

## Le metastasi ossee: aspetti patogenetici e clinici

Annalisa Milano, Stefania L. Stucci, Sabino Strippoli, Franco Silvestris

Dipartimento di Medicina Interna ed Oncologia (DIMO), Università degli Studi, Bari

### ABSTRACT

**Bone metastases: pathogenetic and clinical aspects.** The skeleton is one of the most common sites for metastasis in cancer, particularly breast and prostate cancers as well as multiple myeloma. Bone metastases usually result in fractures, bone pain, spinal cord compression, and hypercalcemia, with severe involvement of both quality of life and survival. Knowledge of pathogenetic mechanisms of bone metastases is thus essential to develop new molecular therapies targeting major factors involved in bone resorption.

### INTRODUZIONE

Lo scheletro è la terza sede di metastatizzazione dopo polmone e fegato e la sua colonizzazione neoplastica rappresenta la maggiore causa di morbilità nei pazienti con cancro. Tra le neoplasie osteotrope, i carcinomi della mammella e della prostata sono responsabili da soli di circa 80% dei casi di metastasi ossee, mentre nel mieloma multiplo le localizzazioni ossee sono presenti nel 70-95% dei casi, al punto da essere ancora dibattuto se l'impegno osseo in questa neoplasia debba o meno considerarsi metastatico. In virtù di questa alta incidenza, queste tre neoplasie rappresentano modelli di riferimento per lo studio dei meccanismi patogenetici della metastatizzazione ossea.

Le metastasi ossee presentano carattere osteolitico nel carcinoma della mammella e nel mieloma, e osteoaddensante nel carcinoma prostatico. Sebbene ogni segmento osseo possa essere interessato, la colonna vertebrale toracica è la sede più frequentemente colpita, seguita dal tratto lombosacrale e da quello cervicale. La perdita dell'integrità ossea provoca spesso la comparsa di fratture in assenza di traumi o per sollecitazioni meccaniche di lieve entità. Le fratture patologiche ricorrono soprattutto a carico delle ossa lunghe, delle coste e delle vertebre, con conseguenti patologie da compressione dei nervi spinali. Le compressioni midollari rappresentano una emergenza medica e comportano deficit sensitivi o disturbi motori ovvero alterazioni del sistema nervoso autonomo con ritenzione urinaria, stipsi ed impotenza. Inoltre, invadendo il midollo osseo, le cellule neoplastiche possono sopprimere l'emopoiesi, inducendo citopenie periferiche a carico prevalentemente della serie eritroide e megacariocitaria. Altra emergenza associata alle metastasi ossee è l'ipercalcemia. Questa condizione, denominata "ipercalcemia maligna", è spesso conseguente alla produzione di mediatori umorali, secreti dal tumore ma ad azione sistemica, che hanno come target l'osso, il rene e l'intestino. Essa ricorre nel 80% dei pazienti con neoplasia ad interessamento osseo e può comportare anoressia, costipazione, nausea e

vomito, ovvero poliuria, polidipsia, ipercalciuria, calcinosi e affaticabilità, nonché letargia e confusione sino al coma neurologico.

In questa rassegna saranno rivisitati i principali meccanismi patogenetici della colonizzazione metastatica dello scheletro e gli approcci terapeutici attuali e futuri.

### FISIOPATOLOGIA DELLE METASTASI OSSEE

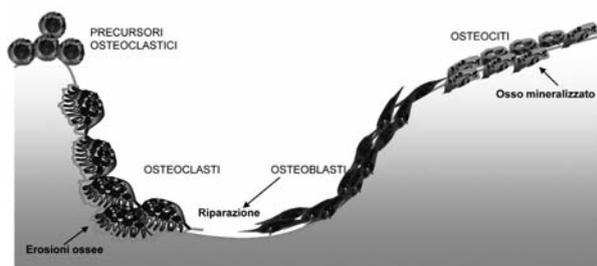
Il processo di metastatizzazione ossea segue tappe comuni comprendenti varie fasi. Esse comprendono la proliferazione cellulare nella sede del focolaio primitivo, la penetrazione nei vasi sanguigni e linfatici, l'ancoraggio alla membrana basale endoteliale di una sede anatomica distante dal focolaio primitivo, l'infiltrazione del parenchima della nuova sede anatomica e la proliferazione. Il processo si attiva mediante neoangiogenesi ad opera di citochine quali "vascular endothelial growth factor" (VEFG), "basic fibroblast growth factor" (bFGF), "vascular permeability factor" (VPF) e "transforming growth factor- $\alpha$ " (TGF $\alpha$ ). I capillari neoformati sono strutturalmente fragili e diversi da quelli normali in quanto la membrana basale e la matrice extracellulare vengono facilmente distrutte da proteasi prodotte dalle cellule neoplastiche, quali metalloproteasi (MMP), catepsina D e attivatore del plasminogeno, con il conseguente passaggio extravascolare delle cellule tumorali. Le cellule neoplastiche modificano inoltre le capacità adesive e la loro mobilità mediante fattori propri, quali "hepatocyte growth factor/stromal factor" (HGF/SF) e "insulin growth factor-II" (IGF-II), ovvero ad opera di proteine della matrice, quali vitronectina, fibronectina, laminina, collagene di tipo IV, nonché fattori secreti dall'ospite, quali "insulin growth factor-I" (IGF-I), interleuchina 8 (IL-8) e istamina. Infine, la localizzazione delle cellule tumorali a livello osseo avviene in risposta a stimoli chemiotattici da parte della componente cellulare attivati dal collagene di tipo I, dall'osteocalcina o da citochine quali "transforming growth factor- $\beta$ " (TGF- $\beta$ ) e "platelet-derived growth factor" (PDGF).

L'elevata affinità biologica per l'osso delle cellule

tumorali è dovuta sia all'alta vascolarizzazione, sia perché il microambiente osseo libera fattori che favoriscono la loro sopravvivenza e proliferazione. Le cellule tumorali, giunte a livello del midollo osseo attraversando la parete dei sinusoidi, invadono la matrice e, una volta raggiunta la superficie endostale, stimolano l'attività osteoclastogena e proliferano con formazione di metastasi a prevalente sviluppo osteolitico o osteoaddensante. Questi due tipi rappresentano i due estremi di un processo continuo caratterizzato da anomalie regolatorie dei processi fisiologici di rimodellamento osseo (1).

In condizioni fisiologiche, l'omeostasi ossea presuppone un rimodellamento continuo che permette all'osso di adeguare la propria resistenza all'entità del carico a cui viene sottoposto, di rimodellare la propria forma in relazione alle forze sollecitanti depositando nuova matrice organica e rimaneggiando la parte usurata. Questo stretto equilibrio tra rigenerazione e degradazione dell'osso viene garantito dall'azione sinergica degli osteoblasti e degli osteoclasti (Figura 1). Gli osteoblasti partecipano direttamente al rimodellamento, secernendo componenti organiche della matrice e regolando la deposizione di sali minerali. Quando la neoformazione di tessuto osseo si arresta, gli osteoblasti rimangono murati nella matrice e si trasformano in osteociti diventando incapaci di dividersi, in maniera che l'accrescimento dell'osso dopo la deposizione di minerali possa avvenire solo per apposizione. Gli osteoclasti sono primariamente deputati al riassorbimento osseo formando un compartimento extracellulare midollare in cui inducono aumentata secrezione di acido cloridrico, enzimi proteolitici ed altre proteine acide necessarie all'acidificazione e digestione della matrice organica ed inorganica dell'osso. L'azione erosiva comporta la dissoluzione dei cristalli di calcio e la digestione di fibre collagene, glicoproteine e proteoglicani mediante il rilascio di enzimi lisosomiali esocitati quali cathepsina  $\kappa$  e collagenasi (2). Sia gli osteoclasti che gli osteoblasti sono responsivi a citochine ed ormoni, che potenziano la loro funzione favorendone la proliferazione (Tabella 1) (3-7).

Tutti i tipi di metastasi ossee, siano esse litiche,



**Figura 1**

*Schema rappresentativo del rimodellamento osseo in cui l'attività distruttiva degli osteoclasti è compensata dall'attività di rimodellamento e neoformazione ossea da parte degli osteoblasti.*

addensanti o miste, sono caratterizzate dall'attivazione degli osteoclasti. Quest'ultima è evidente per l'aumento nel siero del marcatore prototipico di riassorbimento osseo, cioè il telopeptide aminoterminale del collagene di tipo I. Analisi istomorfologiche su vari tipi di tumori osteotropi confermano come una significativa quota di osteoclasti è costantemente presente nelle lesioni osteoaddensanti, sottolineando così lo stretto legame tra riassorbimento e neoformazione ossea (8). La Tabella 2 descrive schematicamente le variazioni dei più comuni indicatori biochimici del rimodellamento osseo in due modelli emblematici di metastasi ossee di tipo osteolitico e osteoaddensante forniti, rispettivamente, dal mieloma multiplo e dal carcinoma prostatico (9).

### **Modelli di metastasi osteolitiche: carcinoma della mammella e mieloma multiplo**

Le metastasi osteolitiche sono dovute a preponderante attivazione osteoclastica da parte di fattori rilasciati dalle cellule neoplastiche. Uno di questi fattori è il peptide correlato al paratormone (PTHrP), che presenta analogia strutturale con il paratormone (PTH) per i primi 34 amminoacidi della porzione aminoterminale. Questa sequenza è sufficiente per l'attivazione del recettore del PTH/PTHrP, presente sugli osteoblasti, con conseguente rilascio del "receptor activator for nuclear  $\kappa$ B ligand" (RANK-L), fattore di attivazione primaria degli osteoclasti (10). Le concentrazioni sieriche di PTHrP, che fisiologicamente sono molto basse, aumentano in quei tumori che ne producono quantità eccessive portando così alla sindrome da "ipercalcemia maligna" (11). L'eccesso del PTHrP prodotto dal tumore attiva il recettore del PTH/PTHrP espresso anche dal tubulo renale aumentando significativamente la calcemia. Tuttavia, benché sia dimostrata una correlazione tra calcemia e concentrazioni sieriche del PTHrP, non c'è invece una diretta associazione tra elevate concentrazioni di PTHrP e gravità delle metastasi ossee, escludendo pertanto un possibile ruolo prognostico per detto marcatore. La prognosi dei pazienti che presentano ipercalcemia e quindi alte concentrazioni di PTHrP rispetto a quella dei pazienti con livelli normali non è significativamente diversa, per cui nella pratica clinica il dosaggio del PTHrP associato a quello del PTH può risultare utile solamente nell'interpretazione diagnostica dell'ipercalcemia (12).

L'interfaccia tumore-osso è inoltre regolata da numerosi fattori che stimolano il riassorbimento osseo. Questi ultimi sono prodotti sia direttamente dalle cellule tumorali, sia dalle cellule stromali condizionate dall'infiltrazione tumorale. Infatti, la matrice ossea degradata libera il TGF- $\beta$ , che legandosi al proprio recettore, attiva la via di traduzione del segnale mediata dalle proteine "small mother against decapentaplegic" (SMAD), inducendo ulteriore produzione di PTHrP da parte delle cellule neoplastiche e, pertanto, autoalimentando il circolo.

Il carcinoma mammario è un esempio di neoplasia che metastatizza con un meccanismo osteolitico dovuto per lo più all'azione di PTHrP sul sistema RANK/RANK-

**Tabella 1***Elenco dei principali fattori solubili attivi nel microambiente osseo*

Citochina	Cellule di origine	Funzione biologica
Transforming growth factor- $\beta$	Cellule stromali	Attivazione osteoblasti
Insulin-like growth factor	Cellule stromali	Attivazione osteoblasti
Osteoprotegerina	Cellule stromali, linfociti B, cellule dendritiche	Inibizione attività osteoclastica per saturazione del "receptor activator for nuclear factor $\kappa$ B ligand" (RANK-L)
Interleuchina 13, Interleuchina 4	Cellule T midollari	Inibizione attività interleuchina 1; attivazione chemiotattica dei precursori osteoblastici
Macrophage colony-stimulating factor	Cellule stromali	Differenziazione osteoclastica
RANK-L	Cellule stromali, osteoblasti	Differenziazione osteoclastica mediante attivazione dei fattori di trascrizione
Interleuchina 1	Cellule stromali	Stimolazione produzione di RANK-L
Tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )	Cellule stromali	Induzione differenziazione osteoclastica
Interleuchina 6	Cellule stromali, osteoblasti	Differenziazione osteoclastica dopo stimolo da parte di interleuchina 1 e TNF- $\alpha$
Macrophage inflammatory protein 1 $\alpha$	Cellule stromali, macrofagi	Attivazione chemiotattica dei precursori osteoclastici
Ormone	Cellula target	Funzione biologica
Paratormone, peptide correlato al paratormone	Osteoblasti	Stimola il rilascio di RANK-L aumentando l'attività osteoclastica
Calcitonina	Osteoblasti	Inibisce la neoformazione osteoclastica e ne riduce l'attività
Estrogeni	Osteoblasti	Stimolano il rilascio di RANK-L aumentando l'attività osteoclastica
Insulina	Osteoblasti	Incrementa il rilascio di "insulin growth factor-I" dal fegato portando ad un' aumentata sintesi di collagene da parte degli osteoblasti

**Tabella 2***Variazioni di alcuni indicatori di rimodellamento osseo nel mieloma multiplo e nel carcinoma della prostata, quali tumori osteotropi produttori metastasi osteolitiche o osteoaddensanti*

Indicatore	Mieloma multiplo	Carcinoma prostatico
<i>Siero</i>		
Calcio	-/+	-/+
Isoenzima osseo della fosfatasi alcalina	-	+
Osteocalcina	--	++
Propeptide carbossiterminale del collagene di tipo I (PIPC)	-	+
Propeptide amminotermiale del collagene di tipo I (PINP)	+	++
Fosfatasi acida tartrato-resistente	+	+
Telo peptide amminotermiale del collagene di tipo I (NTx)	+	++
Telo peptide carbossiterminale del collagene di tipo I (CTX)	+	++
<i>Urina</i>		
Calcio	-/+	+
Idrossiprolina	-/+	+
Idrossilisina	-/+	+
Piridinolina	-/+	+
Deossipiridinolina	-/+	++
Telo peptide amminotermiale del collagene di tipo I (NTx)	-/+	++
Telo peptide carbossiterminale del collagene di tipo I (CTX)	+/+	++

Concentrazioni sieriche e/o urinarie: --, ridotte; -, normali; +, lievemente aumentate; ++, marcatamente aumentate.

L (13). Tuttavia, soltanto il 50% dei carcinomi mammari primari esprimono il PTHrP, mentre il peptide viene rilasciato da oltre il 92% dei carcinomi che metastatizzano a livello scheletrico (14). Non è chiaro se questa differenza derivi dall'induzione del peptide nel microambiente osseo o se il tumore che produce PTHrP presenti una costitutiva tendenza alla metastatizzazione ossea in relazione alla capacità delle cellule tumorali di produrre interleuchina 6 (IL-6), prostaglandina E2 (PGE2), "tumor necrosis factor- $\alpha$ " (TNF- $\alpha$ ) e "macrophage colony-stimulating factor" (M-CSF) quali fattori inducenti RANK-L.

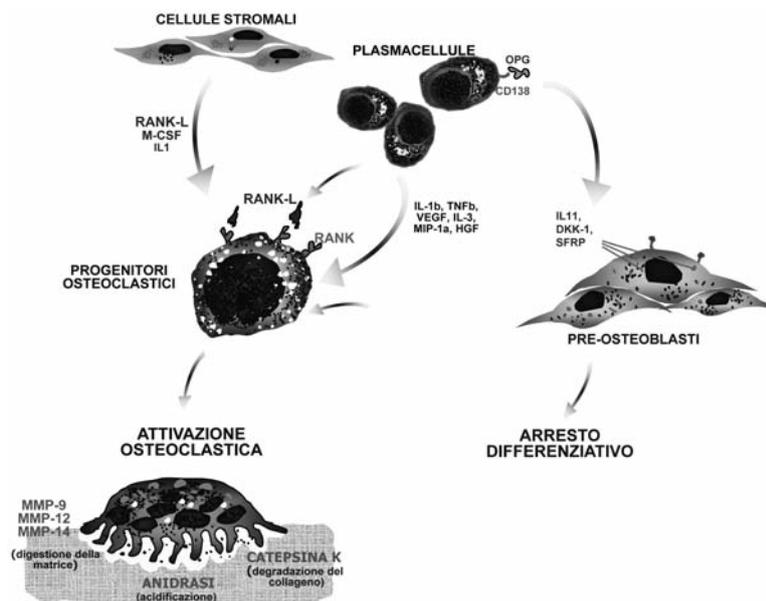
Un ulteriore ruolo va riconosciuto al recettore estrogenico  $\alpha$  (ER $\alpha$ ). E' stato infatti dimostrato come donne con tumori primitivi ER $\alpha$ + sviluppino più frequentemente metastasi ossee che comunque non esprimono ER $\alpha$ . In realtà, tale negatività è fittizia ed è dovuta ad una mutazione della forma nativa del recettore nelle cellule metastatiche che ne impedisce il legame all'estrogeno. Questa mutazione rende il recettore costitutivamente attivo in quanto favorisce la proliferazione cellulare a livello osseo, mentre in presenza di TGF- $\beta$  attiva la produzione di PTHrP da parte delle cellule tumorali metastatiche, comportando un ulteriore aumento dell'attività di riassorbimento. Inoltre, considerando che l'IL-6 è indispensabile per sostenere la crescita delle cellule tumorali, è stato ipotizzato un modello in cui le cellule ER $\alpha$ +, incapaci di produrre IL-6, presentino attiva proliferazione nei siti in cui IL-6 viene prodotta dai fibroblasti (15). L'osso mantiene infatti elevati livelli di IL-6 in condizioni non infiammatorie, inducendo così l'attivazione cronica del "signal transducer and activator of transcription 3" (STAT3), che a sua volta aumenta l'espressione del "Notch homolog 3" (Notch-3) e l'induzione di "pathway" mitogene attivate da proteinchinasi, il cui risultato finale comporta un ulteriore potenziamento della crescita e invasione tumorale.

Il meccanismo osteolitico nel mieloma multiplo è in parte diversificato. Infatti, in questo caso l'interazione tra cellule mielomatose e microambiente stromale svolge un ruolo patogenetico fondamentale. Le cellule mielomatose aderiscono allo stroma midollare che rilascia grandi quantità dei maggiori fattori osteoclastogenici, tra cui in particolare RANK-L. Inoltre, le stesse plasmacellule maligne producono fattori osteoclastogenici, quali "macrophage inflammatory protein 1 $\alpha$ " (MIP-1 $\alpha$ ) (16) e interleuchina 3 (IL-3) (17), che agiscono sui precursori midollari della linea monocito/macrofagica accelerandone la differenziazione ad osteoclasti. All'aumentata produzione di queste citochine, si associano bassi livelli di osteoprotegerina (OPG) nell'ambiente midollare che sbilanciano l'equilibrio del sistema OPG/RANK-L a favore di RANK-L. Infatti, le plasmacellule neutralizzano l'OPG mediante il recettore syndecan 1 (CD138), molecola ricca di eparansolfato che lega l'OPG e la internalizza, degradandola nel compartimento lisosomiale. A questo riguardo è stato dimostrato che la concentrazione sierica di MIP-1 $\alpha$  e RANK-L è significativamente aumentata nei

pazienti con mieloma osteolitico rispetto ai pazienti con malattia in remissione, mentre la concentrazione sierica di OPG aumenta in questi ultimi rispetto a pazienti in prima diagnosi (18). Inoltre, le plasmacellule mielomatose, diminuendo la produzione di OPG, potenziano il riassorbimento osseo ed inducono inibizione dell'attività osteoblastica di riparazione delle lesioni osteolitiche. Quest'ultimo evento viene anche favorito dall'eccesso di citochine infiammatorie quali interleuchina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6, "tumor necrosis factor- $\beta$ " (TNF- $\beta$ ) ed interferone  $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ), che rendono i precursori osteoblastici più sensibili all'apoptosi per esposizione di recettori apoptogeni, tra cui il "tumor necrosis factor receptor" (Fas) e il complesso "decoy receptor4/decoy receptor5" (DR4/DR5), in seguito al legame con i rispettivi ligandi, Fas-ligand (Fas-L) e "TNF-related apoptosis-inducing ligands" (TRAIL), sovraespressi dalle plasmacellule tumorali (19). Infine, le cellule mielomatose rilasciano fattori inibitori per la funzione osteoblastica quali il "Dickkopf homolog 1" (DKK-1), che interagisce con la "pathway Wnt" mediata dai recettori di membrana "leptin receptor" (LPR), impedendo così l'assemblaggio strutturale della  $\beta$ -catenina necessaria per la maturazione osteoblastica (20). Una rappresentazione schematica dell'interazione del clone tumorale con i diversi elementi del microambiente stromale osteo-midollare viene riportata nella Figura 2.

### **Modello di metastasi osteoaddensante: carcinoma prostatico**

Le metastasi osteoaddensanti, il cui modello prototipico è il carcinoma prostatico, sono dovute ad anomalie regolatorie della proliferazione e della attivazione osteoblastica tali da indurre eccessiva deposizione di osso osteoide e sua successiva mineralizzazione. Questa attività deriva dalla stimolazione diretta di alcuni fattori, tra cui l'endotelina 1 (ET-1), che rappresenta uno dei principali fattori di crescita osteoblastica. La sua attività è inoltre stimolata dal TGF- $\beta$ 2, dalle proteine morfogenetiche dell'osso (BMP), quali BMP-2, 3, 4, 6, e da proteasi quali il frammento aminotermine dell'urochinasi. Quest'ultimo è generato da un precursore ad elevato PM (HMW-vPA) rilasciato dalle stesse cellule neoplastiche, che si lega al recettore presente sulla cellula tumorale (u-PAR). Il frammento viene poi clivato in una molecola a basso PM (LHW-uPA) con funzione proteolitica che favorisce l'invasione tumorale e che esprime il dominio "growth factor-like" (GFD) nel frammento aminotermine. Questo dominio stimola il recettore u-PAR degli osteoblasti di cui ne induce proliferazione favorendo pertanto la deposizione di osso e convertendo il plasminogeno in plasmina con ulteriore rilascio di TGF- $\beta$  nella matrice ossea (21). Questa citochina interviene pertanto quale importante fattore di crescita osteoblastica in quanto induce la liberazione dei fattori insulinici IGF-I e IGF-II dalle loro proteine di legame, rendendole disponibili per lo stimolo alla proliferazione delle cellule neoplastiche (22).



**Figura 2**

Meccanismi di distruzione ossea nel mieloma multiplo. L'interazione delle cellule con il microambiente stromale induce liberazione di fattori osteoclastogenici, tra cui il "receptor activator for nuclear  $\kappa$ B ligand" (RANK-L), da parte delle cellule stromali e dalle plasmacellule stesse. RANK-L accelera la formazione di osteoclasti dai loro precursori, ne induce l'attivazione e la liberazione di enzimi proteolitici per la matrice ossea. All'eccessivo rimaneggiamento osseo non corrisponde tuttavia una consensuale deposizione di osso neoformato a causa dell'arresto differenziativo dei precursori osteoblastici per la liberazione nel microambiente midollare di fattori inibenti l'osteoblastogenesi tra cui l'interleuchina 11, il "Dickkopf homolog 1" e la "secreted frizzled-related protein 1" da parte delle plasmacellule maligne.

CD138, syndecan 1; DKK-1, Dickkopf homolog 1; HGF, hepatocyte growth factor; IL-1, interleuchina 1; IL-11, interleuchina 11; IL-1b, interleuchina 1b; IL-3, interleuchina 3; M-CSF, macrophage colony-stimulating factor; MIP-1 $\alpha$ , macrophage inflammatory protein 1 $\alpha$ ; MMP-9, metalloproteinasi 9; MMP-12, metalloproteinasi 12; MMP-14, metalloproteinasi 14; OPG, osteoprotegerina; SFRP, secreted frizzled-related protein 1; TNF $\beta$ , tumor necrosis factor- $\beta$ ; VEGF, vascular endothelial growth factor.

L'ET-1 riduce anche la produzione autocrina del DKK-1, l'inibitore della "pathway Wnt", attivando indirettamente la funzione osteoblastica (23). Un paradosso osservato nelle metastasi ossee prostatiche riguarda l'abbondante espressione del fattore osteolitico PTHrP. Una possibile spiegazione va ricercata nella capacità del frammento aminoterminale del PTHrP di stimolare il recettore dell'ET-1. Infatti, per l'omologia strutturale tra i residui amminoacidici 6-9 della ET-1 e 8-11 del PTHrP, è verosimile che quest'ultima proteina induca proprietà agoniste sulla funzione osteoblastica. A questo riguardo, è stato dimostrato come il dominio 18-23 del PTHrP viene clivato dall'antigene prostatico specifico (PSA) con successivo rilascio proteolitico del residuo attivo comprendente la sequenza 8-11 (24).

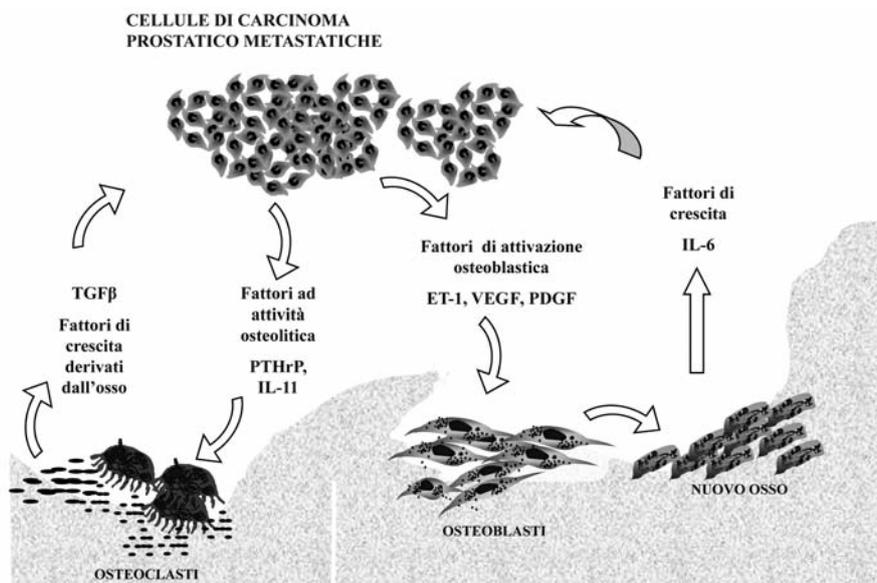
Le metastasi di carcinoma prostatico sono tuttavia deregolate anche nei meccanismi di riassorbimento osseo. I marcatori sierici di riassorbimento osseo risultano spesso incrementati e correlano con l'estensione delle metastasi confermando come l'osteoclastogenesi possa comunque svolgere un ruolo essenziale nello sviluppo di metastasi osteoaddensanti (Figura 3).

## APPROCCIO TERAPEUTICO ALLE METASTASI OSSEE

Attualmente le metastasi ossee sono trattate con un

approccio multidisciplinare che presuppone terapia medica sistemica e terapia loco-regionale. La terapia medica comprende la chemioterapia e l'ormonoterapia specifica ed ha lo scopo di indurre un effetto citocida sulle cellule neoplastiche con riduzione dei fenomeni meccanici e biologici coinvolti nel danno osseo. Oltre alla terapia medica specifica, un valido effetto anti-tumorale viene svolto dai bisfosfonati che, in virtù della loro struttura simile al pirofosfato inorganico, si localizzano sui cristalli di idrossiapatite dei siti ad elevata attività erosiva inducendo tossicità osteoclastica tale da ridurre l'attività funzionale ed il numero di queste cellule. Questi farmaci, infatti, inducono apoptosi osteoclastica per inibizione degli enzimi essenziali all'integrità del citoscheletro.

L'acido zoledronico è un bisfosfonato di ultima generazione contenente due atomi di azoto. Questo farmaco è più efficace del pamidronato (bisfosfonato di II<sup>a</sup> generazione) nell'inibire il riassorbimento osseo e nel ridurre le complicanze legate alle metastasi ossee, soprattutto nel carcinoma della mammella e nel mieloma (25). In particolare, nel trattamento della malattia ossea nel mieloma, l'acido zoledronico viene raccomandato solo nei pazienti con evidenza radiologica di lesioni litiche. La sua efficacia è dimostrata da vari studi clinici confermando la riduzione dell'incidenza di eventi scheletrici e del tempo di insorgenza del primo evento



**Figura 3**

*Meccanismi di metastatizzazione ossea da carcinoma della prostata. Le cellule di carcinoma prostatico producono fattori osteolitici, con attivazione osteoclastica. La conseguente attività distruttrice sulla matrice ossea porta alla liberazione di fattori di crescita per il tumore stesso, mentre vengono liberati fattori osteogenici che stimolano gli osteoblasti a proliferare e differenziare.*

*ET-1, endotelina 1; IL-6, interleuchina 6; IL-11, interleuchina 11; PDGF, platelet-derived growth factor; PTHrP, peptide correlato a PTH; TGFβ, transforming growth factor-β; VEGF, vascular endothelial growth factor.*

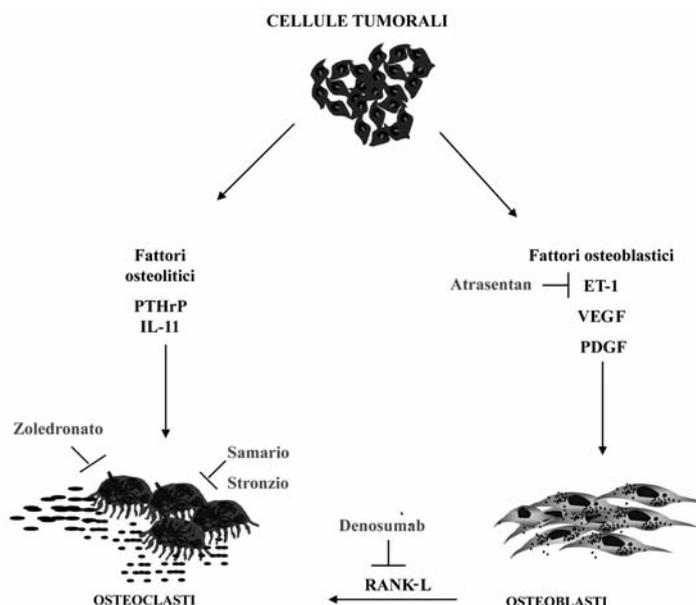
scheletrico, con significativo miglioramento della sopravvivenza libera da malattia (26).

La terapia loco-regionale comprende la radioterapia e la terapia radiometabolica. La radioterapia utilizza radiazioni ionizzanti ad elevata energia, ad esempio raggi X emessi da acceleratori lineari o fasci  $\gamma$  dal telecobalto. L'effetto biologico dipende dalla dose somministrata e dai criteri di frazionamento scelti poiché l'azione è tanto maggiore quanto minore è il numero di frazioni in cui la dose totale viene suddivisa. Generalmente si utilizzano schemi con modalità ipofrazionata in cui vengono impiegate dosi maggiori o uguali a 3 Gy in un numero limitato di sedute, cercando nel contempo di limitare gli effetti collaterali, quali nausea e vomito, diarrea, mucositi, alopecia e reazioni cutanee, mediante schermatura degli organi critici. L'irradiazione induce citotossicità attinica delle cellule neoplastiche, riducendo così i fenomeni meccanici e biologici coinvolti nel danno osseo. Per questo viene utilizzata con intento palliativo per il controllo di sintomi legati alla patologia neoplastica quali dolore, compressione nervosa e fratture patologiche (27). A ciò si aggiunge la capacità di indurre apoptosi sulle normali cellule radiosensibili con inibizione del rilascio dei mediatori chimici e riduzione della stimolazione degli osteoclasti, con osteosclerosi reattiva. In alcuni casi, tuttavia, la radioterapia di una metastasi ossea può avere effetto terapeutico e viene somministrata perciò a dosi più alte per un periodo di diverse settimane.

Un ulteriore approccio terapeutico locale a scopo anch'esso palliativo è rappresentato dalla terapia radiometabolica, che consiste nell'utilizzo di radiofarmaci osteotropi quali fosforo-ortofosfato (P-32), stronzio

cloruro (Sr-89), renio-HEDP (Re-186) e samario-EDMT (Sm-153), captati selettivamente nella metastasi e non dall'osso normale. Questi farmaci vengono somministrati per via sistemica allo scopo di emettere particelle  $\beta$  con energia tra 0,8 e 2,0 MeV tali da indurre più che un transitorio effetto tumoricida anche attivazione osteoblastica con modificazioni strutturali durature del microambiente osseo. Pertanto, l'indicazione maggiore al loro utilizzo è il controllo del dolore osseo, soprattutto nel carcinoma mammario e prostatico in cui vengono coinvolti multipli siti scheletrici. In tali neoplasie è stata dimostrata riduzione nell'uso di oppiacei ed un più duraturo controllo del dolore osseo (28). L'efficacia della terapia radiometabolica è minore nel trattamento di metastasi di altri tumori (29). Nonostante queste limitazioni, l'elevata affinità del P-32 per l'osso mediante legame ai cristalli di idrossiapatite, del Sr-89, analogo del calcio, con incorporazione nella matrice inorganica dell'osso, del Re-186 e del Sm-153, legati ciascuno ad una molecola di bifosfonato alla matrice organica, potrebbe in futuro portare all'utilizzo di questi farmaci come terapia specifica contro le interazioni cellula tumorale-osso, inducendo così un'azione antitumorale.

A parte queste terapie di consolidata efficacia, la comprensione dei meccanismi fisiopatologici del processo di metastatizzazione ossea può portare a sviluppare nuovi approcci terapeutici (30). Infatti, cercando di colpire quel "circolo vizioso" che si crea, per cui i fattori rilasciati dall'osso durante l'osteolisi possono stimolare la crescita del tumore, si evidenziano specifici siti di attacco quali bersagli molecolari (Figura 4). La possibilità di applicare la "target therapy" in osteoncologia è già in fase applicativa in studi



**Figura 4**

*Approcci terapeutici nelle metastasi ossee. I bisfosfonati come l'acido zoledronico, così come i radioisotopi (stronzio, samario) bloccano il riassorbimento osseo. Il denosumab previene il riassorbimento osseo impedendo il legame del RANK-L al suo recettore. Nel caso delle lesioni osteoaddensanti, l'atrasentan bloccando l'endotelina 1 inibisce lo sviluppo del tumore. ET-1, endotelina 1; IL-11, interleuchina 11; PDGF, platelet-derived growth factor; PTHrP, peptide correlato al PTH; RANK-L, receptor activator for nuclear kB ligand; VEGF, vascular endothelial growth factor.*

sperimentali. Infatti, l'OPG ricombinante ha dimostrato in vitro la capacità di inibire il riassorbimento osseo mediante l'inibizione della formazione di osteoclasti per saturazione di RANK-L con successivo blocco dell'interazione con RANK (31). Alcuni studi clinici non confermano tuttavia l'efficacia terapeutica prevista.

Una promettente terapia molecolare comprende l'utilizzo di un anticorpo monoclonale umano ad alta specificità e affinità per RANK-L. In uno studio su pazienti con carcinoma mammario e mieloma multiplo è stata infatti dimostrata la sua efficacia nel ridurre il riassorbimento osseo valutato mediante la misurazione delle concentrazioni sieriche ed urinarie di telopeptide aminoterminale del collagene di tipo I e di quelle sieriche della fosfatasi alcalina ossea (32). La riduzione nell'escrezione urinaria di telopeptide aminoterminale del collagene di tipo I quale espressione dell'attività osteoclastica era dimostrabile già dopo un giorno dalla somministrazione del monoclonale anti-RANKL e la durata della soppressione era dose-dipendente, persistendo per più di 84 giorni dopo una singola dose. La "target therapy" anti-RANKL non comporta nefrotossicità, né comparsa di osteonecrosi ed ulteriori studi potranno chiarire se l'inibizione del riassorbimento osseo possa di fatto tradursi in una duratura efficacia clinica.

Un altro biofarmaco è l'atrasentan (ABT-627) che, bloccando il recettore dell'ET-1, potrebbe inibire la formazione di metastasi osteoaddensanti. Anche in questo caso studi clinici confermano un possibile utilizzo nella malattia metastatica da carcinoma prostatico (33).

Questi nuovi approcci terapeutici al trattamento delle metastasi ossee necessitano tuttavia di studi comprendenti casistiche allargate, mentre d'altra parte l'identificazione di nuovi farmaci non può prescindere dal progresso delle acquisizioni nei meccanismi fisiopatologici di base.

## RINGRAZIAMENTI

Questo lavoro è stato eseguito con un contributo dell'Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro.

## BIBLIOGRAFIA

1. Guise TA, Mohammad KS, Clines G, et al. Basic mechanisms responsible for osteolytic and osteoblastic bone metastases. *Clin Cancer Res* 2006;12:6213s-6s.
2. Novack DV, Teitelbaum SL. The osteoclast: friend or foe? *Annu Rev Pathol* 2008;3:457-84.
3. Abe E, Ischimi Y, Takahashi N, et al. A differentiation-inducing factor produced by the osteoblastic cell line MC3T3-E1 stimulates bone resorption by promoting osteoclast formation. *J Bone Miner Res* 1988;3:635-45.
4. Grimaud E, Soubigou L, Couillaud S, et al. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANK)/osteoprotegerin (OPG) ratio is increased in severe osteolysis. *Am J Pathol* 2003;163:2021-31.
5. Watanabe T, Kukita T, Kukita A, et al. Direct stimulation of osteoclastogenesis by MIP-1alpha: evidence obtained from studies using RAW264 cell clone highly responsive to RANKL. *J Endocrinol* 2004;180:193-201.
6. Lee SK, Lorenzo J. Cytokines regulating osteoclast formation and function. *Curr Opin Rheumatol* 2006;18:411-8.
7. Huang JC, Sakata T, Pfleger L, et al. PTH differentially

- regulates expression of RANKL and OPG. *J Bone Miner Res* 2004;19:235-44.
8. Clarke NW, McClure J, George NJ. Morphometric evidence for bone resorption and replacement in prostate cancer. *Br J Urol* 1991;68:74-80.
  9. Hannon RA, Eastell R. Bone markers and current laboratory assays. *Cancer Treat Rev* 2006;1:7-14.
  10. Gensure RC, Gardella TJ, Juppner H, et al. Parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide, and their receptors. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;328:666-78.
  11. Lumachi F, Brunello A, Roma A, et al. Cancer-induced hypercalcemia. *Anticancer Res* 2009;29:1551-5.
  12. Lee JK, Chuang MJ, Lu CC, et al. Parathyroid hormone and parathyroid hormone related protein assays in the investigation of hypercalcemic patients in hospital in a Chinese population. *J Endocrinol Invest* 1997;20:404-9.
  13. Nakamura H, Hiraga T, Ninomiya T, et al. Involvement of cell-cell and cell-matrix interactions in bone destruction induced by metastatic MDA-MB-231 human breast cancer cells in nude mice. *J Bone Miner Metab* 2008;26:642-7.
  14. Powell GJ, Southby J, Danks, et al. Localization of parathyroid hormone-related protein in breast cancer metastases: increased incidence in bone compared with other sites. *Cancer Res* 1991;51:3059-61.
  15. Studebaker A W, Storci G, Werbeck J L, et al. Fibroblasts isolated from common sites of breast cancer metastasis enhance cancer cell growth rates and invasiveness in an interleukin-6-dependent manner. *Cancer Res* 2008;68:9087-95.
  16. Terpos E, Politou M, Viniou N, et al. Significance of macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1 alpha) in multiple myeloma. *Leuk Lymphoma* 2005;46:1699-707.
  17. Lee JW, Chung HY, Ehrlich LA, et al. IL-3 expression by myeloma cells increases both osteoclast formation and growth of myeloma cells. *Blood* 2004;103:2308-15.
  18. De Matteo M, Lombardi L, Quatraro C, et al. Fisiopatologia del tessuto osseo: il modello mieloma multiplo. *Biochim Clin* 2007;31:175-9.
  19. Silvestris F, Lombardi L, De Matteo M, et al. Myeloma bone disease: Pathogenetic mechanisms and clinical assessment. *Leuk Res* 2007;31:129-138.
  20. Qiang YW, Chen Y, Stephens O, et al. Myeloma-derived Dickkopf-1 disrupts Wnt-regulated osteoprotegerin and RANKL production by osteoblasts: a potential mechanism underlying osteolytic bone lesions in multiple myeloma. *Blood* 2008;112:196-207.
  21. Rabbani SA, Desjardins J, Bell AW, et al. An amino-terminal fragment of urokinase isolated from a prostate cancer cell line (PC-3) is mitogenic for osteoblast-like cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;173:1058-64.
  22. Rosenblatt R, Valdman A, Cheng L, et al. Endothelin-1 expression in prostate cancer and high grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Anal Quant Cytol Histol* 2009;31:137-42.
  23. Clines GA, Mohammad KS, Bao Y, et al. Dickkopf homolog 1 mediates endothelin-1 stimulated new bone formation. *Mol Endocrinol* 2007;21:486-98.
  24. Koeneman KS, Yeung F, Chung LW. Osteomimetic properties of prostate cancer cells: a hypothesis supporting the predilection of prostate cancer metastasis and growth in the bone environment. *Prostate* 1999;39:246-61.
  25. Rosen LS, Gordon D, Kaminski M, et al. Zoledronic acid versus pamidronate in the treatment of skeletal metastases in patients with breast cancer or osteolytic lesions of multiple myeloma: a phase III, double-blind, comparative trial. *Cancer J* 2001;7:377-87.
  26. Costa L, Major PP. Effect of bisphosphonates on pain and quality of life in patients with bone metastases. *Nat Clin Pract Oncol* 2009;6:163-74.
  27. Chow E, Harris K, Fan G, et al. Palliative radiotherapy trials for bone metastases: a systematic review. *J Clin Oncol* 2007;25:1423-36.
  28. Lam Mg, de Klerk JM, van Rijk PP, et al. Bone seeking radiopharmaceuticals for palliation of pain in cancer patients with osseous metastases. *Anticancer Agents Med Chem* 2007;7:381-97.
  29. Liepe K, Kotzerke J. A comparative study of 188Re-HEDP, 186Re-HEDP, 153Sm-EDTMP and 89Sr in the treatment of painful skeletal metastases. *Nucl Med Commun* 2007;28:623-30.
  30. Lipton A. Future treatment of bone metastases. *Clin Cancer Res* 2006;12:6305s-8s.
  31. Gallagher JC. Advances in bone biology and new treatments for bone loss. *Maturitas* 2008;60:65-9.
  32. Body JJ, Facon T, Coleman RE, et al. A study of the biological receptor activator of nuclear factor-kB ligand inhibitor, denosumab, in patients with multiple myeloma or bone metastases from breast cancer. *Clinic Cancer Res* 2006;12:1221-8.
  33. Armstrong AJ, Creel P, Turnbull J, et al. A phase I-II study of docetaxel and atrasentan in men with castration-resistant metastatic prostate cancer. *Clinic Cancer Res* 2008;14:6270-6.