registro AIFA, è stato effettuato il monitoraggio dei valori ematici di TSH. Un paziente era ipotiroidico prima di iniziare la terapia con sunitinib ed è stato escluso dallo studio, pertanto, l'analisi di sopravvivenza è stata eseguita su 44 pazienti. L'ipotiroidismo subclinico è stato definito come un aumento del TSH al di sopra del limite superiore normale (4,0 mIU / L). La terapia sostitutiva con levotiroxina nei pazienti ipotiroidici era prevista, a discrezione del clinico, se il livello di TSH era > 10 mIU / L e/o se il paziente aveva avuto sintomi clinicamente significativi relativi a ipotiroidismo.

La progressione della malattia è stata stabilita sulla base di cambiamenti radiografici e clinici.

La sopravvivenza libera da progressione (PFS) è stata definita come il tempo tra l'inizio del trattamento e la progressione della malattia, la sopravvivenza globale (OS) è stata definita, invece, come il tempo tra l'inizio del trattamento e la morte del soggetto per la malattia oncologica. La sopravvivenza

al termine del periodo di osservazione o morte per altra causa è stata considerata come un'osservazione censurata.

Nella metanalisi sono stati inclusi solo gli studi (retrospettivi e prospettici) in cui i pazienti, affetti da carcinoma renale metastatico, erano in trattamento con sunitinib (5-13). E' considerato l'ipotiroidismo di qualunque grado. Sono stati esclusi gli studi che includevano pazienti con altri tipi di tumore e trattati con TKI diversi da sunitinib.

Tabella 1.2 Caratteristiche degli studi eleggibili.

Reference	Type of study		Observation time	Sex		Median age	n. patients	n.patients Developed Hypothyroidism	% Hypothyroidism		Median time to TSH alteration (months)	Quality Assessment - Highest Score (7)	GRADE
				F	M								
Bozkurt et al 2015 (12)	retrospective	full text	2008-2013	22	59	60	81	30	37	TSH >4.4 UI/ml	3	6	Moderate quality
Studio IOV 2016	retrospective	full text	2008-2015	12	31	64	44	25	56	TSH >4.0 mIU/l	3	6	Low qualità
Baldazzi et al. 2012 (13)	retrospective	full text	2007-2009	8	14	61	22	13	59,1	TSH >4.0 mIU/l	11	6	Low quality
Wolter et al 2008 (5)	prospective	full text	2005-2007	10	30	59	40	12	33	TSH >4.2 mIU/l	1	4	Moderate quality
Davor kust et al 2014(11)	prospective	full text	2008-2013	7	34	60	41	12	29,3	TSH > ULN*	4,5	7	Moderate quality
Sabatier et al 2012(9)	retrospective	full text	2005-2008	21	48	63	69	24	35	TSH >4.5 mIU/l	5,4	7	Moderate quality
Schmidinger et al 2011 (10)	prospective	full text	2006-2008	/	/	64	44	12	27	TSH >3.77 mM/	2	5	Moderate quality
Papazisis et al 2010 (8)	retrospective	abstract**	NA	/	/	/	45	17	38	TSH >4.0 mIU/l	NA	2	/
Pinto Alvaro et al 2010 (6)	retrospective	abstract**	NA	/	/	/	29	11	38	NA	NA	2	/
Pinto et al 2012 (7)	retrospective	abstract**	NA	/	/	/	50	20	40	TSH >5.5 mIU/l	NA	2	/

*upper limit of normal, ** data derived from the systematic review (16).

Le pubblicazioni sono state identificate tramite ricerca in Medline, utilizzando il servizio on-line su PubMed, aggiornato a dicembre 2015. Inserendo la seguente combinazione di parole chiave ((sunitinib AND renal cell carcinoma) AND thyroid function) sono state individuate 48 citazioni dalle quali sono state selezionati gli studi di interesse per la meta-analisi. In una delle citazioni (una revisione sistemica) sono stati identificati 3 studi eleggibili (Fig.1.1). Il metodo di valutazione della qualità degli studi si è basato sulla checklist NOS (Newcastle-Ottawa scale) (28) che permette anche la misura della qualità metodologica (score) di ciascun studio consentendo, quindi, anche il confronto metodologico fra studi. Il valore massimo di score è 7. E' stata valutata anche la qualità dell'evidenza sulla base del metodo GRADE (29). Nella tabella 1.2 sono riportati i riferimenti degli studi e le loro principali caratteristiche.

Abbiamo raccolto dati relativi agli Hazard ratio di dieci studi osservazionali (tre in più rispetto alla meta-analisi citata in premessa).

I dati considerati sono: nome dell'autore e l'anno di pubblicazione, disegno dello studio, tasso di ipotiroidismo durante la terapia con sunitinib, misure di outcome (PFS e / o OS) e hazard ratio (HR) con il 95% intervallo di confidenza (IC) per PFS e / o OS, stratificati in base allo stato di ipotiroidismo.

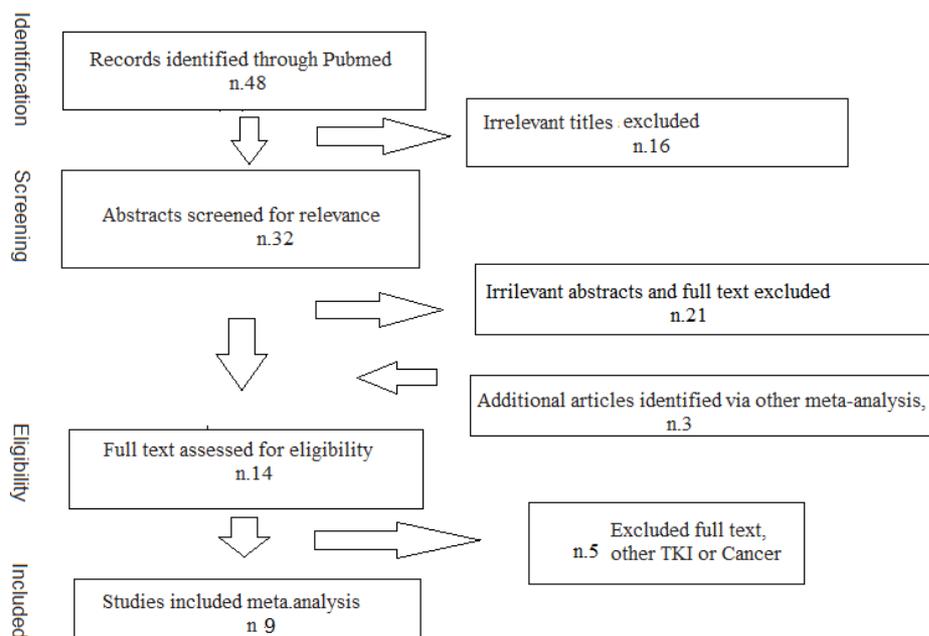


Figura 1.1. Algoritmo di selezione degli studi.

1.4. Analisi Statistica

La Stima dei due outcome, PFS e OS, nella coorte dei pazienti IOV, che sono stati stratificati sulla base dello stato di ipotiroidismo durante la terapia con sunitinib, è stata effettuata utilizzando il metodo di Kaplan-Meier e le differenze tra i gruppi sono stati determinati utilizzando il log-rank test.

Per il calcolo di HR è stata utilizzato il modello di regressione univariata di Cox.

Per l'esecuzione della metanalisi sono stati considerati gli HR e relativi intervalli di confidenza ricavati dagli studi pubblicati e l'hazard ratio globale è stato calcolato sulla base del modello a effetti casuali secondo Der Simonian e Laird (17).

Questo tipo di approccio è utile quando esiste un'alta eterogeneità (I²) tra i gruppi in studio. Il valore di I² indica il grado di l'eterogeneità tra i diversi studi. Un valore di I² > del 50% indica che l'eterogeneità è statisticamente significativa e che il 50% della variabilità è fra le stime dei singoli studi (true variance o between study variance), non dalla variabilità all'interno degli studi (chance variance o within study variance): ciò suggerisce che non si sta misurando un valore unico da un'unica popolazione ma che coesistono effetti diversi legati a popolazioni diverse. Per minimizzare questa variabilità si utilizza il modello a effetti casuali. Diversamente (I² <25%) si utilizza il modello a effetti fissi.

In caso di dati HR mancanti il calcolo è stato effettuato utilizzando le curve di Kaplan Meier secondo il metodo descritto da Tierney et al (15).

L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando il software libero R (<http://www.r-projet.org>). Tutti i valori di p riportati sono a 2 code. Il valore di $p \leq 0,05$ è stato considerato statisticamente significativo.

1.5. Risultati

1.5.1. Analisi di sopravvivenza (Studio IOV)

Sono stati individuati 27 casi di ipotiroidismo sunitinib correlato (61%). Sono stati 21 i casi di TSH >10mIU/L e di cui 18 sottoposti a terapia sostitutiva con levotiroxina.

La mediana di insorgenza di ipotiroidismo subclinico (TSH > 4.0 mIU/L) è di 3 mesi.

Il numero di progressioni totali sono state 25, 11 nel gruppo dei pazienti che hanno sviluppato l'ipotiroidismo sunitinib indotto e 14 in quello dei pazienti eutiroidei, mentre il numero di morti per malattia nei due gruppi sono state rispettivamente di 4 e 8 (Tabella 3).

Tabella 1.3. Riepilogo dati degli eventi di progressione e morte.

	Progressione*	Morte	Censurati Sopravvissuti	Censurati morti per altre cause
Gruppo ipotiroidei	11	4	15	1
Gruppo eutiroidei	14	8	3	0
Totale	25	12	18	1

* sono incluse le progressioni anche dei deceduti.

All'analisi di sopravvivenza è stata confermata la significatività statisticamente superiore della PFS e OS per i pazienti ipotiroidei (Tabella 4-5 e Figura 2,3).

Tabella 1.4. Risultati analisi della Sopravvivenza libera da malattia (PFS)

	Numero totale	Numero eventi	Mediana (Mesi)	(Log-rank) p-value	Hazard ratio	IC95% Low-Upper
Ipotiroidei	27	11	65	0,000034	0,12	0,04-0,32
Eutiroidei	17	14	11			

Tabella 1.5. Risultati dell'analisi della Sopravvivenza Globale (OS)

Gruppo	Numero totale	Numero eventi	Mediana (mesi)	(Log-rank) p-value	Hazard ratio	IC95% Low-Upper
Ipotiroidei	27	4	NA	0,00027	0,05	0,008 -0,24
Eutiroidei	17	8	22			

E' stato eseguito anche il test di rischio proporzionale per stabilire se il coefficiente del nostro modello (ipotiroidismo) è tempo dipendente, di seguito i risultati:

PFS	Rho	chisq	p
Ipotiroidismo	0.06	0.09	0.763

OS	rho	chisq	p
Ipotiroidismo	0.148	0.22	0.639

Da un punto di vista statistico la nostra variabile sembra essere indipendente dal tempo.

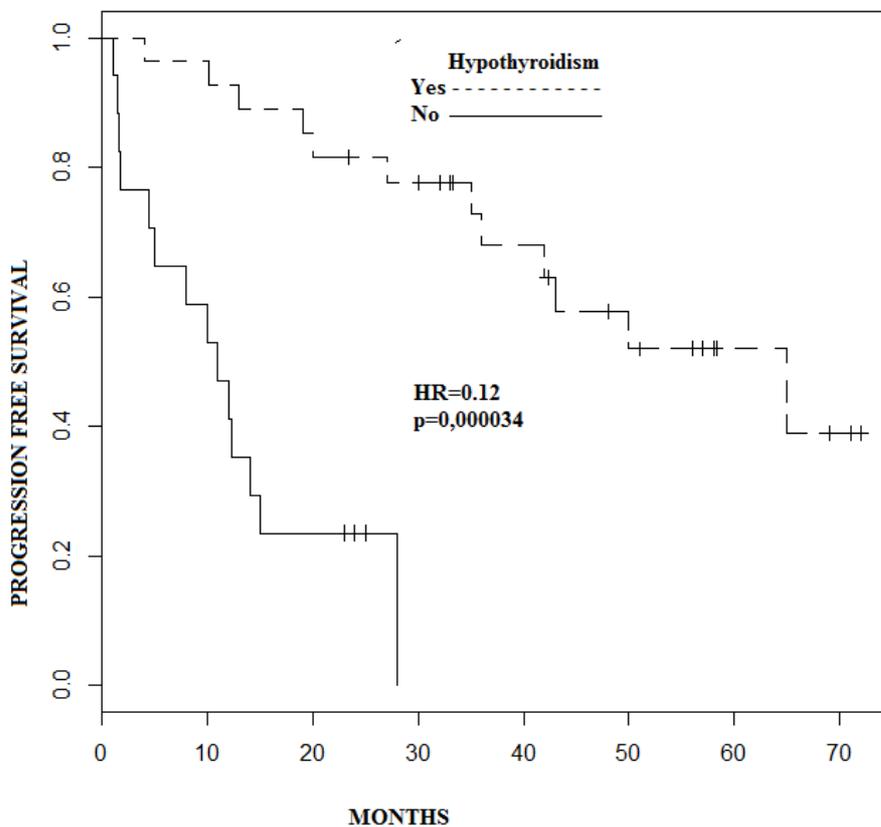


Figura 1.2 Curva di Kaplan Meier per la stima della sopravvivenza libera da malattia (PFS).

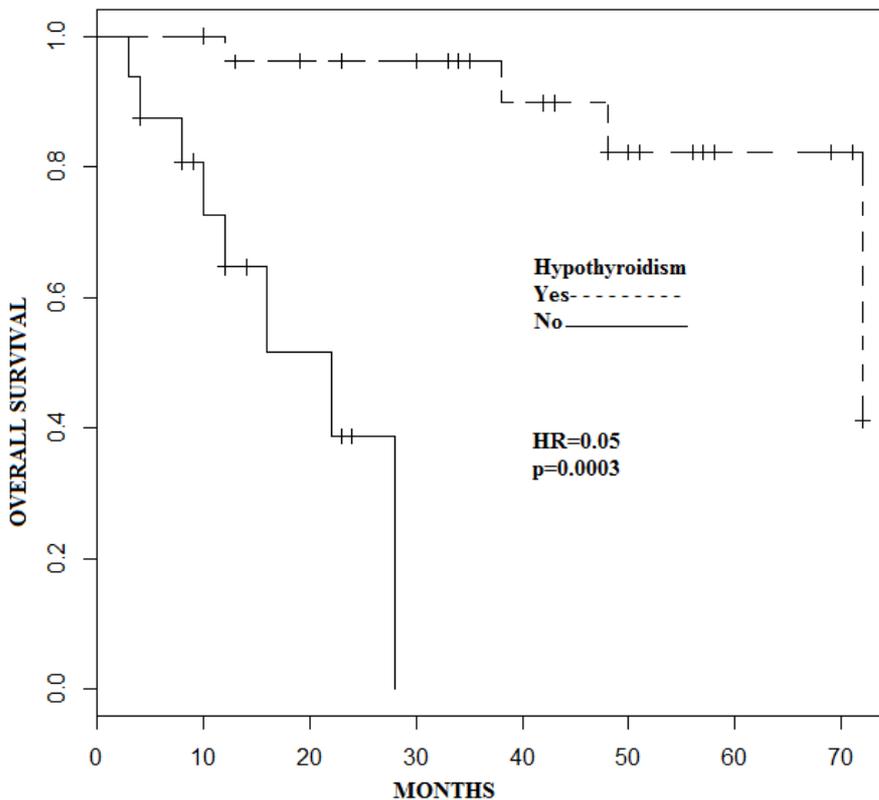


Figura 1.3. Curva Kaplan Meier per la stima della sopravvivenza globale (OS)

1.5.2. Meta-analisi

Sono stati selezionati 10 studi osservazionali (5-13) (per un totale di 465 partecipanti) che includevano pazienti affetti da carcinoma renale metastatico trattati con Sunitinib, in cui era riportato il dato di frequenza dell'ipotiroidismo sunitinib-correlato e i dati di efficacia (Tabella 4). Nove studi erano eleggibili per l'analisi della PFS e sette per la OS.

L'ipotiroidismo Sunitinib-indotto è associato ad un significativo miglioramento della sopravvivenza libera da progressione (PFS) (HR (hazard ratio) = 0,593; IC 95% (intervallo di confidenza) 0,4-0,88, valore $p < 0.01$) e della sopravvivenza globale (OS) (HR = 0.48; 95% CI 0,29 a 0,77; valore $P = 0,003$) (Figura n. 4 e n.5).

Forest Plot PFS

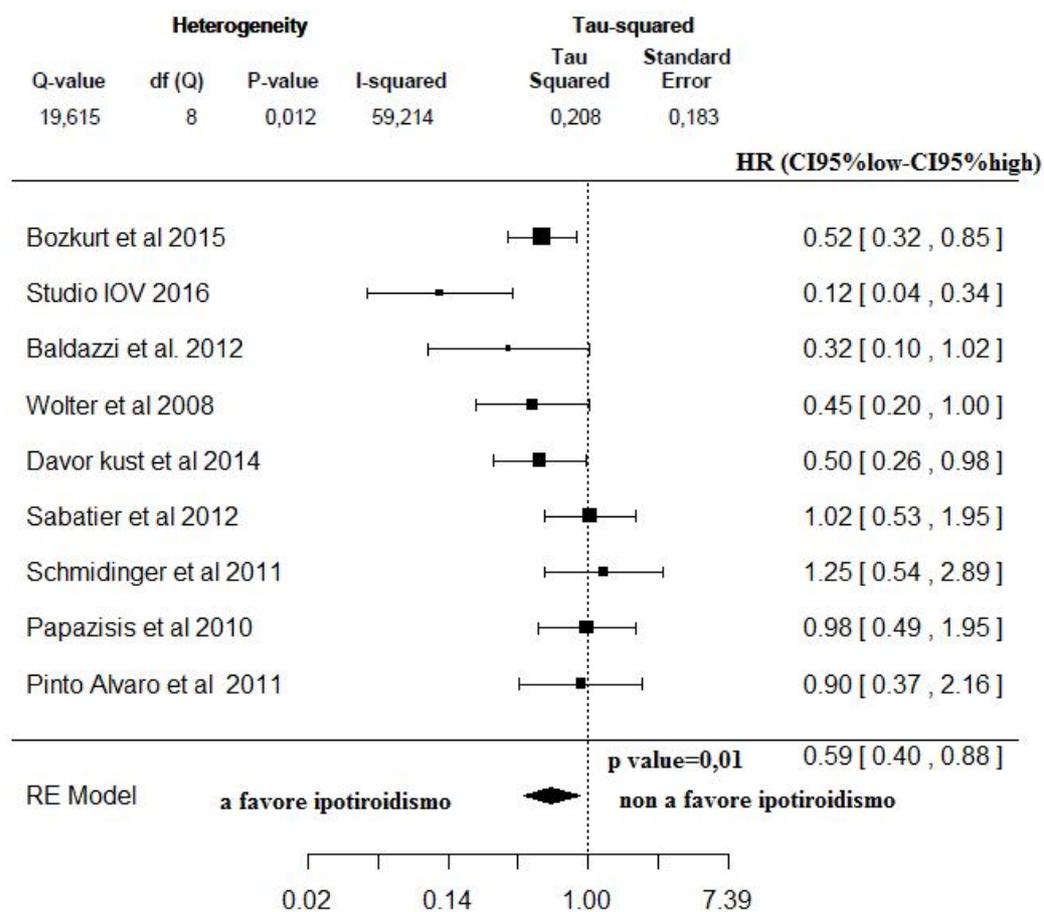


Figura 1.4. Meta-analisi della Sopravvivenza libera da progressione di pazienti che sono stati trattati con Sunitinib e che hanno sviluppato ipotiroidismo.

Forest Plot OS

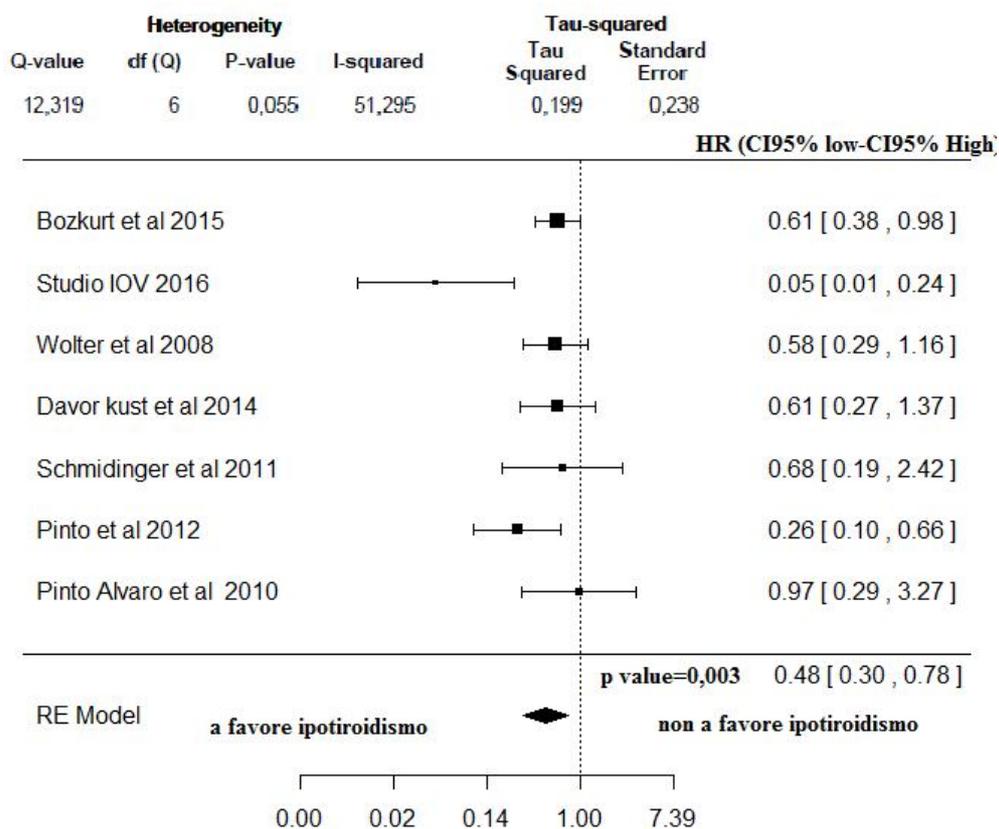


Figura 1.5 Meta-analisi della Sopravvivenza globale di pazienti che sono stati trattati con Sunitinib e che hanno sviluppato ipotiroidismo

Abbiamo rilevato una significativa eterogeneità tra gli studi (PFS, I^2 statistica = 59%, Q-test valore $p = 0,012$; mentre per OS, $I^2 = 51\%$, valore P Q-test = 0.055), pertanto, è stato adottato il modello ad effetti casuali (RE model) per il calcolo dell'hazard ratio globale.

Per chiarire la causa dell'elevato grado di eterogeneità tra gruppi è stata eseguita una meta-regressione relativa a 3 fattori che sembravano essere non omogenei: il tipo di disegno (retrospettivo o prospettico), la durata del periodo di osservazione e il tempo medio di follow-up. Nessuno di questi fattori impattava sulla eterogeneità. Pertanto, risultando non chiara la causa della elevato I^2 , abbiamo eseguito un'analisi di sensitività per individuare gli studi che impattavano sulla nostra variabile. Lo studio che impatta maggiormente è risultato quello dello IOV.

Tuttavia, il risultato della seconda meta-analisi dopo l'analisi di sensitività è sovrapponibile alla prima, a fronte di una diminuzione drastica della eterogeneità tra gruppi, resta significativo il ruolo predittivo di sopravvivenza dell'ipotiroidismo: la PFS con HR = 0,68 (IC 95% 0,51-0,92) e il valore $p = 0,013$ mentre la OS con HR = 0.57 (95% CI da 0,42 a 0,78) e valore $p < 0,01$) (Fig.6,7)

I² (total heterogeneity / total variability): 27.14%

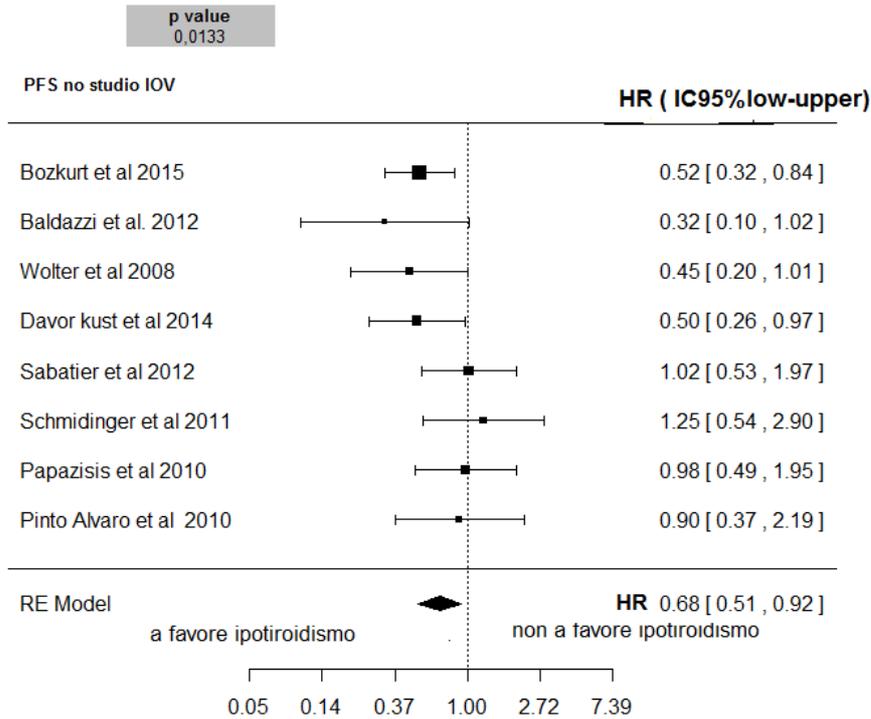


Figura 1.6. Forest plot sopravvivenza libera da malattia dopo analisi di sensitività.

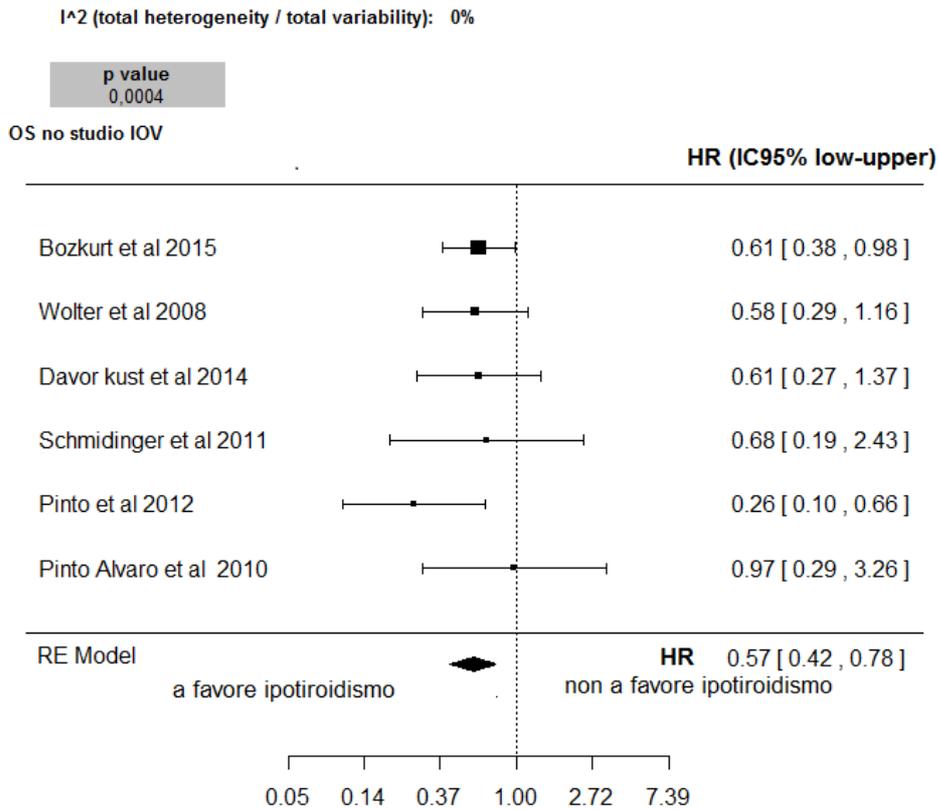


Figura 1.7. Forest plot sopravvivenza globale dopo analisi sensitività

1.6. Discussione

Lo studio retrospettivo IOV mostra che lo sviluppo dell'ipotiroidismo durante il trattamento con sunitinib è associato in modo significativo a PFS e OS più lunghi.

Tuttavia, questo studio ha diversi limiti. Il primo è proprio il tipo di disegno retrospettivo. Gli eventi (progressione, morte, incidenza dell'ipotiroidismo) non sono stati registrati nella cartella clinica secondo un criterio univoco. Per esempio, la funzionalità tiroidea non risulta controllata a intervalli standard, in particolare per i pazienti che hanno iniziato il trattamento prima del 2009/2010, in cui l'effetto tossico a livello tiroideo non era ancora considerato rilevante da un punto di vista clinico. La registrazione dell'evento progressione, invece, in alcuni casi è stata effettuata nel momento di inizio terapia di una seconda linea di trattamento, in cui il medico dichiarava che il paziente passava ad altra terapia per progressione. Infine, la scarsa numerosità del nostro campione e, quindi, anche del numero degli eventi (progressione e soprattutto morte) induce una prudente interpretazione dei risultati pur significativi.

Recentemente, molti studi hanno stimato l'impatto dell'ipotiroidismo secondario al trattamento con sunitinib sulla sopravvivenza (5-13), ma i risultati sono stati discordanti.

Ad esempio, Schmidinger et al. (10) ha osservato che l'aumento del TSH avvenuto entro le prime 8 settimane di trattamento nei pazienti ipotiroidei, correlava in modo significativo con la sopravvivenza globale (OS) ma non con quella libera da malattia (PFS). Questo ricercatore, inoltre, ha eseguito anche un'analisi multivariata in cui sono state considerate altre variabili indipendenti come il tempo dalla diagnosi al trattamento, le condizioni fisiche dei pazienti (ECOG o PS), numero di siti metastatici, l'appartenenza al gruppo di rischio secondo il MSKCC (classe di rischio di recidiva definita dal gruppo del Memorial Sloan-Kettering Cancer Center che distingue 3 classi di rischio: alto, intermedio, basso). Il risultato di questa analisi multivariata ha evidenziato che l'ipotiroidismo subclinico era l'unico fattore indipendente predittivo di sopravvivenza.

Altri autori confermano che l'ipotiroidismo correla in modo significativo con la PSF e OS (5, 11) mentre in altri casi solo con OS (6).

Sabatier et al. Invece, non ha trovato differenze di PFS e OS, ma ha analizzato solo i pazienti con che erano in terapia da almeno sei mesi (metodo landmark), escludendo, quindi, quei pazienti che sono andati in progressione prima dei 6 mesi. Non è chiaro se questo sia il metodo più appropriato. Infatti, se si considera che la mediana della PFS del gruppo controllo dello studio di registrazione di sunitinib era di 5,5 mese dei pazienti, Sabatier potrebbe avere escluso dalla sua analisi una parte rappresentativa del campione in studio (9).

Bozkurt et al. Invece, ha trovato che l'ipotiroidismo si è verificato entro un tempo mediano di 3 mesi dall'inizio del trattamento e che correlava in modo significativo anche con il tasso di remissione obiettiva (ORR) (12).

Tuttavia, ciò che accomuna tutti questi studi - compreso il nostro- è la numerosità limitata del campione.

Per tentare di superare questa limitazione e rendere più plausibile anche il risultato del nostro studio retrospettivo, abbiamo eseguito una meta-analisi.

Tale tentativo, di recente, è stato fatto anche da Nearchou et al (16).

Nella sua metanalisi, Nearchou, analizza il ruolo potenziale dell'ipotiroidismo come marker predittivi di outcome di sopravvivenza in pazienti in trattamento con sunitinib e sorafenib. Il modello adottato per la metanalisi è quello a effetti fissi, con suddivisione degli studi in sottogruppi prospettici e retrospettivi.

Non risulta alcuna differenza statisticamente significativa nella PFS tra i pazienti che hanno sviluppato ipotiroidismo durante la terapia con sunitinib da quelli che non l'hanno sviluppato (HR, 0,82; 95% CI, 0,59-1,13; P = 0,22; 6 studi, 250 pazienti). Mentre ciò è significativo per l'OS, in cui l'HR era di 0,52 (95% CI, 0,31-0,87; P = 0,01) (4 studi; 147 pazienti).

Invece, nella nostra meta-analisi, in cui sono stati inclusi 2 ulteriori studi di recente pubblicazione (11, 12) e l'analisi retrospettiva (studio IOV 2016), risulta esserci differenza statisticamente significativa sia nella PFS sia nella OS (rispettivamente HR = 0,593; IC 95% 0,4-0,88, valore p <0,01- 9 studi e 412 pazienti; e HR = 0,48; 95% CI 0,29 a 0,77; valore P<0,01- 7 studi e 309 pazienti).

La nostra analisi, come quella di Nearchou, presenta il limite dovuto al basso numero di studi coinvolti e – sulla base della valutazione del tipo di evidenza con il metodo GRADE (29) - alla qualità medio bassa di essi, in quanto studi osservazionali prevalentemente retrospettivi.

Tuttavia, alla valutazione del rischio di bias nel progetto e di analisi degli studi inclusi utilizzando la scala Newcastle-Ottawa, la maggior parte di essi sono valutati di buona qualità (score 5-7).

Quindi, i nostri risultati attuali sembrano confermare la rilevanza clinica di questo effetto tossico, tuttavia, ulteriori indagini devono essere svolte per valutare il valore predittivo dell'ipotiroidismo secondario alla somministrazione di sunitinib.

Per cominciare, sarebbe opportuno, definire il meccanismo fisiopatologico alla base dell'insorgenza dell'ipotiroidismo sunitinib-correlato. Molte sono le ipotesi formulate ma poche le certezze (18).

Mannovala et al ha suggerito un effetto diretto di sunitinib sul simporto sodio ioduro (NIS) e conseguente compromissione dell'uptake dello iodio (19). Salem, invece, ha smentito tale teoria (20). Altri autori, sospettano un danno autoimmune sulla ghiandola tiroidea (5, 21), recentemente uno studio ha associato lo sviluppo di anticorpi anti-TPO ad una più lunga sopravvivenza libera da progressione (22).

Una delle ipotesi più accreditate, tuttavia, prende spunto proprio dall'effetto diretto di sunitinib sulla tiroide attraverso l'inibizione di VEGFR (23,24,25,26), anche se gli inibitori dell'angiogenesi sono stati

studiati per colpire solo l'endotelio tumorale. Inizialmente, infatti, non ci si aspettava che influenzassero la normale vascolarizzazione, perché la maggior parte dei vasi sanguigni rimangono quiescenti durante l'età adulta (27).

Abdel-Rahman e Fouad, nella loro revisione sistematica e meta-analisi hanno individuato altri inibitori della tirosin-chinasi del recettore VEGF che sono associati ad alterazioni della funzionalità tiroidea. E ciò sembra non essere correlato al tipo di tumore (26).

Per verificare la teoria di Abdel-Rahman abbiamo analizzato nelle schede tecniche di undici inibitori della tirosinchinasi utilizzati nella terapia del cancro, la frequenza dell'evento avverso ipotiroidismo. Stratificando per bersaglio molecolare (Tab.6) è emerso che i TKI che hanno come bersaglio molecolare i recettori per fattori di crescita endoteliali vascolari (VEGFR) causano frequentemente questo tipo di tossicità.

Drug	PDGF R α	PDGF R β	VEGF R1	VEGF R2	VEGF R3	KIT	FLT3	CSF-1R	RET	CRAF	BRAF	V600E BRAF	EGFR	HER2	Bcr-Abl	DDR1	DDR2	SCF	EPH	SRC	Hypothyroidism frequency from Datasheet *
Axitinib			■	■	■																Very common
Dasatinib																					Uncommon
Erlotinib													■								NO
Gefitinib													■								NO
Imatinib																■					Thyroidectomy only
Lapatinib														■							NO
Nilotinib																				■	Uncommon
Pazopanib			■	■	■																Common
Sorafenib			■	■	■																Common
Sunitinib			■	■	■																Very common
Vandetanib				■										■							Common

* Very common $\geq 1/10$; common $\geq 1/100$ to $< 1/10$; uncommon $\geq 1/1,000$ to $< 1/100$; rare $\geq 1/10,000$ to $< 1/1,000$ (data sheet)

Tabella 1.6. Ipotiroidismo e recettori bersaglio associati alle TKI

Kappers, inoltre, suggerisce che sunitinib, oltre ad avere una attività anti-angiogenica diretta a livello di tiroide, possa indurre anche una diminuzione dei livelli ematici degli ormoni tiroidei attraverso la riduzione del flusso sanguigno capillare a livello epatico. La conseguente ipossia indurrebbe un aumento del fattore1 (HF1) e l'aumento dell'attività della desiodasi epatica di tipo 3 (25).

1.7. Conclusioni

L'ipotiroidismo sembra essere un fattore clinico predittivo utile per valutare la risposta alla terapia con sunitinib. Tuttavia, nonostante la presunta rilevanza clinica di questo effetto avverso, dall'analisi della letteratura non risulta chiaro il meccanismo d'azione alla base di questa tossicità.

E' nostra opinione, quindi, sulla base delle considerazioni fatte nella discussione che il primo approccio per definire il valore predittivo dell'ipotiroidismo TKI-correlato è quello di chiarire la sua relazione con il recettore per il fattore di crescita endoteliale.

CAPITOLO 2

Ipfosite autoimmune (HI) secondaria a somministrazione di ipilimumab in pazienti affetti da melanoma metastatico.

Proposta di un algoritmo clinico di sorveglianza

2.1 Premessa

E' noto il ruolo attivo del sistema immunitario contro il tumore. Infatti, anticorpi e cellule T attivate verso Antigeni associati ai tumori (TAA) sono stati frequentemente rilevati nel sangue di pazienti con vari tipi di tumore (1).

Una delle strategie più promettenti per sostenere e migliorare la risposta antitumorale naturale del paziente consiste proprio nel bloccare i meccanismi immunomodulanti che frenano la risposta dei linfociti attivati (TAA) dell'ospite. In particolare l'antigene 4 dei Linfociti citotossici (CTLA-4 o cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen)

In oncologia, il blocco farmacologico del recettore CTL4 si è rivelato una strategia vincente nella cura di alcuni tipi di tumore in particolare il Melanoma.

Un farmaco di recente introduzione in commercio che agisce bloccando questo recettore è l'anticorpo monoclonale IgG1, Ipilimumab (Yervoy ®) Viene somministrato in infusione endovenosa di 90 minuti alla dose di 3 mg/kg ogni 3 settimane per 4 cicli (2).

Il costo di una terapia (4 cicli) si aggira attorno ai 70.000 euro (3).

La principale tossicità di ipilimumab è immuno-correlata ed è ascrivibile proprio al suo meccanismo d'azione che prevede una prolungamento dell'attività dei linfociti T con rilascio massivo di citochine infiammatorie che causano, oltre all'effetto terapeutico, anche gli effetti collaterali a carico di vari organi e tessuti.

Chiarion Sileni et.al suggerisce che la tossicità immunocorrelata di ipilimumab sia dose-dipendente (4).

In una recente revisione sistemica in cui sono stati analizzati 81 articoli per un totale di 1265 pazienti provenienti da 22 studi clinici, è stata valutata l'incidenza e la natura degli eventi avversi associati alla somministrazione di anticorpi anti-CTLA-4 (ipilimumab e tremelimumab) (5).

Da questa meta-analisi è emerso che nel 60% dei pazienti trattati con ipilimumab si sono verificati eventi avversi immuno-correlati soprattutto a livello cutaneo, gastrointestinale, epatico, endocrino, neurologico, ematologico, oftalmologico, e malattie autoimmuni reumatologiche

In particolare, il tempo medio di comparsa degli eventi avversi (AEs) di tipo endocrino è stato di 11 settimane e, a differenza degli altri AEs, non sembravano dose dipendenti.

L'ipofisite autoimmune (IH) è stato l'effetto collaterale endocrino più frequente, 33 (2,6%) i casi segnalati complessivamente che alla diagnosi avevano in comune segni clinici, biologici e radiologici simili. La maggior parte dei pazienti ha presentato cefalea (51,8%), astenia (59,3%), disfunzione erettile, e diminuzione della libido, rari i disturbi visivi (solo in un paziente). Le zone colpite sono state principalmente l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (92,9%) e l'asse di tireotropina (89,3%) e le gonadi (71,4%). Gli assi lattotropo e somatotropo sono stati meno frequentemente coinvolti (rispettivamente 21,4% e 10,73%). Solo un caso di ipernatriemia secondaria da insufficiente produzione di ormone antidiuretico e un caso di diabete insipido sono stati associati alla somministrazione di ipilimumab. In alcuni casi l'ipofisite è stata identificata con l'aiuto della risonanza magnetica che ha individuato gli allargamenti della sella (68,2%).

L'ipofisite autoimmune (IH) è una malattia rara (prevalenza del 5 per milione per abitanti) e la sua diagnosi, di norma, è eseguita sulla base dell'esame istologico che è caratterizzata da un infiltrato linfomonocitario (ipofisite linfocitaria). Tuttavia, in tutti i casi citati in letteratura relativi alla IH secondaria alla somministrazione di ipilimumab manca questo elemento diagnostico (6).

Anche la diagnosi di "Ipofisite Autoimmune" ipilimumab-correlata riportata nella metanalisi e nella nostro studio è presuntiva, basato sulla presenza di segni clinici (stanchezza, mal di testa ecc...), ipopituitarismo e, in alcuni casi, anche con presenza di allargamento della sella alla radiografia di controllo.

Tuttavia, alcuni autori che hanno studiato gli effetti di ipilimumab sui topi, hanno evidenziato infiltrazioni focali di linfociti e macrofagi nelle ghiandole pituitarie dopo somministrazione del farmaco (7).

L'ipofisite secondaria a ipilimumab può manifestarsi in fase acuta anche dopo il primo ciclo di trattamento oppure a distanza di mesi dalla prima somministrazione. In alcuni casi, in fase acuta, si può vedere, alla risonanza magnetica, un aumento delle dimensioni della ghiandola e clinicamente la comparsa di cefalea importante. Nella fase post acuta può osservarsi una regressione delle alterazioni morfologiche radiologicamente descritte, ma può comparire un deficit a carico di uno o più assi regolati dall'ipofisi.

Altre volte l'ipopituitarismo da ipilimumab insorge in maniera paucisintomatica: può slatentizzarsi in particolari situazioni cliniche o essere evidenziato tramite esami ormonali mirati.

La prognosi dell'ipofisite autoimmune è generalmente favorevole. Tuttavia, vi possono essere casi di morte per insufficienza surrenalica secondaria se la sintomatologia non viene riconosciuta in tempo.

2.2 Obiettivi

Il presente lavoro è la proposta di un percorso diagnostico terapeutico per la sorveglianza e il trattamento degli effetti endocrini farmaco correlati, nato dall'analisi di nove pazienti che presentavano sintomi di sospetta ipofisite autoimmune dopo la somministrazione di ipilimumab.

2.3 Metodi

Nel periodo 2010-2013 sono stati identificati 9 casi di sospetta ipofisite autoimmune in pazienti con melanoma metastatico trattati con Ipilimumab presso l'Istituto Oncologico Veneto. .

Di questi 9 pazienti, 7 provenivano da studi clinici di fase III, 1 dal programma compassionevole ed 1 dal trattamento non sperimentale con la specialità commerciale Yervoy.

Per i diversi protocolli erano previsti 2 dosaggi, il 3mg/kg oppure il 10 mg/kg come illustrato nella seguente tabella:

Tabella 2.1. Tipo di trattamento.

N. Pazienti	Dosaggio Ipilimumab mg/kg	Provenienza	Cicli eseguiti di terapia
3	10	Studio di fase III doppio cieco Concluso	2 pazienti hanno eseguito 4 cicli di terapia, un paziente ha eseguito 3 cicli di terapia
1	3	EAP-compassionevole	3 cicli di terapia
1	3	Yervoy commerciale	4 cicli di terapia
4	3 o 10	Studio di fase III doppio cieco –in corso* –	2 pazienti hanno eseguito 4 cicli di terapia, 1 ha eseguito 2 cicli di terapia, 1 ha eseguito 1 ciclo di terapia.

*studio di fase III in doppio cieco in cui si confronta l'efficacia di 2 dosaggi, 3 mg/kg verso 10 mg/kg. E' sicura l'esposizione al farmaco dei pazienti ma non il dosaggio di somministrazione.

I pazienti sono stati inviati all'Unità Operativa di Endocrinologia Oncologica dagli oncologi del medesimo Istituto Oncologico Veneto.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti prima della terapia con ipilimumab ad accertamenti ematochimici che attestavano l'eleggibilità del paziente all'esecuzione della terapia, in particolare a test di funzionalità tiroidea ed epatica. Pertanto la somministrazione del farmaco è avvenuta in un quadro endocrinologico nei limiti di norma.

La diagnosi di ipofisite/ipopituitarismo è stata fatta sulla base di accertamenti bioumoralmente che prevedevano oltre al dosaggio dei parametri ematochimici (sodio, potassio, glicemia) anche a dosaggi ormonali (ACTH, TSH, LH, T3, T4, 17 Beta estradiolo nelle donne, e Testosterone nell'uomo, Prolattina ematica, IGF-1). Inoltre, la diagnosi è stata anche supportata dalla presenza di segni clinici e sintomi riferiti dal paziente e, dove praticabile, l'imaging della Risonanza magnetica Nucleare (RMN) cerebrale.

La diagnosi biochimica di iposurrenalismo secondario veniva posta in presenza di livelli di cortisolemia <4ug/dl; se cortisolemia compresa fra 4 e 18ug/dl veniva eseguito ACTH test con 1 ug di corticotropina (Synachten) in tutti i casi in cui l'ACTH era inferiore al range di norma. La diagnosi di ipotiroidismo secondario seguiva al riscontro di bassi valori di FT4 associato a valori di TSH bassi o normali (8).

Gli intervalli di riferimento dei parametri biochimici sono quelli del laboratorio di analisi dell'Azienda Ospedaliera di Padova (Tabella 2.2). La funzione della neuroipofisi è stata valutata sulla base della ionemia e della clinica presentata dal paziente.

Tabella 1.2 Valori di riferimento

Parametro	Unità misura	Intervallo di riferimento
S-17 Beta Estradiolo	pmol/L	
S-HPRL	ug/L	5.0 - 25.0
ACTH ore 8 (singolo)	ng/L	10 - 50
S-Cortisolo h8 (s)	nmol/L	138 - 690
S-FT3	pmol/L	3.90 - 6.80
S-FT4	pmol/L	9.00 - 22.00
S-FSH	U/L	
S-Testosterone	nmol/L	10.00 - 29.00
S-Somatomedina o IGF1	ug/L	55 - 186
S-TSH	mIU/L	0.20 - 4.00

2.4 Presentazione e discussione dei casi clinici

Prima di iniziare la terapia con ipilimumab, tutti i pazienti avevano eseguito gli screening ematochimici previsti dai protocolli sperimentali e i sintomi di ipofisite/ipopituitarismo si sono manifestati dopo un periodo medio di 8,4 settimane dall'inizio della terapia (range da 4 a 16 settimane).

Tutti i nove casi all'esordio presentavano fatigue e astenia, 6 cefalea e di questi, 5 presentavano forti mal di testa con i parametri biochimici relativi alla funzionalità surrenalica al di fuori dell'intervallo normale (livelli di cortisolo medio 95,2; range 13-217 nmol/L e livelli di ACTH <8 ng/L).

In quattro casi, si sono rilevati bassi livelli di FT3 (media 3,88; range 2,26-6,59 pmol/L) e bassi livelli di FT4 (media di 6,8 range 5,88-8,01 pmol/L) e in quattro pazienti anche bassi livelli di TSH (media di 0,245 pmol/L) mentre in un caso il livello di TSH era normale all'esordio dei sintomi di tossicità ma è aumentato dopo, mettendo in evidenza un ipotiroidismo primitivo.

Quattro pazienti maschi presentavano anche una deficienza di testosterone (media 4,8; range 0,09-9,28 nmol/L) in un caso con LH basso e FSH normale. Tre casi avevano anche valori molto bassi di IGF-1 (65 ± 22 ug / L). Due soli pazienti hanno eseguito all'esordio dei sintomi la risonanza magnetica che ha documentato l'allargamento diffuso della ghiandola pituitaria. Come raccomandato dalla scheda tecnica (2) per contrastare la tossicità del farmaco, tutti i pazienti hanno iniziato la terapia antinfiammatoria con prednisone da 1 a 2 mg / kg per via orale una volta al giorno con riduzione graduale e passaggio, ove opportuno e dopo valutazione endocrinologica, a terapia sostitutiva con cortisone acetato.

Tre pazienti hanno anche iniziato il trattamento con tiroxina mentre un paziente ha manifestato un ipertiroidismo autoimmune che ha richiesto il trattamento con tireostatico.

In 5 pazienti è stata sospesa la somministrazione di ipilimumab.

Il lungo periodo di follow-up dei nostri pazienti (tempo medio 23,6 mesi; range 12-43 mesi) ha mostrato una persistente necessità di terapia sostitutiva con glucocorticoidi (6 su 9) per il deficit dell'asse ipofisi-surrene. Va precisato che tale deficit è stato individuato sulla base dei livelli ematici di cortisolo e ACTH, che sono sempre stati determinati previa temporanea sospensione della terapia cortisonica in atto.

Un solo paziente ha ripreso la funzione dell'asse tiroidea dopo 4 mesi di ipotiroidismo senza terapia sostitutiva, (questo paziente è deceduto al 6 mese di follow up) mentre 3 pazienti, come risulta dall'ultima visita di follow up, continuano con terapia sostitutiva (due con levotiroxina ed uno con tapazole).

Due pazienti hanno recuperato il deficit di testosterone dopo 2 mesi, uno dopo 6 mesi mentre uno era ancora in deficit all'ultimo controllo (follow up a 24 mesi).

Al follow up quattro pazienti hanno eseguito la Risonanza Magnetica cerebrale: in un caso l'esito è stato sella vuota, 2 casi hanno avuto esito negativo mentre in un caso la risonanza ha messo in evidenza

un microadenoma ipofisario apparentemente non correlato alla somministrazione di ipilimumab. Nella tabella 3 sono riassunti i dati clinici anomali

Tabella. 2.3 Schema riassuntivo dati clinici anomali

	Esordio	Follow-up (mesi) Media 23,6; range 12-43 mesi
Deficit ACTH	4/9 P- 3/9 NV - 2 N	3/9 P- 1N- 5 NV
Deficit Cortisolo	6/9 P- 3/9 N	3/9 P- 4/9 N- 2NV
Deficit TSH	4/9	2/9
Deficit LH/FSH	2/7 2NV	1/3 6NV
Deficit Testosterone	4/6	1/6
Deficit ADH	0/9	0/9
Ipertiroidismo	1/9	1/9
Prednisone	9/9	1/9
Cortone acetato		5/9
L-Tiroxina	2/9	2/9
Metimazolo	1/9	1/9
RMN	2/9 Positive	4/9 di cui 2 Positive
Pazienti Persi/deceduti		2/9

Dall'analisi dei casi clinici emerge la correlazione tra ipopituitarismo e la somministrazione di ipilimumab in quanto l'insorgenza dei sintomi è successiva all'esposizione al farmaco ed il tempo medio di insorgenza dei sintomi (8,4 settimane range 4-16 settimane) è in linea con quello riportato dallo studio di fase III registrativo (7-20 settimane) (2).

Nello studio registrativo, in cui ipilimumab è stato somministrato in monoterapia al dosaggio di 3 mg/kg, l'ipopituitarismo di qualsiasi gravità si è verificato nel 4% dei pazienti trattati mentre la

frequenza dell'ipopituitarismo grave (Grado 3 o 4) è stata riportata nel 3 % dei pazienti. Sempre nel medesimo studio, l'insufficienza surrenalica, l'ipertiroidismo e l'ipotiroidismo di qualsiasi gravità, sono stati riportati ciascuno nel 2% dei pazienti e nessuna segnalazioni di eventi avversi gravi o molto gravi (Grado 3 o 4) sono state riportate relative a queste ultime patologie.

Complessivamente nella nostra casistica l'ipopituitarismo è stato di grado 1-2, ad eccezione di un caso di grado 3 che ha richiesto l'ospedalizzazione del paziente (cfr. Tabella 4).

Dallo studio dei presenti casi emerge anche una certa persistenza dei deficit ormonali (ACTH e cortisolo) riscontrati dopo il termine della terapia (media di 23,6 mesi) (Figure 2.1 e 2.2) e ciò supporta l'ipotesi che il rischio di irreversibilità potrebbe essere elevato. Tuttavia, il deficit a livello surrenalico- in quasi tutti i casi riportati- è stato riscontrato dopo l'inizio della terapia cortisonica, somministrata per limitare la tossicità da ipilimumab e quindi questo dato potrebbe non essere direttamente correlato alla somministrazione di ipilimumab. Di contro, il prolungato uso dei farmaci cortisonici a tale scopo potrebbe mascherare un effettivo deficit a carico dell'asse ipofisi-surrene correlato all'uso di ipilimumab.

Sembra più evidente, invece, la correlazione tra la somministrazione di ipilimumab e tossicità a livello dell'asse tiroideo e gonadico.

L'alterazione più critica è l'iposurrenalismo dovuto al deficit dell'asse ipofisi-surrene. Tale deficit va prontamente compensato altrimenti può risultare molto pericoloso per la vita del paziente (9,10)

In ambito oncologico non esistono dei percorsi diagnostico terapeutici per affrontare tale problematica. Alcuni autori suggeriscono la necessità di mettere in atto un vero e proprio pannello di diagnostica endocrinologica, con precise domande da porre al paziente durante la visita (11,12) altri, invece, sostengono che è sufficiente la valutazione della funzionalità tiroidea (13).

L'obiettivo principale di questa analisi è proporre un algoritmo per la sorveglianza delle tossicità endocrine correlate alla somministrazione di ipilimumab.

2.5 Proposta di percorso diagnostico terapeutico a scopo osservazionale.

Nel algoritmo decisionale indicato (Fig.2.3) il paziente viene seguito ciclo dopo ciclo dai clinici ed eventuali eventi sono segnalati al farmacista che provvede a registrarli in un file excel di raccolta dei dati.

Questi dati saranno utilizzati per l'analisi di incidenza dell'ipofisite autoimmune secondaria alla somministrazione di ipilimumab.

In caso di ADR gravi, il farmacista provvederà, anche, ad inviare la segnalazione al Sistema di Farmacovigilanza Nazionale.

Ad ogni ciclo di terapia (quattro totali) prima della somministrazione del farmaco sono previsti i controlli ematochimici.

Ciclo 1: prima della somministrazione di ipilimumab, devono essere eseguiti i dosaggi ematici di: Cortisolo plasmatico h 8, ACTH h 8, TSH, FT4, LH, FSH, 17-beta estradiolo (donna) o testosterone (uomo), prolattina, IGF-1, sodio e potassio ematici, glicemia, Anticorpi anti-TPO, APCA, anticorpi antisurrene.

Ciclo 2: prima della seconda somministrazione devono essere eseguiti i dosaggi ematici di: Cortisolo h8, ACTH h8, TSH, FT4, LH, FSH, sodio e potassio, glicemia.

Ciclo 3: prima della seconda somministrazione devono essere eseguiti i dosaggi ematici di: Cortisolo h8, ACTH h8, TSH, FT4, LH, FSH, sodio e potassio, glicemia.

Ciclo 4: prima della somministrazione di ipilimumab, devono essere eseguiti i dosaggi ematici di: Cortisolo plasmatico h 8, ACTH h 8, TSH, FT4, LH, FSH, 17-beta estradiolo (donna) o testosterone (uomo), prolattina, IGF-1, sodio e potassio ematici, glicemia, Anticorpi anti-TPO, APCA, anticorpi antisurrene

Follow up: monitoraggio della durata dell'eventuale endocrinopatia ai fini della valutazione di irreversibilità.

Ad ogni visita, l'oncologo, sulla base dei segni clinici ed ematochimici, può inviare il paziente per ulteriore parere all'endocrinologo che, sulla base della dei segni clinici e gravità dell'endocrinopatia, valuta per un'eventuale terapia sostitutiva endocrina e/o la sospensione (temporanea o definitiva) del trattamento con ipilimumab.

2.6 Conclusione

I farmaci oncologici in studio che agiscono sul sistema di controllo immunologico (Immune Checkpoint Inhibitors) sono in aumento, quindi, a breve saranno immessi in commercio altri nuovi farmaci di questa classe. Tra gli anti-CTLA4, oltre a ipilimumab sarà autorizzato anche Tremelimumab mentre tra gli anti-PD1, Nivolumab è già stato autorizzato per il trattamento del carcinoma polmonare.

L'incidenza in futuro di questo tipo di eventi avversi, pertanto, potrebbe aumentare.

Riteniamo, quindi, che il monitoraggio della tossicità a livello dell'asse ipofisi-surrenalica sia fondamentale per un'accurata valutazione dell'incidenza e del rischio di irreversibilità dell'HI secondaria. Tale rischio, inoltre, deve essere attentamente valutato, nel caso in cui il farmaco è destinato alla terapia antitumorale adiuvante in cui i farmaci chemioterapici sono somministrati a scopo preventivo per ridurre il rischio di recidive dopo la chirurgia. In questa situazione, la valutazione del rapporto rischio/beneficio di un farmaco diventa fondamentale per la scelta di una strategia terapeutica antitumorale da adottare. L'utilizzo di ipilimumab nella terapia adiuvante è al momento ancora in fase sperimentale.

Per tutti questi motivi, riteniamo che per ipilimumab, come per gli altri nuovi farmaci, sia indispensabile un approccio multidisciplinare per la gestione delle tossicità endocrine in cui l'oncologo, l'endocrinologo e il farmacista possono esprimere le proprie competenze per garantire l'efficacia della terapia e la riduzione del rischio clinico di eventi fatali.

Da non sottovalutare, infine, che l'aumento della casistica di una patologia rara endocrina, seppur secondaria alla somministrazione di un farmaco, offre il vantaggio di raccogliere utili informazioni per lo studio e la cura della patologia rara stessa.

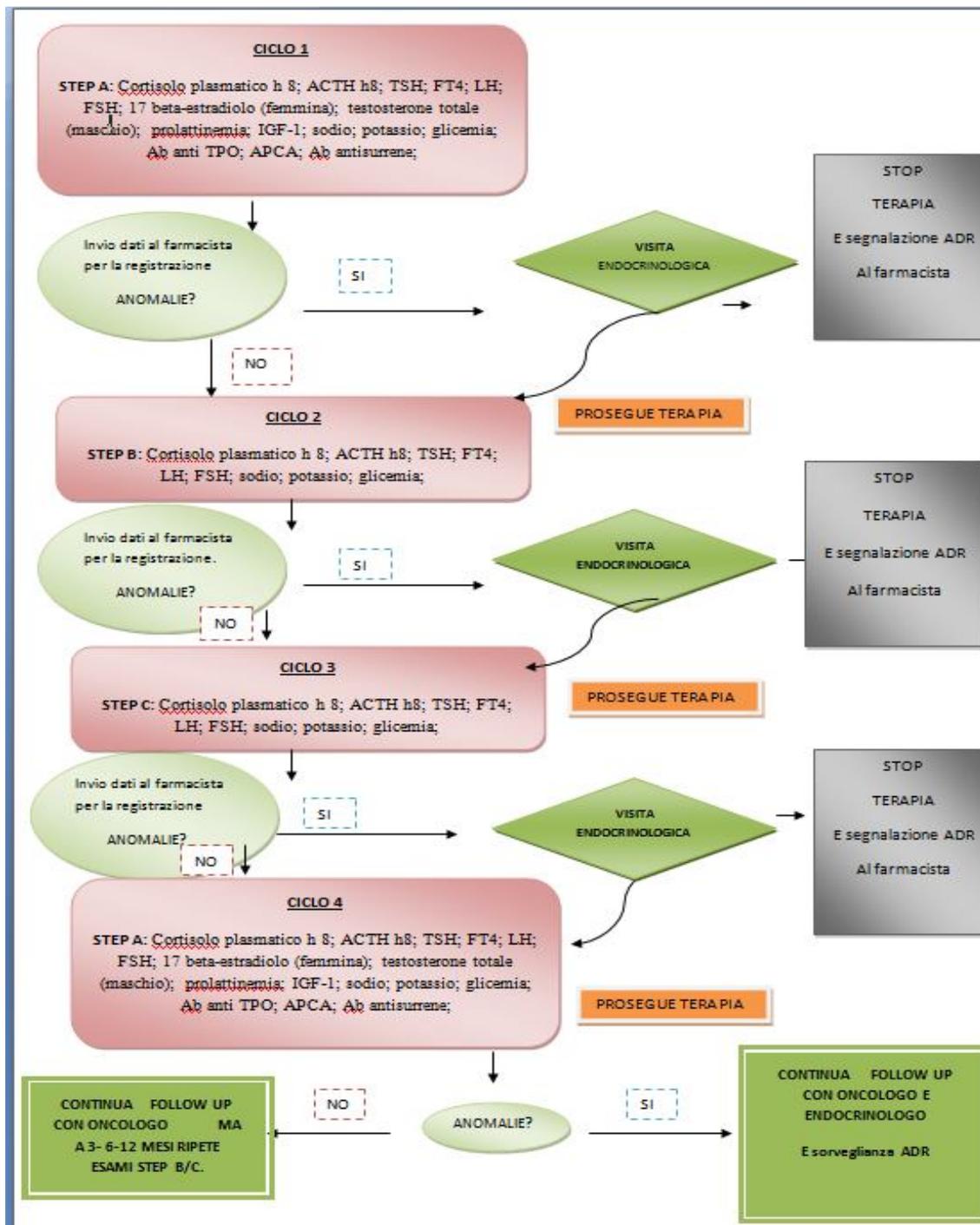


Figura 2.3 Flow-chart del protocollo di sorveglianza

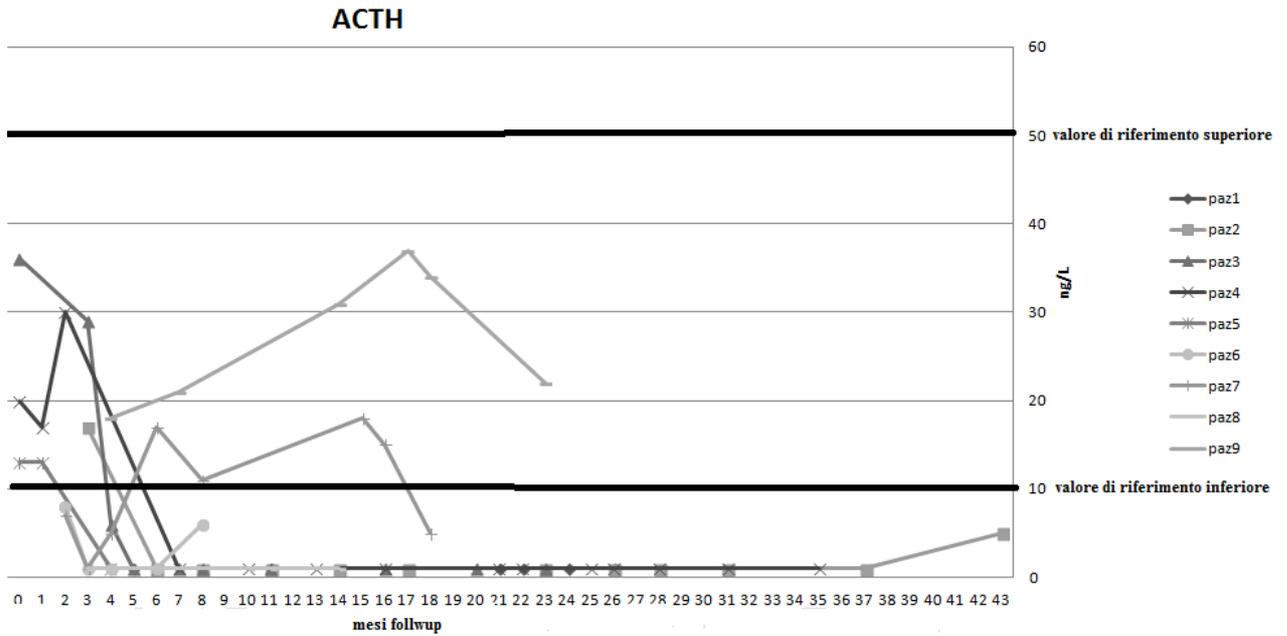


Figura 1.1 Andamento ACTH ematico nei pazienti in osservazione

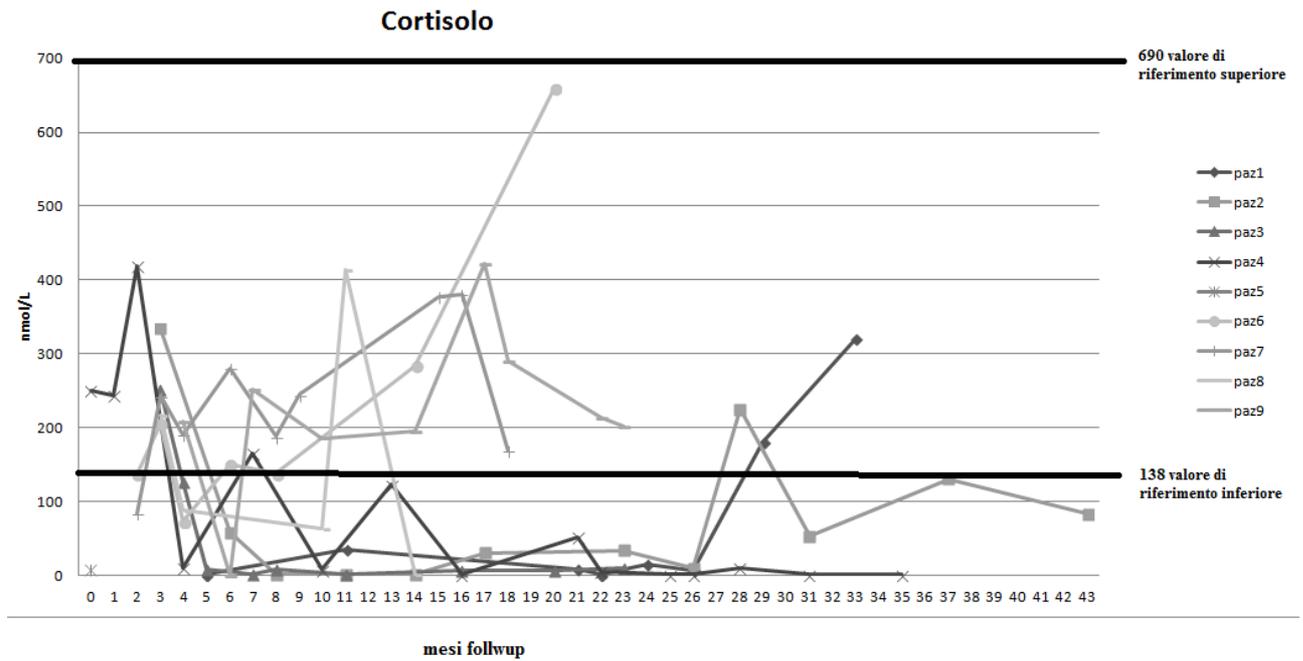


Figura 2.2 Andamento del Cortisolo ematico nei pazienti in osservazione

Tabella 2.4. Criteri Comuni di Terminologia per gli Eventi Avversi del National Cancer

Institute. (Versione 3)

Evento avverso	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4	Grado 5
Aspetto cushingoide (per es., <i>facies lunaris</i> , gibbo da bufalo, obesità centripeta, strie cutanee) Considerare anche: Iperglicemia, Ipotassiemia		Presente			
Insufficienza surrenalica*	Asintomatica, non indicati provvedimenti terapeutici	Sintomatica, indicati provvedimenti terapeutici	Ospedalizzazione	Mette in pericolo la vita o invalidante	Morte
Ipertiroidismo, tireotossicosi	Asintomatica, non indicati provvedimenti terapeutici	Sintomatica, non interferisce con le attività quotidiane; necessità di terapia soppressiva	Sintomi che interferiscono con le attività della vita quotidiana. Indicata ospedalizzazione	Conseguenze che mettono in pericolo la vita (per esempio la tempesta tioridea)	Morte
Iparatiroidismo	Asintomatica, non indicati provvedimenti terapeutici	Sintomatica, indicati provvedimenti terapeutici			
Ipotiroidismo	Asintomatica, non indicati provvedimenti terapeutici	Sintomatica, non interferisce con le attività quotidiane; necessità di terapia sostitutiva	Sintomi che interferiscono con le attività della vita quotidiana. Indicata ospedalizzazione	Coma mixedematoso che mette in pericolo la vita	Morte
Neuroendocrino: alterata secrezione di ADH	Asintomatica	Sintomatica, non interferisce con le attività quotidiane; indicati provvedimenti terapeutici	Sintomi che interferiscono con le attività della vita quotidiana.	Conseguenze che mettono in pericolo la vita.	Morte
Neuroendocrino: alterata secrezione di GH	Asintomatica	Sintomatica, non interferisce con le attività quotidiane; indicati provvedimenti terapeutici			
Neuroendocrino: alterata secrezione di gonadotropine	Asintomatica	Sintomatica, non interferisce con le attività quotidiane; indicati provvedimenti terapeutici	Sintomi che interferiscono con le attività della vita quotidiana. Osteopenia, fratture, infertilità		
Neuroendocrino: alterata secrezione di prolattina	Asintomatica	Sintomatica, non interferisce con le attività quotidiane; indicati provvedimenti	Sintomi che interferiscono con le attività della vita quotidiana. Amenorrea, galattorea		Morte

		terapeutici			
o: Deficit di ACTH	Asintomatica	Sintomatica, non interferisce con le attività quotidiane; indicati provvedimenti terapeutici	Sintomi che interferiscono con le attività della vita quotidiana. Indicata ospedalizzazione	Conseguenze che mettono in pericolo la vita (per es: ipotensione severa)	Morte

Insufficienza surrenalica può comprendere i seguenti segni e sintomi: dolore addominale, anoressia, stipsi, diarrea, ipotensione, pigmentazione delle membrane mucose, pigmentazione della cute, tendenza ad usare cibi più salati, sincope (svenimento), vitiligine, vomito, debolezza, perdita di peso. Insufficienza surrenalica deve essere confermata da studi di laboratorio (bassi livelli di cortisolo frequentemente accompagnati da bassi livelli di aldosterone). Considerare anche Ipotassiemia e Ipotiroidismo.

CAPITOLO 3

Acido Zoledronico nella profilassi antifratturativa di donne in post menopausa con carcinoma mammario in terapia ormonale adiuvante (CTIBL- cancer treatment-induced bone loss) .

3.1 Premessa

Le donne con Carcinoma della mammella, che nel 60% dei casi incorrono nel cancro in menopausa (e sono pertanto già a rischio di osteoporosi), hanno un'incidenza di fratture non patologiche più elevata rispetto alle loro coetanee sane: il *turnover* osseo è elevato, con marcatori del riassorbimento aumentati anche oltre il 60%. La perdita di massa ossea (BMD) può arrivare all'8% annuo a livello vertebrale e sono presenti alterazioni microarchitetturali che riducono la resistenza dell'osso e predispongono pertanto all'aumentato rischio fratturativo (9-14% in due anni di trattamento) (1-3)

Pertanto, le pazienti con carcinoma mammario in terapia ormonale adiuvante con inibitori dell'aromatasi sono sottoposte a profilassi antifratturativa con i farmaci bisfosfonati e denosumab.

L'utilizzo di altri farmaci ad attività antifratturativa utilizzati nell'osteoporosi non è previsto. Nel caso del raloxifene (modulatore selettivo del recettore degli estrogeni-SERM), esiste il rischio di interazione con alcuni inibitori dell'aromatasi (AI) e ciò alla luce delle interazioni documentate fra tamoxifene (anch'esso un SERM) e l'anastrazolo (4).

Mentre il PTH 1-84 e la teriparatide sono controindicati in ambito oncologico per la loro attività di stimolo sulle cellule ossee e sul turnover osseo.

Per ranelato di stronzio, caratterizzato da un duplice effetto, sul riassorbimento e sulla formazione, non esistono dati al riguardo.

L'erogazione dei Bisfosfonati a carico del Servizio Sanitario Nazionale (SSN) avviene sulla base della nota aifa n.79 che, nonostante le evidenze di riduzione del rischio fratturativo riferite dagli studi clinici e le raccomandazioni dell'Associazione di Italiana di Oncologia Medica (AIOM), non contemplava fino al 20 maggio 2015 l'utilizzo dei farmaci anti fratturativi in questa condizione.

Dal 20 maggio 2015 (GAZZETTA UFFICIALE DELLA REPUBBLICA ITALIANA n.115 del 20/05/2015), i bisfosfonati sono indicati nella prevenzione primaria in donne in menopausa con carcinoma della mammella che sono in trattamento con gli Inibitori dell'aromatasi (5).

Per prevenzione primaria la nota 79 intende lo stato precedente la manifestazione di una complicanza fratturativa osteoporotica nelle donne post-menopausali (e nei maschi di età ≥ 50 anni). “Le soglie densitometriche DXA a livello di colonna o di femore, con rischio paragonabile a quello dei

soggetti con pregresse fratture: T score ≤ -4.0 in assenza di altri fattori di rischio o ≤ -3.0 se associato ad ulteriori importanti fattori di rischio quali familiarità per fratture vertebrali o femorali e presenza di comorbidità dimostrate associate di per sé ad un aumento del rischio di frattura (artrite reumatoide e altre connettiviti, diabete, broncopneumopatia cronica ostruttiva, malattie infiammatorie croniche intestinali, AIDS, Parkinson, sclerosi multipla, grave disabilità motoria)".

Tra i bisfosfonati utilizzati in adiuvante nella CTIBL è raccomandato l'acido zoledronico.

3.2 Razionale dell'Acido Zoledronico nella CTIBL

Tre studi (Z-FAST n= 602, ZO-FAST n=1065, E-ZO-FAST n=527) hanno confrontato l'efficacia dell'acido zoledronico 4 mg ev ogni 6 mesi, somministrato durante il trattamento adiuvante con AI o al raggiungimento di BMD < -2 o frattura spontanea in donne in postmenopausa . L'update a 61 mesi dello studio Z-FAST ha mostrato che ritardare l'inizio del trattamento con bifosfonati si traduce in una perdita in BMD alla colonna lombare e al femore rispetto al basale ($p < 0,0003$) mentre l'inizio immediato porta ad un guadagno in BMD che si protrae per tutta la durata del trattamento ($p < 0,0003$). Analoghi risultati sono stati raggiunti dall'analisi degli studi ZO-FAST e E-ZO-FAST(6,7,8).

L'acido zoledronico agisce principalmente sul tessuto osseo. E' un inibitore del processo di riassorbimento del tessuto osseo mediato dagli osteoclasti. Il principale target molecolare dell'acido zoledronico è l'enzima farnesil pirofosfato sintetasi nell'osteoclasta. La lunga durata d'azione dell'acido zoledronico è attribuibile alla sua elevata affinità di legame per il sito attivo della farnesil pirofosfato (FPP) sintetasi e alla sua forte affinità nei confronti dell'osso mineralizzato. Le due specialità disponibili in commercio (Zometa® e Aclasta®) (9,10) sono utilizzabili esclusivamente in ambiente ospedaliero o a esso assimilabile (fascia H/OSP2).

In commercio l'unica specialità di acido zoledronico indicata per il trattamento dell'osteoporosi è Aclasta® alla posologia di 5 mg e.v./anno è efficace nel ridurre il rischio fratturativo nella popolazione non oncologica. Questa posologia non è mai stato testato su una popolazione oncologica con osteoporosi/osteopenia da inibitori dell'aromatasi e le linee-guida nazionali (AIOM)(11) e internazionali (ASCO)(12) raccomandano la posologia di 4 mg ev ogni 6 mesi, utilizzata negli studi ZO-FAST, Z-FAST E E-ZO-FAST e dall'inizio della terapia con AI.

Alcuni studi clinici in donne in postmenopausa con osteoporosi/osteopenia (13,14) hanno dimostrato che la protezione scheletrica esercitata da una singola dose di acido zoledronico è mantenuta per almeno 3 anni. Questo effetto protettivo è esercitato solo dai bisfosfonati ed è dovuto alla loro specifica farmacocinetica. Essi si legano anche alla parte minerale dell'osso e si depositano sulle superfici ossee (15). E' stato ipotizzato che durante il riassorbimento osseo, il bisfosfonato può essere rilasciato in circolo e legarsi di nuovo a vicine superfici di idrossiapatite (16,17), questo determina la loro prolungata permanenza a livello osseo.

Allo stato attuale, quindi, non esistono evidenze che dimostrino un'efficacia superiore della posologia 5 mg/anno verso 4mg/6mesi o verso altre posologie che possono superare l'anno di somministrazione.

Inoltre, negli studi clinici relativi all'uso di zoledronato in adiuvante nella CTIBL, i parametri di efficacia misurati sono stati la variazione della densità ossea e del turnover osseo (endpoint surrogati) e non la riduzione delle fratture vertebrali e non vertebrali, endpoint principali di riferimento per gli studi registrativi come quello di Aclasta® dove il farmaco è stato studiato su una popolazione osteoporotica non oncologica.

Non esiste in letteratura il tentativo di dimostrare una pari efficacia dell'acido zoledronico comparando i valori di parametri surrogati tra le due popolazioni (con osteoporosi postmenopausale e da inibitori dell'aromatasi). Per quanto riguarda il turnover osseo i parametri surrogati più attendibili sono i Telopeptidi C e N –Terminali del Collagene maturo di Tipo 1 (CTX o NTX) che rappresentano marcatori del riassorbimento osseo (25).

In particolare, il CTX è il frammento carbossi-terminale della molecola di collagene, proteina della matrice ossea, ed il suo dosaggio su campione di sangue o urine serve a monitorare il processo di formazione e riassorbimento dell'osso. L'aumento dei valori sierici e urinari di CTX è correlato ad un aumentato rischio fratturativo osseo (18).

3.3 Impatto sulla sopravvivenza della terapia adiuvante con bisfosfonati nel carcinoma della mammella in stadio precoce: analisi della letteratura.

Sono state condotte numerose revisioni sistemiche per stimare l'effetto dei bisfosfonati sugli outcome di sopravvivenza - sopravvivenza libera da malattia (DFS) e sopravvivenza globale (OS)- nelle donne con carcinoma della mammella in stadio precoce in trattamento adiuvante ormonale.

Nella tabella 1 sono riassunti i risultati di 5 meta-analisi (19,20,21,22,23).

Metanalisi	Bisfosfonato	Stato Menopausale	N.PAZIENTI	Outcome gruppo bisfosfonato vs controllo	HR/RR	CI-low	CI-upper	p	F
Irit Ben-Aharon et al.2013	Risedronate, Clodronate, Pamidronate, zoledronic acid, Ibandronate	Pre-Post	12167	DFS	0,95	0,81	1,12	>0,05	61%
			13571	OS	0,89	0,79	1,01	>0,05	49%
Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG)*	Clodronate, Zoledronic acid, Pamidronate, Ibandronate, Risedronate.	Pre-Post	18766	Recidive totali	0,94	0,87	1,01	0,08	ND
				OS	0,91	0,83	0,99	0,04	ND
Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG)*	Clodronate, Zoledronic acid, Pamidronate, Ibandronate, Risedronate.	Pre	6171	Recidive osso	0,92	0,75	1,12	0,42	ND
				OS	1	0,86	1,15	0,96	ND
Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG)*	Clodronate, Zoledronic acid, Pamidronate, Ibandronate, Risedronate.	Post	11767	Recidive osso	0,72	0,6	0,86	0,0002	ND
				Recidive totali	0,86	0,78	0,94	0,002	ND
				OS	0,82	0,73	0,93	0,002	ND
Mingfeng He et al 2013	Zoledronic acid	Pre-Post	7730	DFS	0,9	0,81	1	0,06	44%
			7541	OS	0,86	0,75	0,99	0,03	0%
Antonis Valachis et al 2013	Zoledronic acid	Pre-Post	7541	DFS	0,86	0,7	1,06	0,15	63%
			6414	OS	0,81	0,7	0,94	0,07	0%
Cochrane review 2012	Zoledronic acid,	Pre	4164	Recidive totali	0,88	0,5	1,55	0,66	92%
		Post	1101	Recidive totali	0,75	0,59	0,95	0,016	NA
Cochrane review 2012	Clodronate, Zoledronic acid, Pamidronate	Pre-Post	7871	OS	0,84	0,68	1,04	0,11	77%

Dalla presente tabella si può intuire che esiste una correlazione favorevole tra uso dei bisfosfonati (in particolare acido zoledronico) aumento della sopravvivenza e diminuzione delle recidive, in particolare nelle donne in post menopausa.

3.4 Obiettivi dello studio

1. Considerato che è accettato dalle autorità regolatorie (EMA, FDA) la possibilità di testare (concetto di bridging) l'efficacia di un nuovo schema posologico, o formulazione dello stesso farmaco, attraverso parametri surrogati (nel nostro caso turnover osseo e BMD) con quello registrato come efficace, nel presente studio si vuole confrontare, attraverso l'analisi di parametri surrogati di frattura (in particolare Telopeptide C-Terminale del Collagene di Tipo 1 o CTX sierico), due popolazioni assimilabili (osteoporosi postmenopausale e osteoporosi da inibitori dell'aromatasi) utilizzando la stessa scheda di farmaco dimostratasi efficace in donne in post menopausa osteoporotiche non affette da neoplasia (Aclasta 5 mg/anno).
2. Si vuole, inoltre, stimare l'efficacia di zoledronato (attraverso la BMD) somministrato oltre l'anno sulla base del turnover osseo (CTX sierico). E' prevista la somministrazione di acido zoledronico quando il valore di CTX supera il valore soglia di 0,3 ng/ml.
3. Infine, ci si propone anche di valutare l'impatto della terapia anti-fratturativa con acido zoledronico sulle recidive di malattia.

3.5 Disegno dello studio

Si tratta di uno studio osservazionale di coorte, in aperto, multicentrico, longitudinale, controllato.

I centri coinvolti sono 2: Il Servizio Malattie Metabolismo Minerale dell'Azienda Ospedaliera di Verona e la Struttura Semplice per i Tumori Ereditari e Endocrinologia Oncologica dell'Istituto Oncologico Veneto.

Lo studio è no profit, approvato del Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliera di Verona.

3.6 Calcolo della numerosità campionaria

La numerosità campionaria è stata calcolata utilizzando il normogramma di Douglas G. Altman (24) in cui si deve stabilire l'errore di tipo alfa 1 il potere dello studio(1-beta) e la differenza standardizzata. La differenza standardizzata è stata calcolata con la seguente formula:

$$D = \frac{p_2 - p_1}{\sqrt{p(1-p)}}$$

Dove $p_2=0,963$, $p_1=0,84$, $p_{medio}=\frac{0,963+0,84}{2}=0,9015^*$

$D=0.41$

Fissando una potenza (1-b) pari al 80% ed un errore di tipo alfa pari a 0,05, la dimensione campionaria prevista sul nomogramma di Altman, con $D= 0.41$, è di almeno 110 pazienti per ciascun gruppo in studio.

*Lo studio registrativo di aclasta prevedeva che la % max di tolleranza significativa di fratture totali per il gruppo in studio fosse pari a 9,63% (RR=0,77) (verso 8,4% con RR=0.67)

3.7 Popolazione in studio

Per il primo obiettivo i due gruppi in studio sono:

- Il gruppo controllo (pazienti osteoporotiche non oncologiche) costituito da donne in con osteoporosi postmenopausale in trattamento con acido zoledronico secondo nota 79.
- Il gruppo in studio (pazienti con carcinoma mammario in trattamento adiuvante con AI) è rappresentato da donne con diagnosi di carcinoma della mammella e in terapia endocrina adiuvante con inibitori dell'aromatasi da almeno un anno, in trattamento antifratturativo con acido zoledronico.

Per il secondo obiettivo i due gruppi in studio sono:

- Il gruppo controllo rappresentato da donne con diagnosi di carcinoma della mammella e in terapia endocrina adiuvante con inibitori dell'aromatasi da almeno un anno, in trattamento con acido zoledronico annuale.

- Il gruppo in studio rappresentato da donne con diagnosi di carcinoma della mammella e in terapia endocrina adiuvante con inibitori dell'aromatasi da almeno un anno, in trattamento con acido zoledronico a somministrazione personalizzata sulla base dei valori CTX sierico.

Per il terzo endpoint sono considerate tutte le pazienti con diagnosi di carcinoma della mammella e in terapia endocrina adiuvante con inibitori dell'aromatasi e trattamento con acido zoledronico.

3.8 Criteri di inclusione ed esclusione

Tutte le pazienti devono essere in postmenopausa. L'indicazione al trattamento con acido zoledronico per la riduzione del rischio fratturativo è valutato secondo i criteri nota 79.

Le pazienti con carcinoma della mammella, inoltre, devono essere in stadio precoce di malattia e in trattamento adiuvante con inibitori dell'aromatasi da almeno un anno e non presentare localizzazioni metastatiche. Tutte le pazienti per entrambi i gruppi devono essere naive per un trattamento con bisfosfonati e non aver assunto negli ultimi due anni ranelato di stronzio o SERM. Non è parametro di esclusione l'assunzione di supplementi di calcio e/o vitamina D.

Sono escluse dallo studio le pazienti affette da altre cause secondarie di osteoporosi o altre malattie metaboliche dell'osso.

3.9 Materiali e Metodi

Attraverso la consultazione delle cartelle cliniche, si stanno raccogliendo (in un file excel) informazioni relative ai seguenti dati:

- Dati anagrafici paziente (nome, età);
- Data I° infusione acido zoledronico;
- Presenza o assenza di Fratture,
- Le Misure di massa ossea al basale e dopo 18, 36 mesi ecc (MOC alla colonna e al femore, secondo i criteri OMS).
- I Dati bioumorali di turnover osseo (Telopeptide C-Terminale del Collagene di Tipo 1 o CTX) al basale, a 6 mesi, a 1 anno, oltre
- Numero infusioni di acido zoledronico a 5 anni e oltre (secondo parere medico).

E' prevista una somministrazione di acido zoledronico basale, ad 1 anno e a 2 anni per le pazienti del primo end point e per il gruppo controllo del secondo endpoint mentre per il gruppo delle pazienti in studio del secondo endpoint la somministrazione di zoledronato è prevista al basale e, successivamente solo se i valori di CTX sono superiori a 0,3 ng/ml. Il dosaggio sierico del CTX è eseguito al basale, dopo 6 mesi dalla prima somministrazione e ad ogni controllo prima della somministrazione di acido zoledronico.

3.10 Analisi statistica

Per i primi due endpoint si valuta la sovrapponibilità dell'andamento dei parametri surrogati. I dati relativi al confronto tra gruppi sono organizzati in boxplot per la valutazione della sovrapponibilità ed eventuali confronti tra medie sono eseguiti con test t student.

Nel terzo endpoint, invece, si confronteranno gli outcome di sopravvivenza (tempo alla progressione) dei due gruppi di pazienti con carcinoma alla mammella a diversa frequenza di somministrazione dell'acido zoledronico. L'analisi statistica è eseguita con il software libero R (<http://www.r-projet.org>).

La significatività statistica è definita da un valore di $p < 0,05$.

3.11 Risultati

Sono state arruolate 644 pazienti per il primo endpoint, 303 per il secondo e terzo endpoint (Tab.2)

Tabella 2 Numero pazienti arruolate

	GRUPPO IN STUDIO	GRUPPO CONTROLLO	Totale
PRIMO ENDOPOINT	341	303	644
SECONDO ENDPOINT	204	126	303
TERZO ENDPOINT	204	126	303

3.11.1 Primo obiettivo

Sono stati analizzati e messi a confronto i dati dei parametri surrogati relativi al basale ed al primo anno di terapia con acido zoledronico

I risultati delle differenze delle mediane dei parametri surrogati tra gruppi (osteoporotiche vs carcinoma mammella) sono indicati in tabella 3.

Il confronto dell'andamento dei valori surrogati sono, invece, illustrati nei boxplot (Figura 2,3,4,5).

Tabella 3

	Δ CTX (ostep-mam)	Δ t-score fem-tot (ostep-mam)	Δ t-score fem collo (ostep-mam)	Δ t-score rachide (ostep-mam)
basale	-0,157 (-35%)	-0,7 (37%)	-0,6 (26%)	-0,6 (21%)
6 mesi	-0,0285 (-20%)			
1 anno*	-0,023 (-9%)	-0,65 (37%)	-0,65(29%)	-0,55 (21%)

*per la MOC circa 18 mesi

Andamento CTX sierico in pazienti in trattamento con Aclasta

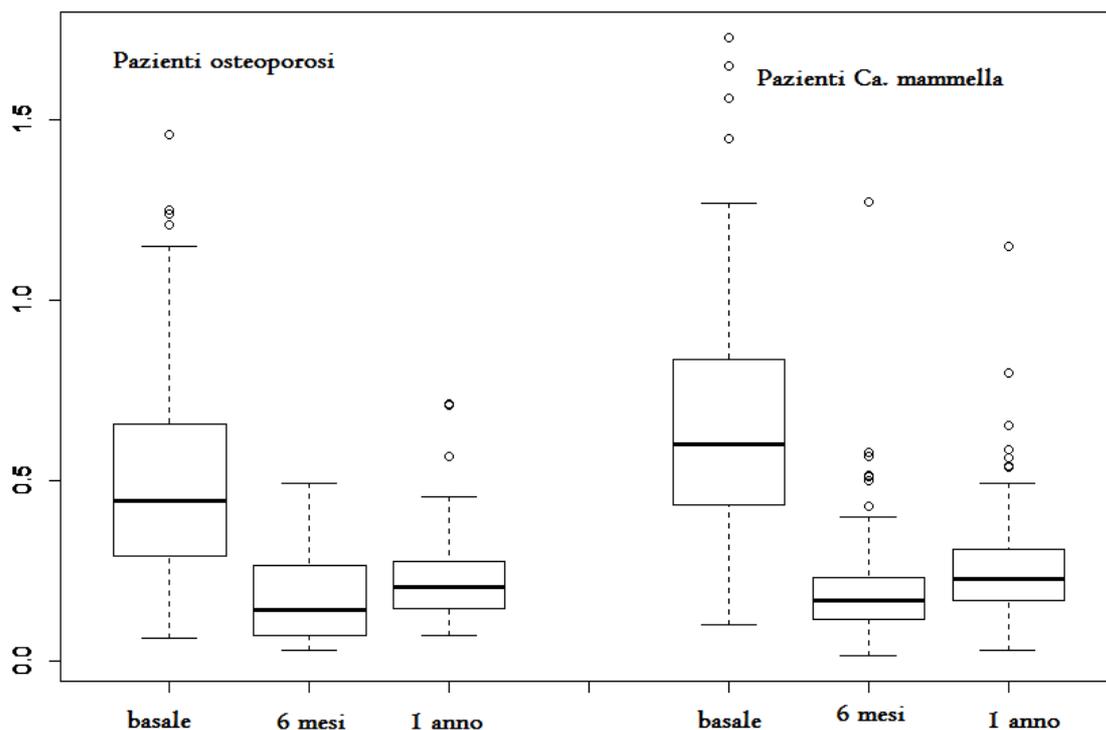


Figura 2. L'andamento del CTX risulta sovrapponibile tra i 2 gruppi, in particolare il confronto tra le medie risulta essere molto diverso al basale tra il gruppo di controllo e quello in studio (0,496 vs 0,649, $p < 0,01$ pari a 35%). Questa differenza risulta diminuita e non significativa a 6 mesi ed 1 anno (0,17 vs 0,21 $p=0,33$ pari a 20%; 0,23 vs 0,27 $p=0,09$, pari a 9%).

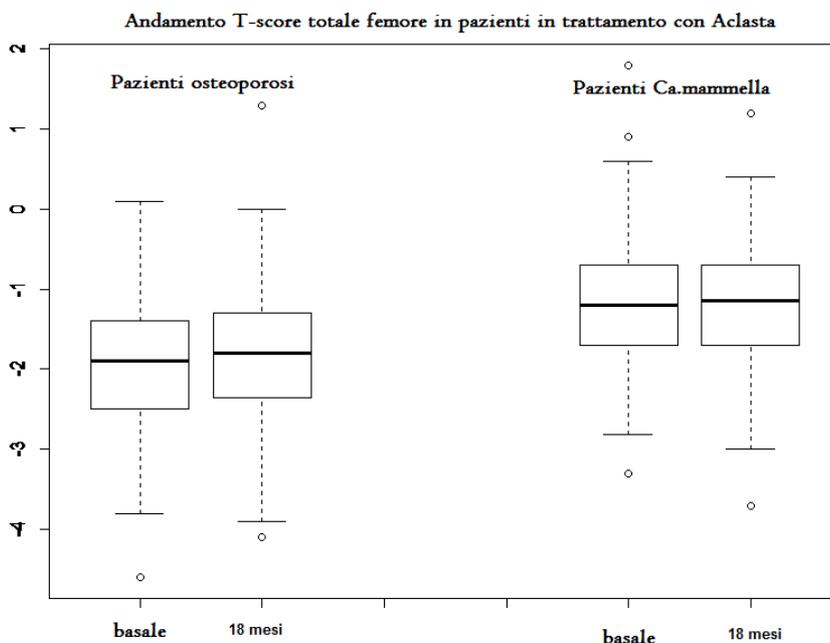


Figura 3. Andamento del T-score femorale totale risulta essere sovrapponibile e la differenza % del t score tra i due gruppi resta costante (37%).

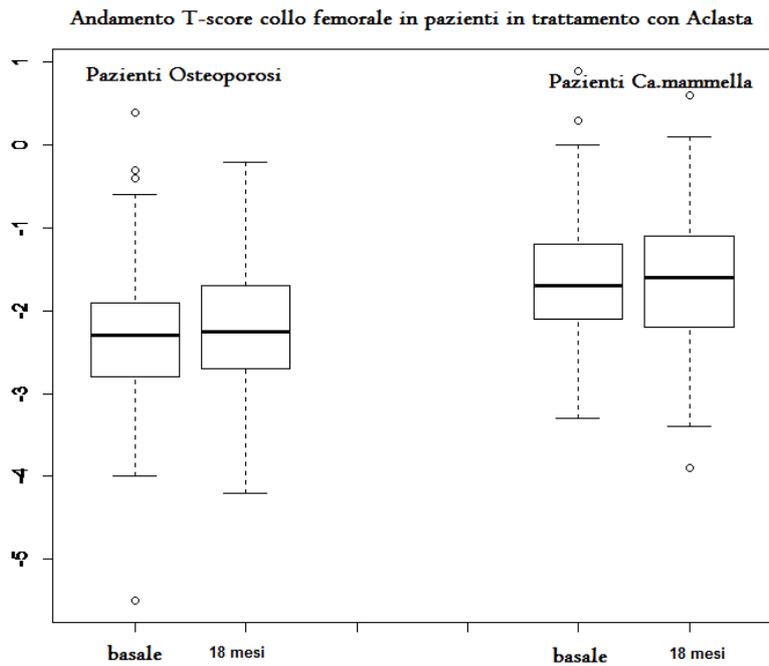


Figura 4. Andamento del T-score collo femorale risulta essere sovrapponibile la differenza % del t score tra i due gruppi si discosta sensibilmente (26% al basale e 29% alla MOC dopo 18 mesi).

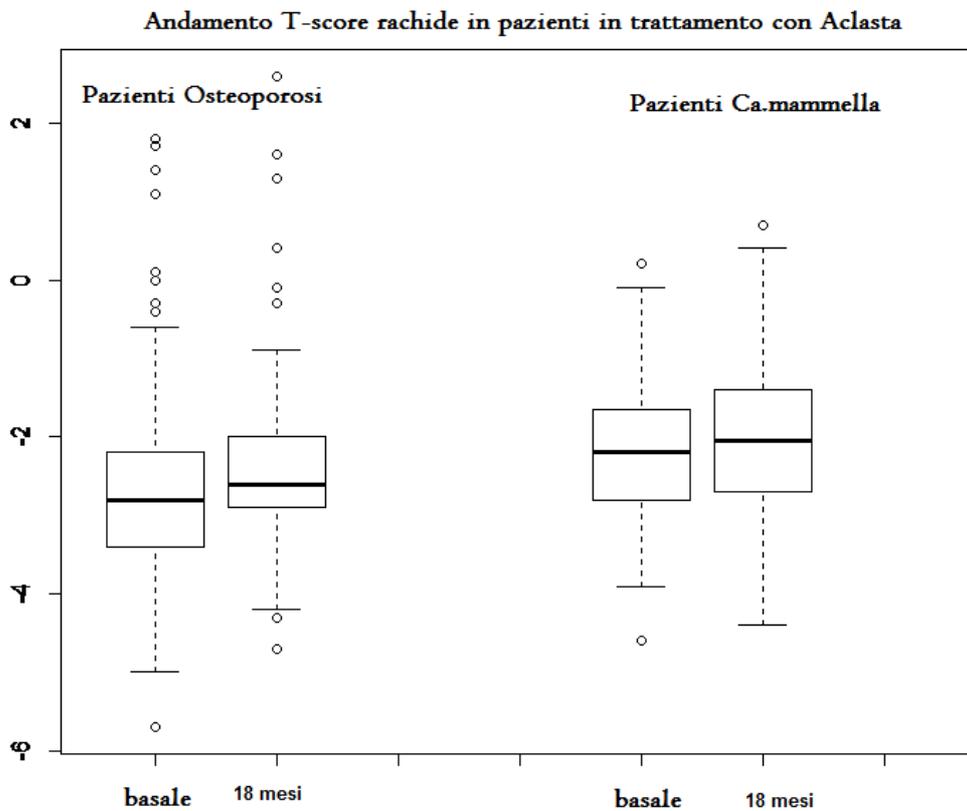


Figura 5. Andamento del T-score rachide risulta essere sovrapponibile e la differenza % del t-score tra i due gruppi resta costante (21%).

3.11.2 Secondo obiettivo

Il valore mediano del CTX sierico del gruppo in studio (0,3205 ng/ml) supera il valore cut-off di riferimento (pari a 0,3 ng/ml) dopo più di due anni dalla prima e unica somministrazione (2,5 anni +1DS). Nel gruppo controllo tale valore risulta pari a 0,2527ng/ml dopo 2 anni e 2 somministrazioni di acido zoledronico (Figura 6 e tabella 4).

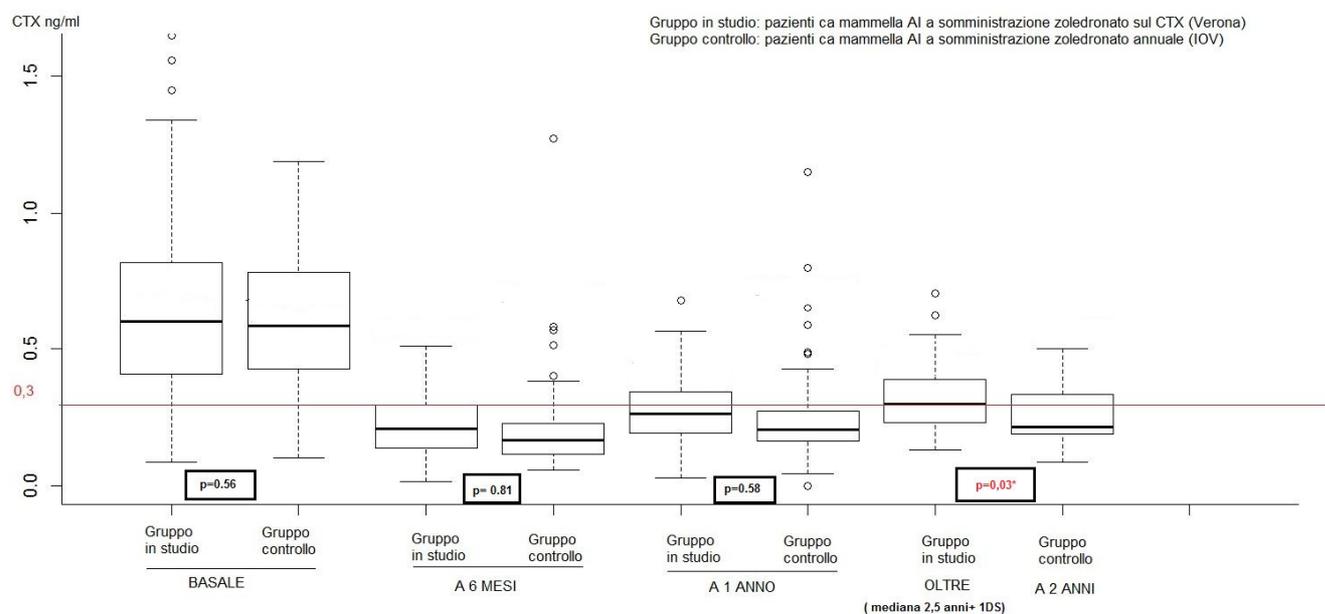


Figura 6. Confronto dell'andamento valori CTX sierico nelle 2 popolazioni in studio.

Tabella 4. Risultati confronto valori CTX sierico nei due gruppi in studio.

	Gruppo in studio	Gruppo Controllo	p value	IC95% low	IC95% upper	Δ%
basale	0,6337	0,6109	0,56	-0,05	0,1	3,60
6.mesi	0,2193	0,2118	0,81	-0,05	0,07	3,42
1.anno	0,2785	0,2596	0,58	-0,05	0,08	6,79
2 anni/Oltre	0,3205	0,2527	0,03	0,01	0,13	21,15

Per quanto riguarda i valori delle BMD possiamo valutare solo quelle eseguite al basale e a 18 mesi (Tabella 5 figure 7,8,9).

Tabella 5. Risultati valori delle MOC collo femorale, totale femorale, rachide dei due gruppi in studio

	moc collo femorale				moc tot femorale				moc rachide					
	controllo	studio	delta	delta%	controllo	studio	delta	delta%	basale	controllo	studio	delta	delta%	
basale	-2	-1,9	-0,1	5,0	basale	-1,4	-1,2	-0,2	14,3	basale	-2,55	-2,1	-0,45	17,6
18 mesi	-1,6	-1,45	-0,15	9,4	18 mesi	-1,3	-0,9	-0,4	30,8	18 mesi	-2,4	-1,9	-0,5	20,8
delta	-0,4	-0,45			delta	-0,1	-0,3			delta	-0,15	-0,2		
delta%	20,0	23,7			delta%	7,1	25,0			delta%	5,9	9,5		

Si osserva, paradossalmente, una tendenza al miglioramento da parte del gruppo in studio che ha eseguito una sola somministrazione di acido zoledronico in tutte e 3 le MOC. Ciò è evidente sia nel confronto tra i due gruppi sia nel confronto tra basale vs 18 mesi. Tuttavia, resta da verificare il dato con le MOC a 36 mesi.

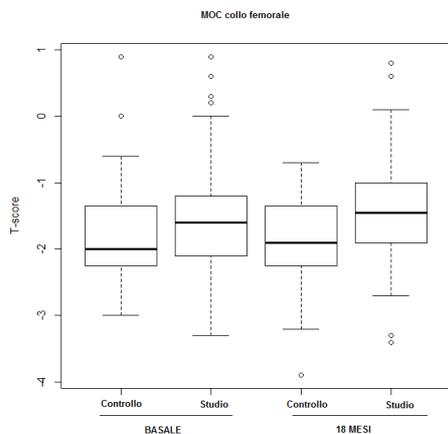


Figura 7. Confronto della MOC collo-femorale tra gruppo controllo e gruppo in studio.

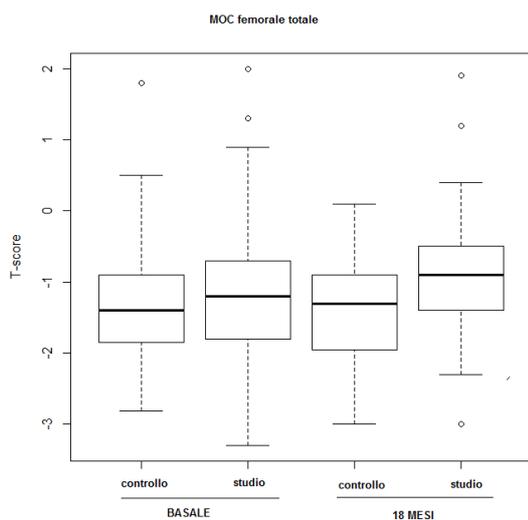


Figura 8. Confronto MOC femorale totale tra gruppo controllo e gruppo in studio

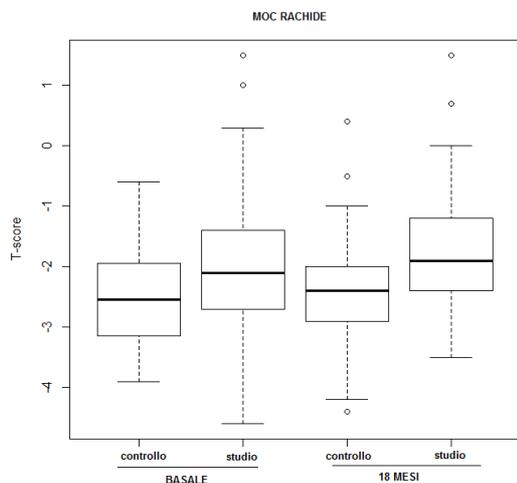


Figura 9. Confronto MOC rachide tra gruppo controllo e gruppo in studio

3.11.3 Terzo obiettivo

Per questo endpoint è previsto un follow up di almeno 36/48 mesi. Allo stato attuale non abbiamo sufficienti dati per l'analisi.

3.12 Discussione

I risultati del primo obiettivo sembrano dimostrare, sulla base del confronto di parametri surrogati, l'efficacia antifratturativa di questo bisfosfonato alla posologia 5 mg/anno anche sulla nostra popolazione oncologica. E' confermata l'attendibilità dell'utilizzo del CTX sierico quale parametro biochimico per il monitoraggio della terapia con acido zoledronico (25) nelle pazienti oncologiche in terapia adiuvante con inibitori dell'aromatasi. In particolare, si può notare che il turnover osseo è più elevato (+35%) al basale nel gruppo in trattamento con AI rispetto al gruppo controllo (0,649 vs 0,496, $p < 0,01$), tuttavia tale differenza risulta diminuita all'anno di trattamento (+9%).

Le differenze tra i due gruppi al basale e all'anno delle MOC-DEXA restano costanti, confermando, quindi, la pari efficacia di zoledronato.

Purtroppo, non sono ancora disponibili tutte le misure della MOC-DEXA, pertanto i risultati del secondo obiettivo sono parziali. Tuttavia, dal confronto del monitoraggio di CTX sierico sembra che l'utilizzo del farmaco ad intervalli più lunghi rispetto a quelli previsti dalla scheda tecnica di aclasta (acido zoledronico 5 mg/anno) e dagli studi ZOFAST, Z-FAST e E-ZO-FAST (acido zoledronico 4mg/6 mesi), non determini aumenti significativi del riassorbimento osseo. In particolare, nel gruppo in studio - in cui la seconda somministrazione di acido zoledronico avviene non dopo un anno ma sulla base dell'aumento dei valori CTX sierico- i valori del CTX sono aumentati in modo significativo rispetto ai valori del gruppo controllo, solo oltre i 2 anni (mediana di 2,5 anni + 1DS). Questo dato del gruppo in studio non è stato rilevato a 2 anni come quello del gruppo controllo ma dopo un periodo variabile che va da 2 a 3 anni (mediana 2,5 anni). Ciò nonostante, il risultato sembra confermare come sia possibile personalizzare la terapia con acido zoledronico sulla base del monitoraggio del CTX sierico anche ad intervalli di tempo superiore all'anno.

Nella prevenzione primaria in donne in menopausa di età ≥ 50 anni, a rischio elevato di frattura a seguito di blocco ormonale adiuvante per carcinoma mammario, la nota AIFA n.79 prevede l'utilizzo di altri due bisfosfonati, l'alendronato e il risendronato. Tuttavia, questi due bisfosfonati implicano somministrazioni settimanali ed è noto in letteratura che la persistenza al trattamento è migliore con i farmaci a somministrazione annuale (26, 27).

L'allungamento degli intervalli di somministrazione del bisfosfonato favorisce la compliance e la persistenza della terapia antifratturativa ma anche di quella antitumorale. Infatti, è noto in letteratura che circa il 30% delle pazienti con carcinoma mammario in trattamento adiuvante ormonale interrompe

la terapia a causa principalmente degli effetti avversi causati dalla terapia ormonale, specie se quest'ultimi prevedono un'intensa medicalizzazione (28).

Inoltre, la scarsa aderenza alla terapia antifratturativa a lungo termine si associa a un aumento dei costi sanitari, poiché gli eventi avversi come le fratture diventano più probabili (29,30).

In un interessante lavoro di farmacoeconomia sulle fratture osteoporotiche, Piscitelli et al. ha stimato che i costi annui complessivi sostenuti per il ricovero, la riabilitazione e il trattamento farmacologico dopo fratture dell'anca nelle persone di età ≥ 65 anni, dal 2000 al 2005 sono aumentati e vanno da 2.560.600 euro del 2000 al 3.291.750 del 2005, un aumento che corrisponde ad un aumento dei costi di gestione stimato in circa un milione di euro in 5 anni! L'autore sostiene che le fratture dell'anca correlate all'osteoporosi comportano soprattutto costi elevati di riabilitazione, più del 50% dei costi totali nella sua analisi (31).

Risulta, quindi, che le ricadute cliniche e sulla qualità di vita di questo effetto avverso potrebbero essere pesanti per il paziente come quelle economiche potrebbero esserlo per il SSN.

La scelta di un bisfosfonato, come l'acido zoledronico prescrivibile e somministrabile solo in strutture ospedaliere, è compatibile con i follow up oncologici che le pazienti periodicamente devono eseguire presso le strutture sanitarie. Inoltre, l'allungamento dei tempi di somministrazione oltre l'anno del farmaco assicura una buona aderenza al trattamento ma anche minori rischi di effetti avversi dovuti al bisfosfonato stesso. A questo proposito va precisato che l'effetto avverso più temuto è l'Osteonecrosi della mandibola (ONJ). L'incidenza dell'osteonecrosi della mandibola va da 0,001% a 0,01% nella popolazione osteoporotica normale mentre nella popolazione oncologica si aggira attorno al 1-15%. Ciò perché l'acido zoledronico è utilizzato ad alte dosi nelle metastasi ossee.

Possiamo dedurre, pertanto, che l'incidenza di questo effetto nelle pazienti con carcinoma della mammella in terapia ormonale adiuvante possa essere paragonabile a quella delle osteoporotiche. Tuttavia, è comunque auspicabile la riduzione di tale rischio ed un attento monitoraggio delle pazienti perché il 5-14% di esse sono destinate alla recidiva che spesso si localizza a livello osseo (11).

Alcuni autori suggeriscono che la quantificazione di CTX sierico possa essere anche utile come fattore prognostico per l'osteonecrosi della mandibola nei pazienti in trattamento con farmaci antifratturativi (32).

La nota 79 indica come farmaco di prima scelta insieme ai bisfosfonati anche denosumab a somministrazione semestrale. Questo farmaco non offre i vantaggi dell'acido zoledronico in termini di allungamento di intervallo di somministrazione. Infatti, l'effetto protettivo a lungo termine di acido zoledronico è dovuto alla sua affinità per l'osso mineralizzato, che è superiore anche a quella di altri farmaci della sua classe (30). Il $39 \pm 16\%$ della dose somministrata viene eliminata con le urine, mentre la parte rimanente resta legata principalmente al tessuto osseo. Dall'osso viene rilasciato per entrare negli osteoclasti dove inibisce il processo di riassorbimento del tessuto osseo. Maggiore è l'affinità per

l'osso più lento è il rilascio del farmaco (33).

Il nostro studio è basato su questo principio.

Denosumab, invece, è un anticorpo monoclonale umano (IgG2) diretto contro il RANKL, al quale si lega con elevata affinità e specificità, prevenendo l'attivazione del suo recettore RANK, presente sulla superficie degli osteoclasti e dei loro precursori. Il blocco dell'interazione tra RANKL e RANK inibisce la formazione, la funzionalità e la sopravvivenza degli osteoclasti, riducendo in tal modo il riassorbimento osseo. I marcatori di turnover osseo raggiungono in genere i livelli pre-trattamento entro 9 mesi dall'ultima somministrazione (35), pertanto, Denosumab non presenta l'effetto a lungo termine di acido zoledronico ed è anche più costoso.

3.13 Conclusioni

I risultati del primo obiettivo confermano che la schedula di somministrazione annuale di acido zoledronico è efficace quanto quella semestrale utilizzata negli studi ZO-FAST, Z-FAST E E-ZO-FAST (6,7,8).

Inoltre, sembra che gli effetti protettivi esercitati da acido zoledronico possono persistere oltre l'anno e che la somministrazione del farmaco possa avvenire con schema personalizzato sulla base del dosaggio del CTX sierico.

Se i dati relativi alle MOC-DEXA a 36 mesi, come quelli a 18 mesi, confermeranno tali risultati, i benefici attesi sono una miglior aderenza alla terapia antifratturativa e alla terapia antitumorale da parte delle pazienti con conseguente riduzione dei rischi di effetti tossici dovuti all'acido zoledronico.

La popolazione oncologica in studio - pazienti in post-menoapusa in uno stadio di malattia tumorale iniziale - presenta un buona condizione fisica. L'osteoporosi causata dalla terapia adiuvante con AI procura un danno e disagio alle pazienti, ma potrebbe avere anche ricadute farmacoeconomiche negative per il SSN se non si interviene con la terapia antifratturativa come dimostra l'analisi economica di Piscitelli et al.

Di contro, l'eventuale interruzione della terapia con AI che potrebbe derivare dall'insorgenza dell'effetto avverso, aumenta il rischio di recidive e metastasi che devono poi essere trattate con farmaci più costosi.

La somministrazione personalizzata di acido zoledronico nelle pazienti con carcinoma della mammella in trattamento adiuvante ormonale andrebbe considerata per le motivazioni sopra esposte.

Il vantaggio che questo bisfosfonato sembra offrire in termini di protezione dalle recidive nelle pazienti in post-menopausa con carcinoma mammario precoce in trattamento con AI resta un obiettivo da valutare in futuro.

Riferimenti introduzione

1. <http://www.farmacovigilanza.org>.
2. Lau PM, Stewart K, Dooley M. The ten most common adverse drug reactions (ADRs) in oncology patients: do they matter to you? *Support Care Cancer*. 2004 Sep;12(9):626-33. PubMed PMID: 15064936.
3. Carrington C. Oral targeted therapy for cancer. *Aust Prescr*. 2015Oct;38(5):171-6. Epub 2015 Oct 1. Review. PubMed PMID: 26648656; PubMed Central PMCID: PMC4657306
4. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>
5. Graham-Lorence S., Khalil M.W., Lorence M.C., Mendelson C.R., Simpson E.R.; Structure-function relationships of human aromatase cytochrome P-450 using molecular modeling and site directed mutagenesis. *J Biol Chem*, 1991, 266: 11939-11946.
6. Dombernowsky, P.; Smith, I.; Falkson, G.; Leonard, R.; Panasci, L.; Bellmunt, J.; Bezwoda, W.; Gardin, G.; Gudgeon, A.; Morgan, M.; Fornasiero, A.; Hoffman, W.; Michel, J.; Hatschek, T.; Tjabbes, T.; Chaudri, H.A.; Hornberger, U. & Trumet, P.F.; Letrozole, a new oral aromatase inhibitor for advanced breast cancer: double-blind randomized trial showing a dose effect and improved efficacy and tolerability compared with megestrol acetate. *Journal of Clinical Oncology*, 1998, 16: 453-461.
7. 1998, 16: 453-461.
8. Gershanovich, M.; Chaudri, H.; Campos, D.; Lurie, H.; Bonaventura, A.; Jeffrey, M.; Buzzi, F.; Bodrogi, I.; Ludwig, H.; Reichardt, P.; O'Higgins, N.; Romieu, G.; Friederich, P. & Lassus, M.; Letrozole, a new oral aromatase inhibitor: randomised trial comparing 2.5 mg daily, 0.5 mg daily and aminoglutethimide in postmenopausal women with advanced breast cancer. *Annals of Oncology*, 1998, 9: 639-645
9. Mansell J, Monypenny IJ, Skene AI, Abram P, Carpenter R, Gattuso JM, Wilson CR, Angerson WJ, Doughty JC. Patterns and predictors of early recurrence in postmenopausal women with estrogen receptor-positive early breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2009 Sep;117(1):91-8. doi: 10.1007/s10549-008-0291-z. Epub 2008 Dec 27. PubMed PMID: 19112615
10. Eastell R, Hannon RA, Cuzick J et al: Effect of an aromatase inhibitor on BMD and bone turnover markers: 2-year results of the Anastrozole, Tamoxifen, Alone or in Combination (ATAC) trial (18233230). *J Bone Miner Res* 2006; 21: 1215-1223.
11. Perez EA, Josse RG, Pritchard KI et al: Effect of letrozole versus placebo on bone mineral density in women with primary breast cancer completing 5 or more years of adjuvant tamoxifen: a companion study to NCIC CTG MA.17. *J Clin Oncol* 2006; 24: 3629-3635.
12. Krause DS, Van Etten RA. Tyrosine kinases as targets for cancer therapy. *N Engl J Med*. 2005;353:172-187.

13. Lodish MB. Clinical review: kinase inhibitors: adverse effects related to the endocrine system. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Apr;98(4):1333-42. doi:10.1210/jc.2012-4085. Epub 2013 Feb 28. Review. PubMed PMID: 23450053; PubMed Central PMCID: PMC3615204
14. Daimon M, Kato T, Kaino W, Takase K, Karasawa S, Wada K, Kameda W, Susa S, Oizumi T, Tomita Y, Kato T. Thyroid dysfunction in patients treated with tyrosinekinase inhibitors, sunitinib, sorafenib and axitinib, for metastatic renal cellcarcinoma. *Jpn J Clin Oncol.* 2012 Aug;42(8):742-7. doi: 10.1093/jjco/hys076. Epub2012 May 23. PubMed PMID: 22628612
15. Agata Juszczak,, Avinash Gupta, Niki Karavitaki, Mark R Middleton, and Ashley B Grossman. MECHANISMS IN ENDOCRINOLOGY: Ipilimumab: a novel immunomodulating therapy causing autoimmune hypophysitis: a case report and review *Eur J Endocrinol* 167 (1) 1-5, doi: 10.1530/EJE-12-0167 First published online 10 April 2012.+
16. Bertrand A, Kostine M, Barnetche T, Truchetet ME, Schaeffer T. Immune related adverse events associated with anti-CTLA-4 antibodies: systematic review and meta-analysis. *BMC Med.* 2015 Sep 4;13:211. doi: 10.1186/s12916-015-0455-8. PubMed PMID: 26337719; PubMed Central PMCID: PMC4559965.
17. Gotink KJ, Verheul HM. Anti-angiogenic tyrosine kinase inhibitors: what is their mechanism of action? *Angiogenesis.* 2010 Mar;13(1):1-14. doi: 10.1007/s10456-009-9160-6. Epub 2009 Dec 11. Review. PubMed PMID: 20012482; PubMed Central PMCID: PMC2845892.

Riferimenti capitolo 1

1. Motzer RJ et al. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *NEJM.* 2007;356:115-124.
2. Motzer RJ et al. Sunitinib in patients with metastatic renal cell carcinoma. *JAMA.* 2006;295:2516-2524
3. Zustovich F, Lombardi G, Farina P. Treating patients with metastatic renal carcinoma:an escape from phase III. *Expert Rev Anticancer Ther* 2012; 12:919-27.
4. Scheda Tecnica di Sunitinib.
5. Wolter, C. Stefan, B. Decallonne et al., “The clinical implications of sunitinib-induced hypothyroidism: a prospective evaluation,” *British Journal of Cancer*, vol. 99, no. 3, pp. 448–454, 2008
6. Pinto A, Moreno V, Espinosa E, Redondo A, Gonzalez Baron M. New onse hypothyroidism and macrocytosis as surrogate markers for the efficacy of sunitinib in the treatment of advanced renal cell carcinoma. *Genitourinary Cancers Symposium* 2010, abstract 338.

7. Pinto FAI, Pereira AAR, Formiga MN, Fanelli MF, Chinen LTD, Lima VC, et al. Association of hypothyroidism with improved outcomes in first-line treatment of renal cell carcinoma with sunitinib. *J Clin Oncol* 2012; 30, abstract 466.
8. Papazisis KT, Kontovinis L, Pazaitou K, Kontovini M, Mouratidou D, Vassileiadis T. Thyroid-stimulating hormone (TSH) levels in patients with metastatic renal cell cancer treated with sunitinib. *Ann Oncol* 2010; 21:289.
9. Sabatier R, Eymard JC, Walz J, et al. Could thyroid dysfunction influence outcome in sunitinib-treated metastatic renal cell carcinoma? *Ann Oncol.* 2012;23:714–721. [PubMed]
10. Schmidinger M, Vogl UM, Bojic M, et al. Hypothyroidism in patients with renal cell carcinoma: blessing or curse? *Cancer.* 2011;117:534–544. [PubMed]
11. Kust D, Prpić M, Murgić J, Jazvić M, Jakšić B, Krilić D, Bolanča A, Kusić Z. Hypothyroidism as a predictive clinical marker of better treatment response to sunitinib therapy. *Anticancer Res.* 2014 Jun;34(6):3177-84. PubMed PMID: 24922691.
12. Bozkurt O, Karaca H, Hacibekiroglu I, Kaplan MA, Duzkopru Y, Uysal M, Berk V, Inanc M, Duran AO, Ozaslan E, Ucar M, Ozkan M. Is sunitinib-induced hypothyroidism a predictive clinical marker for better response in metastatic renal cell carcinoma patients *J Chemother.* 2015 May 6:1973947815Y0000000039.[Epub ahead of print] PubMed PMID: 25948423
13. Baldazzi V, Tassi R, Lapini A, Santomaggio C, Carini M, Mazzanti R. The impact of sunitinib-induced hypothyroidism on progression-free survival of metastatic renal cancer patients: a prospective single-center study. *Urol Oncol* 2012; 30:704
14. <https://www.agenziafarmaco.gov.it/registri/>.
15. Tierney JF, Stewart LA, Ghersi D, Burdett S, Sydes MR. Practical methods for incorporating summary time-to-event data into meta-analysis. *Trials.* 2007 Jun 7;8:16. PubMed PMID: 17555582; PubMed Central PMCID: PMC1920534
16. Nearchou A, Valachis A, Lind P, Akre O, Sandström P. Acquired Hypothyroidism as a Predictive Marker of Outcome in Patients With Metastatic Renal Cell Carcinoma Treated With Tyrosine Kinase Inhibitors: A Literature-Based Meta-Analysis. *Clin Genitourin Cancer.* 2015 Aug;13(4):280-6. doi:10.1016/j.clgc.2014.10.002. Epub 2014 Oct 24. Review. PubMed PMID: 25442773
17. DerSimonian R, Laird N. Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials.* 1986 Sep;7(3):177-88. PubMed PMID: 3802833

18. Bianchi L, Rossi L, Tomao F, Papa A, Zoratto F, Tomao S. Thyroid dysfunction and tyrosine kinase inhibitors in renal cell carcinoma. *Endocr Relat Cancer*. 2013 Aug 19;20(5):R233-45. doi: 10.1530/ERC-13-0201. Print 2013 Oct. Review. PubMed PMID: 23833016.
19. Mannavola D, Coco P, Vannucchi G, Bertuelli R, Carletto M, Casali PG, Beck-Peccoz P, Fugazzola L. A novel tyrosine-kinase selective inhibitor, sunitinib, induces transient hypothyroidism by blocking iodine uptake. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Sep;92(9):3531-4. Epub 2007 Jun 26. PubMed PMID: 17595247.
20. Salem AK, Fenton MS, Marion KM, Hershman JM. Effect of sunitinib on growth and function of FRTL-5 thyroid cells. *Thyroid*. 2008 Jun;18(6):631-5. Doi 10.1089/thy.2007.0336. PubMed PMID: 18578612
21. Alexandrescu DT, Popoveniuc G, Farzanmehr H, Dasanu CA, Dawson N & Wartofsky L. 2008 Sunitinib associated lymphocytic thyroiditis without circulating antithyroid antibodies. *Thyroid* 18 809–812. (doi:10.1089/ thy.2007.0349)
22. Pani F, Atzori F, Baghino G, Boi F, Tanca L, Ionta MT, Mariotti S. Thyroid Dysfunction in Patients with Metastatic Carcinoma Treated with Sunitinib: Is Thyroid Autoimmunity Involved? *Thyroid*. 2015 Nov;25(11):1255-61. doi: 10.1089/thy.2015.0170. Epub 2015 Oct 14. PubMed PMID: 26414109
23. Makita N, Miyakawa M, Fujita T, et al. Sunitinib induces hypothyroidism with a markedly reduced vascularity. *Thyroid*. 2010; 20:323–326. [PubMed: 2018778
24. Makita N, Iiri T. Tyrosine kinase inhibitor-induced thyroid disorders: a review and hypothesis. *Thyroid*. 2013 Feb;23(2):151-9. doi: 10.1089/thy.2012.0456. Review. PubMed PMID: 23398161
25. Kappers MH, van Esch JH, Smedts FM, de Krijger RR, Eechoute K, Mathijssen RH, Sleijfer S, Leijten F, Danser AH, van den Meiracker AH, Visser TJ. Sunitinib-induced hypothyroidism is due to induction of type 3 deiodinase activity and thyroidal capillary regression. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 Oct;96(10):3087-94. doi: 10.1210/jc.2011-1172. Epub 2011 Aug 3. PubMed PMID: 21816788.
26. Abdel-Rahman O, Fouad M. Risk of thyroid dysfunction in patients with solid tumors treated with VEGF receptor tyrosine kinase inhibitors: a critical literature review and meta analysis. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2014 Sep;14(9):1063-73. doi: 10.1586/14737140.2014.929501. Epub 2014 Jun 13. Review. PubMed PMID: 24927771.
27. Carmeliet P (2005) Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature* 438:932–936

28. Wells GA, Shea B, O'Connell D, et al. The Newcastle–Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses. http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/nosgen.pdf
29. Guyatt GH, Oxman AD, Vist GE, Kunz R, Falck-Ytter Y, Alonso-Coello P, Schünemann HJ; GRADE Working Group. GRADE: an emerging consensus on rating quality of evidence and strength of recommendations. *BMJ*. 2008 Apr 26;336(7650):924-6. doi: 10.1136/bmj.39489.470347.AD. PubMed PMID: 18436948; PubMed Central PMCID: PMC2335261.

Riferimenti capitolo 2

1. Nagorsen D, Scheibenbogen C, Marincola FM, et al. Natural T cell immunity against cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9:4296.)
2. -Scheda Tecnica di Yervoy
3. AGENZIA ITALIANA DEL FARMACO – DETERMINA 6 febbraio 2013-GAZZETTA n.45 del 22 febbraio 2013
4. Chiarion-Sileni V, Pigozzo J, Ascierto PA, Simeone E, Maio M, Calabrò L, Marchetti P, De Galitiis F, Testori A, Ferrucci PF, Queirolo P, Spagnolo Quaglino P, Carnevale Schianca F, Mandalà M, Di Guardo L, Del Vecchio M. Ipilimumab retreatment in patients with pretreated advanced melanoma: the expanded access programme in Italy. *Br J Cancer*. 2014 Apr 2; 110(7):1721-6. doi: 10.1038/bjc.2014.126. Epub 2014 Mar 11. PubMed PMID: 24619072; PubMed Central PMCID: PMC3974075
5. Bertrand A, Kostine M, Barnette T, Truchetet ME, Schaeffer T. Immune related adverse events associated with anti-CTLA-4 antibodies: systematic review and meta-analysis. *BMC Med*. 2015 Sep 4; 13:211. doi: 10.1186/s12916-015-0455-8. PubMed PMID: 26337719; PubMed Central PMCID: PMC4559965.
6. Faje A. Immunotherapy and hypophysitis: clinical presentation, treatment, and biologic insights. *Pituitary*. 2015 Jul 18. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 26186958.
7. Iwama S, De Remigis A, Callahan MK, Slovin SF, Wolchok JD, Caturegli P (2014) Pituitary expression of CTLA-4 mediates hypophysitis secondary to administration of CTLA-4 blocking antibody. *Sci Transl Med* 6:230ra245
8. Courtney CH, McAllister AS, Bell PM, et al. Low- and standard-dose corticotropin and insulin hypoglycemia testing in the assessment of hypothalamic-pituitary-adrenal function after pituitary surgery. *J Clin Endocrinol Metab* 2004, 89: 1712-7.

9. Gutenberg A, Hans V, Puchner MJ, Kreutzer J, Bruck W, Caturegli P, Buchfelder M 2006 Primary hypophysitis: clinical-pathological correlations. *Eur J Endocrinol* 155:101-107.
10. Min L, Vaidya A, Becker C. Association of ipilimumab therapy for advanced melanoma with secondary adrenal insufficiency: a case series *Endocr Pract*. 2012 May-Jun;18(3):351-5. doi: 10.4158/EP11273.OR.
11. Persani L. Clinical review: Central hypothyroidism: pathogenic, diagnostic, and therapeutic challenges. *J Clin Endocrinol Metab* 2012, 97: 3068-78
12. Andrews S, Holden R. Characteristics and management of immune-related adverse effects associated with ipilimumab, a new immunotherapy for metastatic melanoma. *Cancer Manag Res* 2012; 4: 299-307
13. Chan WB & Cockram CS. Panhypopituitarism in association with interferon- α treatment. *Singapore Medical Journal* 2004 45 93–94
14. Creelan BC. Update on immune checkpoint inhibitors in lung cancer. *Cancer Control*. 2014 Jan;21(1):80-9. PubMed PMID: 24357746.
15. Yeung SC, Chiu AC, Vassilopoulou-Sellin R & Gagel RF. The endocrine effects of nonhormonal antineoplastic therapy. *Endocrine Reviews* 1998 19 144–172.
16. 18 - Concha LB, Carlson HE, Heimann A, Lake-Bakaar GV & Paal AF. Interferon-induced hypopituitarism. *American Journal of Medicine* 2003 114 161–163.
17. 19 - Chan WB & Cockram CS. Panhypopituitarism in association with interferon- α treatment. *Singapore Medical Journal* 2004 45 93–94.
18. -Ryder M, Callahan M, Postow MA, Wolchok J, Fagin JA- Endocrine-related adverse events following ipilimumab in patients with advanced melanoma: a comprehensive retrospective review from a single institution- *Endocr Relat Cancer*. 2014 Mar 7; 21(2):371-81. doi: 10.1530/ERC-13-0499. Print 2014 Apr.

Riferimenti capitolo 3

1. Chen Z, Maricic M, Bassford TL et al (2005) Fracture risk among breast cancer survivors: results from the Women’s Health Initiative Observational Study. *Arch Intern Med* 165:552-558
2. Bertoldo F, Fracalossi A, Dalle Carbonare L (2006) Bisfosfonati e oncologia. Up-to-date 2006. In: Adami S (Ed.) *Bisfosfonati Yearbook 2006*. Springer-Verlag Italia, Milano:109-118
3. 7. Hirbe A, Morgan EA, Uluçkan O, Weilbaeher K (2006) Skeletal complications of breast cancer therapies. *Clin Cancer Res* 12:6309s-6314s
4. Howell A, Cuzick J, Baum M et al (2005) Results of the ATAC (Arimidex, Tamoxifen, Alone or inCombination) trial after completion of 5 years’ adjuvant treatment for breast cancer. *Lancet* 365:60-62]

5. *Nota 79. Determinazione n° 589/2015 del 14/05/2015 che sostituisce il testo della Nota 79 di cui alla Determinazione del 7 giugno 2011*
6. Coleman R, de Boer R, Eidtmann H, Llombart A, Davidson N, Neven P, von Minckwitz G, Sleeboom HP, Forbes J, Barrios C, Frassoldati A, Campbell I, Pajja O, Martin N, Modi A, Bundred N. Zoledronic acid (zoledronate) for postmenopausal women with early breast cancer receiving adjuvant letrozole (ZO-FAST study):final 60-month results. *Ann Oncol.* 2013 Feb;24(2):398-405. doi: 10.1093/annonc/mds277. Epub 2012 Oct 9. PubMed PMID: 23047045
7. Brufsky AM, Harker WG, Beck JT, Bosserman L, Vogel C, Seidler C, Jin L, Warsi G, Argonza-Aviles E, Hohneker J, Ericson SG, Perez EA. Final 5-year results of Z-FAST trial: adjuvant zoledronic acid maintains bone mass in postmenopausal breast cancer patients receiving letrozole. *Cancer.* 2012 Mar 1;118(5):1192-201. doi: 10.1002/cncr.26313. Epub 2011 Oct 10. PubMed PMID: 21987386.
8. Llombart A, Frassoldati A, Pajja O, Sleeboom HP, Jerusalem G, Mebis J, Deleu I, Miller J, Schenk N, Neven P. Immediate Administration of Zoledronic Acid Reduces Aromatase Inhibitor-Associated Bone Loss in Postmenopausal Women With Early Breast Cancer: 12-month analysis of the E-ZO-FAST trial. *Clin Breast Cancer.* 2012 Feb;12(1):40-8. doi: 10.1016/j.clbc.2011.08.002. Epub 2011 Oct 19. PubMed PMID: 22014381
9. Scheda tecnica Aclasta
10. Scheda tecnica Zometa.
11. Lineeguida Associazione Italiana Oncologia Medica “Neoplasie della Mammella”ed.2015.
12. Hadji P, Body JJ, Apro MS, et al. Practical guidance for the management of aromatase inhibitor-associated bone loss. *Ann Oncol* 2008;19:1407-1416.
13. Devogelaer JP, Brown JP, Burckhardt P, Meunier PJ, Goemaere S, Lippuner K, Body JJ, Samsioe G, Felsenberg D, Fashola T, Sanna L,Ortmann CE, Trechsel U, Krasnow J, Eriksen EF, Garnero P. Zoledronic acid efficacy and safety over five years in postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2007;18:1211–8.
14. Grey A, Bolland MJ, Horne A, Wattie D, House M, Gamble G, Reid IR. Fiv years of anti-resorptive activity after a single dose of zoledronate--results from a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Bone.* 2012 Jun;50(6):1389-93.doi: 10.1016/j.bone.2012.03.016. Epub 2012 Mar 24. PubMed PMID: 22465268.
15. Fleisch H. Bisphosphonates: mechanisms of action. *Endocr Rev.* 1998;19:80–100.
16. Nancollas GH, Tang R, Phipps RJ, Henneman Z, Gulde S, Wu W, Mangood A, Russell RG, Ebetino FH. Novel insights into actions ofbisphosphonates on bone: differences in interactions with hydroxyapatite.*Bone.* 2006;38:617–27.

17. Russell RG, Rogers MJ. Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. *Bone*. 1999;25:97–106.
18. Johansson H, Odén A, Kanis JA, McCloskey EV, Morris HA, Cooper C, Vasikaran S; IFCC-IOF Joint Working Group on Standardisation of Biochemical Markers of Bone Turnover. A meta-analysis of reference markers of bone turnover for prediction of fracture. *Calcif Tissue Int*. 2014 May;94(5):560-7. doi: 10.1007/s00223-014-9842-y. Epub 2014 Mar 4. PubMed PMID: 24590144.
19. Ben-Aharon I, Vidal L, Rizel S, Yerushalmi R, Shpilberg O, Sulkes A, Stemmer SM. Bisphosphonates in the adjuvant setting of breast cancer therapy--effect on survival: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2013 Aug 26;8(8):e70044. doi: 10.1371/journal.pone.0070044. eCollection 2013. Review. PubMed PMID: 23990894; PubMed Central PMCID: PMC3753308.
20. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG), Coleman R, Powles T, Paterson A, Gnant M, Anderson S, Diel I, Gralow J, von Minckwitz G, Moebus V, Bergh J, Pritchard KI, Bliss J, Cameron D, Evans V, Pan H, Peto R, Bradley R, Gray R. Adjuvant bisphosphonate treatment in early breast cancer: meta-analyses of individual patient data from randomised trials. *Lancet*. 2015 Oct 3;386(10001):1353-61. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60908-4. Epub 2015 Jul 23. Erratum in: *Lancet*. 2016 Jan 2;387(10013):30. PubMed PMID: 26211824
21. He M, Fan W, Zhang X. Adjuvant zoledronic acid therapy for patients with early stage breast cancer: an updated systematic review and meta-analysis. *J Hematol Oncol*. 2013 Oct 23;6(1):80. doi: 10.1186/1756-8722-6-80. Review. PubMed PMID: 24283946; PubMed Central PMCID: PMC3874690
22. Valachis A, Polyzos NP, Coleman RE, Gnant M, Eidtmann H, Brufsky AM, Aft R, Tevaarwerk AJ, Swenson K, Lind P, Mauri D. Adjuvant therapy with zoledronic acid in patients with breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Oncologist*. 2013;18(4):353-61. doi: 10.1634/theoncologist.2012-0261. Epub 2013 Feb 12. PubMed PMID: 23404816; PubMed Central PMCID: PMC3639520.
23. Wong MH, Stockler MR, Pavlakakis N. Bisphosphonates and other bone agents for breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012 Feb 15;2:CD003474. doi:10.1002/14651858.CD003474.pub3. Review. PubMed PMID: 22336790.
24. Altman DG. Statistics and ethics in medical research: III How large a sample? *Br Med J*. 1980 Nov 15;281(6251):1336-8. PubMed PMID: 7437789; PubMed Central PMCID: PMC1714734)

25. Valentina Camozzi, Fabio Vescini, Franco Grimaldi, Luigi Moro. I marcatori metabolici della matrice proteica dell'osso: stato dell'arte. *L'Endocrinologo* (2014) 15:253-259 ISSN 1590-170X Volume 15 Number 6. DOI 10.1007/s40619-014-0087-9.
26. Silverman SL, Cramer JA, Sunyecz JA, et al. Women are more persistent with monthly bisphosphonate therapy compared to weekly bisphosphonates: 12-month results from two retrospective databases (Abst W366). Presented at the 29th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research. Honolulu, HI; September 16-20, 2007.
27. Cooper A, Drake J, Brankin E; the PERSIST Investigators. Treatment persistence with once-monthly ibandronate and patient support vs. once-weekly alendronate: results from the PERSIST study. *Int J Clin Pract* 2006;60(8):896-905.
28. Hershman DL, Kushi LH, Shao T, Buono D, Kershenbaum A, Tsai WY, Fehrenbacher L, Gomez SL, Miles S, Neugut AI. Early discontinuation and nonadherence to adjuvant hormonal therapy in a cohort of 8,769 early-stage breast cancer patients. *J Clin Oncol*. 2010 Sep 20;28(27):4120-8. Doi 10.1200/JCO.2009.25.9655. Epub 2010 Jun 28. PubMed PMID: 20585090; PubMed Central PMCID: PMC2953970.
29. Kamatari M, Koto S, Ozawa N, et al. Factors affecting long-term compliance of osteoporotic patients with bisphosphonate treatment and QOL assessment in actual practice: alendronate and risedronate. *J Bone Miner Metab* 2007;25(5):302-9.
30. Badamgarav E, Fitzpatrick LA. A new look at osteoporosis outcomes: the influence of treatment, compliance, persistence, and adherence. *Mayo Clin Proc* 2006;81(8):1009-12.
31. Piscitelli P, Chitano G, Greco M, Benvenuto M, Sbenaglia E, Coli G, Migliore A, Granata M, Iolascon G, Gimigliano R, Baggiani A, Distante A, Tarantino U, Rizzuti C, Brandi ML. Pharmaco-economic issues in the treatment of severe osteoporosis. *Clin Cases Miner Bone Metab*. 2010 Jan;7(1):61-4. PubMed PMID: 22461294; PubMed Central PMCID: PMC2898009.
32. Marx RE, Cillo JE, Jr, Ulloa JJ. Oral bisphosphonate-induced osteonecrosis: risk factors, prediction of risk using serum CTX testing, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg*. 2007;65:2397-410.
33. Russell RGG, Watts NB, Ebetino FH, Rogers MJ 2008 Mechanisms of action of bisphosphonates: similarities and differences and their potential influence on clinical efficacy. *Osteoporos Int* 19:733-759.
34. Watts NB, Diab DL. Long-term use of bisphosphonates in osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010 Apr;95(4):1555-65. doi: 10.1210/jc.2009-1947. Epub 2010 Feb 19. Review. PubMed PMID: 20173017.

35. Scheda tecnica Prolia.