Titolo: Uno studio clinico osservazionale retrospettivo di casi di cancro al seno triplo negativo trattati con il Metodo Di Bella: dati preliminari - A retrospective observational clinical study of triple negative breast cancer cases treated with Di Bella Method: A preliminary data

Codice: MDB007

Autore: Di Bella et al.

Data: 2024

Rivista: *Neuro Endocrinology Letters* 45(7-8):510–522

Argomento: dati clinici Metodo Di Bella

Accesso libero: si

DOI: PMID:39737501

URL 1: https://www.researchgate.net/publication/388952127

URL 2: https://www.nel.edu/a-retrospective-observational-clinical-study-of-triple-negative-breast-cancer-cases-treated-with-di-bella-method-a-preliminary-data-2994/

BLOG: https://www.metododibellaevidenzescientifiche.com/2025/05/09/mdb007-di-bella-et-al-2024/

Parole chiave: TNBC; somatostatina, prolattina, melatonina, vitamina, Metodo Di Bella

Tumore: carcinoma mammario triplo negativo (TNBC)

Traduzione: totale e fedele al testo originale, senza semplificazioni

Punti di interesse: Il carcinoma mammario triplo negativo (TNBC) è un sottotipo distinto di carcinoma mammario con una prognosi sfavorevole a causa della mancanza di agenti terapeutici efficaci. Nel presente studio, il Metodo Di Bella è stato utilizzato per il trattamento di donne con TNBC, sia da solo che con il protocollo oncologico standard specifico. Lo studio mirava a migliorare la prognosi delle donne con TNBC. Sono state arruolate 35 pazienti e la loro sopravvivenza è stata monitorata per 5 anni, durante i quali hanno ricevuto MDB e il protocollo standard di chemioterapia/radioterapia. 13 pazienti hanno ricevuto solo MDB. Le pazienti hanno ricevuto una combinazione giornaliera di somatostatina, octreotide, melatonina, retinoidi solubilizzati in alfa-tocoferilacetato, bromocriptina, cabergolina, inibitori dell'aromatasi, dosi metronomiche di ciclofosfamide, agonisti del GnRH, acido ascorbico (Vit. C), vitamina D3 (diidrotachisterolo), carbonato di calcio, proteoglicani (condroitinsolfato + glucosamina solfato), ferro sucrosomiale, calcio levofolinato, acido ursodesossicolico, butirrato di sodio. I risultati mostrano che rispetto agli studi clinici pubblicati, il MDB ha migliorato la prognosi delle donne con TNBC. Considerando che il TNBC ha solitamente una prognosi infausta e che la sopravvivenza è spesso molto bassa, le pazienti trattate con MDB hanno mostrato tassi di sopravvivenza più elevati rispetto a quelle che hanno seguito solo i protocolli oncologici standard. È importante sottolineare che secondo l'American Cancer Society, i dati riportati dalle statistiche ufficiali di sopravvivenza sono sovrastimati perché i casi di recidiva dopo intervento chirurgico e trattamenti oncologici non sono considerati nelle statistiche ufficiali. Pertanto, i risultati della multiterapia con MDB del presente studio sono particolarmente significativi per il miglioramento nei pazienti con TNBC. Caratteristiche della terapia e razionale scientifico: il Metodo Di Bella con un approccio multi-terapeutico mira a colpire la biologia delle cellule tumorali e staminali del cancro (CSC),

proliferazione, angiogenesi. Al tempo stesso stimola la riprogrammazione fisiologica delle cellule tumorali, per riportare a livello fisiologico molte reazioni vitali deviate dal cancro. La terapia consiste in una combinazione di analoghi ormonali e vitamine, utilizzata per colpire i tumori solidi, e ripristinare una fisiologia cellulare sana. La presenza documentata nel TNBC di recettori del GH, del GHRH e del GnRH determina l'indicazione terapeutica dei loro ligandi recettoriali e/o agonisti o antagonisti naturali ovvero somatostatina/octreotide per il GH e il GHRH e analoghi del GnRH. Numerosi studi sulle funzioni biologiche del GH documentano l'induzione oncogenica della sua sovraespressione e la relazione dose-dipendente tra l'espressione di GH/IGF1/GHR e le caratteristiche proliferative e aggressive dei tumori e loro cloni neoplastici. La presenza di GHR nel nucleo indica che il GH internalizzato all'interno della cellula va a modulare la trascrizione genica. Il GH induce proliferazione e immortalità cellulare e inibisce i meccanismi di ancoraggio cellula-cellula promuovendo la crescita tumorale, migrazione e l'invasione.
È documentato che GH e prolattina in sinergia attivano una cascata di fenomeni proliferativi multipli. L'inibizione dell'asse mitogeno GH-PRL si ottiene attraverso l'interazione della somatostatina, dei suoi analoghi e degli inibitori della prolattina agonisti del recettore della dopamina-2 (D2R). Ci sono sempre più prove che la PRL svolga un ruolo in diversi tipi di cancro dei tessuti riproduttivi e non riproduttivi attraverso la produzione o l'accumulo locale. L'espressione sia della PRL che del suo recettore in linee cellulari tumorali umane di diversa origine fornisce un'ulteriore conferma della sua azione come fattore di crescita autocrino/paracrino. I suoi recettori sono co-espressi sulle membrane plasmatiche con quelli del GH, con cui dimerizzano.
L'espansione tumorale si verifica solo in presenza di angiogenesi tumorale. È stato documentato in letteratura che tutte le trasformazioni dell'angiogenesi e i fattori di crescita che vi contribuiscono sinergicamente sono regolati negativamente dalla somatostatina e dai suoi analoghi. Tutti gli altri componenti del MDB, sebbene in misura minore, regolano negativamente l'angiogenesi. Se l'espansione neoplastica subisce una trasformazione forzata in angiogenesi, e se l'angiogenesi è inibita dalla somatostatina, l'indicazione terapeutica della somatostatina in tutti i tumori, indipendentemente dalla presenza o meno dei suoi recettori, è ulteriormente chiarita e documentata.
Retinoidi solubilizzati in vitamina E, melatonina, vitamina D3, vitamina C, butirrato sodico sono molecole utilizzate per le loro proprietà citostatiche, antiossidanti, prodifferenzianti ed epigenetiche e il loro uso è finalizzato al ripristino dell'equilibrio organico. Sono molecole protettive sulle cellule sane, preservano l'integrità e funzionalità sana della membrana cellulare, la stabilità del DNA e la funzione mitocondriale. Acido retinoico e la melatonina interagiscono con le cellule staminali del cancro (CSC) e il loro microambiente tumorale. Queste cellule staminali sono state identificate in una varietà di tumori, rappresentano un nucleo clonogenico responsabile di nuova crescita tumorale, mostrano proprietà di auto-rinnovamento e flessibilità. Melatonina, retinoidi e vitamina D3 lavorano sul microambiente tumorali agendo cosi sulla vitalità delle CSC. La MLT attiva fortemente gli scambi emato-tissutali e la perfusione di organi e tessuti, regola fisiologicamente la tensione parziale dell'ossigeno e il pH, contrastando così le cause dell'ipossia e la conseguente elevata espressione di fattori di trascrizione oncogenici indotti dall'ipossia stessa. Il butirrato di sodio può creare un contesto epigenetico determinando il rilassamento della cromatina, essenziale per i fattori di trascrizione del DNA, inclusi i fattori di trascrizione attivati dai recettori nucleari dei componenti del MDB come retinoidi, vitamina D e melatonina coinvolti nei processi di differenziazione.
Nel TNBC, la multiterapia biologica MDB ha aumentato la sopravvivenza dei pazienti con TNBC rispetto ai pazienti trattati con protocolli standard, senza eventi avversi o tossicità significativi. I dati sono conformi ai risultati pubblicati sul MDB in altri tipi di cancro. Questi risultati giustificano la necessità di studi clinici più standardizzati sul MDB nelle donne con TNBC.

Traduzione articolo

Riassunto
OBIETTIVI: Il carcinoma mammario triplo negativo (TNBC) è un sottotipo distinto di carcinoma mammario con una prognosi sfavorevole a causa della mancanza di agenti terapeutici efficaci.
Poiché una percentuale significativa di campioni chirurgici umani di TNBC esprimeva mRNA per i recettori dell'ormone della crescita (GH), dell'ormone di rilascio dell'ormone della crescita (GHRH) e dell'ormone di rilascio delle gonadotropine (GnRH), e l'attività proliferativa mitogenica di GH, GHRH e GnRH sono stati identificati come bersagli terapeutici efficaci per la somatostatina e i suoi analoghi e per gli analoghi del GnRH, il Metodo Di Bella (MDB), una combinazione di analoghi ormonali e vitamine, è stato utilizzato per colpire e inibire i tumori solidi. Il presente studio mirava a migliorare la prognosi delle donne con TNBC utilizzando il MDB.
METODI: Questo studio osservazionale retrospettivo è stato condotto su donne con TNBC diagnosticato sulla base di istologia, grado nucleare e test immunoistochimici per il recettore degli estrogeni, HER2/neu e recettore del progesterone. Le pazienti sono state trattate con il protocollo oncologico standard, che includeva chemioterapia e radioterapia più MDB, oppure con MDB da solo. Il MDB includeva una combinazione giornaliera di somatostatina, octreotide, melatonina, retinoidi solubilizzati in alfa-tocoferil acetato, agonisti dopaminergici, bromocriptina, cabergolina, inibitori dell'aromatasi per la funzione antiestrogenica e basse dosi metronomiche di ciclofosfamide.
RISULTATI: In questo studio sono state arruolate 35 pazienti e la loro sopravvivenza è stata monitorata per 5 anni, durante i quali hanno ricevuto MDB e il protocollo standard di chemioterapia/radioterapia. Queste pazienti hanno avuto un tasso di sopravvivenza del 64% a 5 anni, del 76% a 3 anni, dell'87% a 2 anni e del 100% dopo 1 anno di terapia. D'altra parte, 13 pazienti che hanno ricevuto solo MDB hanno avuto un tasso di sopravvivenza del 60% a 5 anni, del 67% a 3 anni, del 75% a 2 anni e del 100% dopo 1 anno di terapia. Nessuna delle pazienti ha avuto eventi avversi significativi.
CONCLUSIONI: Rispetto agli studi clinici pubblicati, il MDB ha migliorato la prognosi delle donne con TNBC. Tuttavia, sono necessari studi clinici più standardizzati, che includano il MDB con e senza protocolli terapeutici standard per il TNBC.

Abbreviazioni:
ATRA - Acido all trans retinoico
BC - Carcinoma mammario
MDB - Metodo Di Bella
EGF - Fattore di crescita epidermico
EGFR - Recettore del fattore di crescita epidermico 2
ER - Recettore degli estrogeni
FGF - Fattore di crescita fibroblastico
GnRH – Ormone di rilascio della Gonadotropina,
GHRH - Ormone di rilascio dell'ormone della crescita
GH - Ormone della crescita
GHR - Recettore dell'ormone della crescita
HIF - Fattore inducibile dall'ipossia
IGF1-2 - Fattore di crescita insulino-simile 1-2
IGFR - Recettore del fattore di crescita insulino-simile
RM - Risonanza magnetica per immagini
MLT - Melatonina

PET - Tomografia a emissione di positroni
SST - Somatostatina
SSTR - Recettore della somatostatina
TNBC - Carcinoma mammario triplo negativo
VEGF - Fattore di crescita endotelio vascolare

INTRODUZIONE

Il carcinoma mammario triplo negativo (TNBC) è un sottotipo distinto di carcinoma mammario con una prognosi sfavorevole a causa della mancanza di agenti terapeutici efficaci. Nei campioni chirurgici di TNBC umano sono stati identificati diversi sottotipi istologici eterogenei dal punto di vista morfologico e immunofenotipico. Sulla base dell'istomorfologia e dell'immunofenotipo, i tumori TNBC primari sono stati suddivisi in carcinomi del midollo osseo, metaplastici, apocrini e duttali invasivi senza tipo speciale (IDC-NST).

Una percentuale significativa di campioni chirurgici umani di TNBC esprimeva mRNA per i recettori dell'ormone della crescita (GH), dell'ormone di rilascio dell'ormone della crescita (GHRH) e dell'ormone di rilascio delle gonadotropine (GnRH), che sono stati rilevati anche mediante tecniche immunoistochimiche e RT-PCR in tempo reale nel tessuto mammario (Subramani et al. 2017; Wennbo, Törnell, 2000; Boguszewski, Boguszewski, 2019; Zhu et al. 2020; Khanlari et al. 2018). Inoltre, l'attività proliferativa mitogenica di GH, GHRH e GnRH, i cui recettori sono stati identificati come bersagli terapeutici efficaci per la somatostatina e i suoi analoghi e per gli analoghi del GnRH, è ben nota e documentata (Subramani et al. 2017; Wennbo, Törnell, 2000; Boguszewski, Boguszewski, 2019; Zhu et al. 2020; Khanlari et al. 2018).

GH, GHR e GnRH possono essere prodotti anche in modo autocrino/paracrino dalle cellule del cancro al seno. La verifica della loro espressione recettoriale nel TNBC conferma l'indicazione terapeutica antiproliferativa dei loro ligandi recettoriali: somatostatina e analoghi del GnRh. Gli analoghi del GnRH esercitano un effetto antiproliferativo inibendo le gonadotropine. È stato dimostrato in letteratura che tutte le trasformazioni dell'angiogenesi e i fattori di crescita che contribuiscono sinergicamente ad essa sono regolati negativamente dalla somatostatina e dai suoi analoghi (Dicitore et al. 2022; Aslam et al. 2022; Rai et al. 2015). L'effetto autocrino del GH inibisce i meccanismi di ancoraggio e di inibizione della crescita-adesione nelle cellule del cancro al seno, promuovendo così la crescita tumorale in vitro (Kaulsay et al. 2001; Zhang et al. 2023; Brunet-Dunand et al. 2009; Mukhina et al. 2004; Xu et al. 2005). Inoltre, è stata osservata un'ampia distribuzione con concentrazioni variabili di GHR in molti tipi di cellule, sia normali che neoplastiche, e nelle cellule tumorali la prevalenza del GHR è proporzionale all'indice proliferativo e alla capacità invasiva e metastatica (Yanet al. 2021; DiBella et al. 2018; Subramani et al. 2014).

È documentato che il GH, in sinergia con la prolattina (PRL), attiva una cascata di fenomeni proliferativi multipli, di cui la somatostatina e gli inibitori della prolattina rappresentano l'antidoto fisiologico non tossico. Esistono prove scientifiche che l'espansione dei cloni tumorali sia regolata positivamente dall'asse mitogenico GH-PRL, potenziato dal sinergismo proliferativo del fattore di crescita insulino-1 (IGF)-1, del fattore di crescita epidermico (EGF) e di tutti i fattori di crescita correlati al GH (Li et al. 2023; Mangili et al. 2022). È stato inoltre dimostrato che l'indice proliferativo neoplastico è strettamente dose-dipendente dall'espressione di GH-R e GHRH-R nelle cellule tumorali. L'inibizione dell'asse mitogeno GH-PRL si ottiene attraverso l'interazione della somatostatina, dei suoi analoghi e degli inibitori della prolattina agonisti del recettore della dopamina-2 (D2R) (Li et al. 2023; Mangili et al. 2022).

Lo sviluppo delle cellule tumorali è un processo a più fasi che coinvolge numerose vie di segnalazione e vie genetiche anomale. Pertanto, il trattamento dovrebbe essere affrontato in modo altrettanto multiforme. È inoltre essenziale colpire le cellule staminali tumorali (CSC) per prevenire la recidiva del cancro. Per affrontare questo problema, è stato sviluppato il Metodo Di Bella (MDB)

(Di Bella et al. 1979a; Di Bella et al. 1979b). Il MDB prevede la somministrazione di diverse molecole specifiche, ciascuna selezionata in base al suo meccanismo d'azione contro cellule tumorali, cellule staminali tumorali (CSC), proliferazione e apoptosi, oncogeni, angiogenesi, analisi molecolare e mutazioni genetiche. Inoltre, alcune molecole vengono scelte per i loro effetti protettivi sulle cellule sane, tra cui la preservazione dell'integrità della membrana cellulare, la stabilità del DNA e la funzione mitocondriale (Di Bella 2010).

Gli obiettivi della multiterapia biologica con MDB non sono mirati all'utopica e fuorviante eradicazione stabile citotossica, citolitica o con radiazioni ionizzanti di tutte le cellule tumorali, ma alla loro riprogrammazione fisiologica. Questo nuovo concetto può basarsi solo su una multiterapia razionale che interviene sulla molteplicità e varietà delle funzioni vitali compromesse dal cancro, riportandole gradualmente alla normalità. Considera i destini cellulari non necessariamente irreversibili, ma modulabili con una multiterapia biologica non tossica, che interviene in modo sequenziale e/o simultaneo e centrale sui bersagli strategici della proliferazione e della mutabilità neoplastica, riportando a livello fisiologico le molteplici reazioni vitali deviate dal cancro. Il MDB sfrutta il notevole potenziale antiproliferativo della somatostatina (Melhorn et al. 2024; O'Toole, Sharma, 2023; Kumar, 2023; Carmona et al. 2019; Tartarone et al. 2016; Pollak, Schally, 1998), degli inibitori delle gonadotropine, dell'inibitore della prolattina (Li et al. 2023; Mangili et al. 2022) e delle diverse proprietà citostatiche antiossidanti della melatonina (Bhattacharya et al. 2019; Zhou et al. 2019; Wang et al. 2022; Talib et al. 2021; Zonta et al. 2017; Iravani et al. 2020; Samantan, 2022), retinoidi solubilizzato in vitamina E (Tratnjek et al. 2021; Di Bella L, Di Bella G, 2015; Zuo et al. 2016; Jin et al. 2022; Castro-Guijarro et al. 2022; Halubiec et al. 2021; Ramchatesingh et al. 2022), vitamina D3 (Chandler et al. 2020; Carlberg, Muñoz, 2022; Wakle et al. 2024; Seraphin et al. 2023) e vitamina C (Böttger et al. 2021; Mussa et al. 2022; Zasowska-Nowak et al. 2021; Blaszczak et al. 2019; Ngo et al. 2019; Mikkelsen et al. 2021; van Gorkom et al. 2019). Secondo i nuovi concetti, le vitamine presenti nel MDB, dal loro ruolo biochimico-vitale originario, sono diventate il ruolo terapeutico razionale essenziale, finalizzato al raggiungimento dell'equilibrio organico mantenendo costante il rapporto tra materia vivente ed energia.

Nel presente studio, abbiamo utilizzato il MDB in donne con TNBC. Il MDB è stato utilizzato con il protocollo oncologico standard per il TNBC e, in alcuni casi, il MDB è stato utilizzato da solo. Lo studio mirava a migliorare la prognosi delle donne con TNBC.

MATERIALI E METODI

Criteri di arruolamento

Sono state arruolate solo pazienti con diagnosi istologica di carcinoma mammario e caratteristiche di malattia misurabili secondo i criteri di valutazione della risposta nei tumori solidi (RECIST). Sono state seguite trentacinque pazienti con TNBC con istologia, grado nucleare e test immunoistochimici per il recettore degli estrogeni, HER2/neu, recettore del progesterone e indice proliferativo Ki67. Inoltre, sono stati monitorati con esami strumentali come PET, TC, risonanza magnetica ed ecografia.

Esami di laboratorio

Gli esami del sangue includono emocromo completo, VES, azotemia, glucosio, creatinina, GOT, GPT, GGT, bilirubina, fosfatasi alcalina, alfa-fetoproteina, ammoniaca, acido urico, LDH, proteine totali e frazionate, ferro, calcio, ferritina, elettroliti, FT3, FT4, TSH, GH, IGF1, LH, FSH, estradiolo, progesterone, prolattina, cromogranina, NSE, CEA, Ca15-3, HE4, Ca19-9.

Protocollo di trattamento

I pazienti hanno ricevuto una combinazione giornaliera di somatostatina 4 mg + octreotide 1 mg, melatonina, retinoidi solubilizzati in alfa-tocoferilacetato, agonisti dopaminergici, bromocriptina,

cabergolina, inibitori dell'aromatasi per la funzione antiestrogenica, basse dosi metronomiche di ciclofosfamide. Nel dettaglio, le dosi somministrate includono:

• Acido retinoico (ATRA) 0,25 g, Axeroftolo palmitato 0,25 g, Beta-carotene 1 g, solubilizzati in alfa-tocoferile acetato 500 g, un cucchiaio, circa 8 ml, mattina e sera almeno 15 minuti prima dei pasti, con 15 gocce di diidrotachisterolo per ogni somministrazione di retinoidi, 30 gocce al giorno
• Somatostatina 4 mg con octreotide 1 mg
• Tetracosactide acetato 0,25 mg per via sottocutanea al mattino, a seconda della pressione sanguigna e del livello di glucosio
• Triptorelina e analoghi dell'LH-FSH a lento rilascio 3,75 mg per via intramuscolare ogni 4 settimane
• Melatonina idrosolubilizzata legata con legame a idrogeno con adenosina, stabilizzata con glicina, compresse blisterate da 5 mg, 80 mg al giorno
•Cabergolina da assumere esclusivamente con il pasto principale: 1 mg (pari a ½ compressa) 2 volte a settimana
•Bromocriptina 2,5 mg, mezza compressa per via orale al mattino e alla sera
•Anastrozolo 1 mg compressa al giorno
•Ciclofosfamide 50 mg compressa per via orale, dosaggio graduale: iniziare con 1 compressa al mattino a colazione, dopo una settimana alternare un giorno con 1 compressa al mattino e un giorno solo al mattino, a seconda dell'emocromo completo;
• Acido ascorbico (Vit. C) per via orale, ½ cucchiaino (4 g) in un bicchiere d'acqua a mezzogiorno e alla sera durante i pasti
• Carbonato di calcio 1000 mg/die
• Condroitinsolfato 250 mg + glucosamina 250 mg, una capsula al mattino, a mezzogiorno e alla sera durante i pasti
• Dosaggio di una compressa di ferro sucrosomiale da 30 mg in base alla sideremia e all'emocromo completo
• Compresse di calcio levofolinato da 22 mg, una al giorno
• Acido ursodesossicolico (UDCA) 300 mg per contrastare l'inibizione colerica e colagoga di SST e/o octreotide;
• Butirrato di sodio 500 mg, 3 volte al giorno per inibire le deacetilasi e la decompattazione del DNA.

Valutazione di sicurezza e tossicità
Per la valutazione della tossicità sono stati considerati solo gli eventi avversi potenzialmente correlati al trattamento (gradi di correlazione: possibile, probabile o certo, espressi come frequenza assoluta (n), relativa (%) e intervallo di confidenza (IC) al 95%, come descritto dai criteri del National Cancer Institute (NCICTC) (http://www.eortc.be/services/doc/ctc/). Nota: questo è uno studio sull'uso combinato di farmaci che hanno già superato tutti i test di affidabilità e attività antitumorale. Pertanto, tutti i farmaci sono già stati ampiamente testati e il loro uso è approvato dalle organizzazioni sanitarie internazionali, ma in questo contesto vengono utilizzati solo in una nuova combinazione. Questo studio è stato condotto in conformità con le direttive stabilite da *The Good Clinical Practices* e la Dichiarazione di Helsinki. Pertanto, tutti i pazienti hanno dato il loro consenso informato a partecipare allo studio.

RISULTATI
In questo studio sono state arruolate 35 pazienti e le loro informazioni dettagliate, tra cui età, tipo di TNBC e data di inizio del MDB, sono state incluse nella Tabella 1. L'età media delle donne era di 52,3±12,9 anni. All'inizio del MDB, 11 su 35 erano TNBC allo stadio IV, 6 allo stadio III, 9

allo stadio II e 7 allo stadio I, e una non è stata determinata. Inoltre, è stata determinata la percentuale di Ki-67 nel tessuto mammario di ciascuna paziente, che variava dal 20 al 90% (Tabella 1).

Durante il trattamento con MDB, la sopravvivenza delle donne è stata monitorata a 1, 2, 3 e 5 anni. Il numero di pazienti considerati è gradualmente diminuito nel tempo a causa della mancanza di dati aggiornati, fino a raggiungere 25 pazienti con documentazione presente, 16 dei quali sono ancora in monitoraggio (Tabella 2). Allo stesso tempo, abbiamo estrapolato i dati di 13 pazienti, 12 dei quali sottoposti a intervento chirurgico e 1 sottoposto a terapia Di Bella senza alcun trattamento precedente. Anche in questo caso, durante il follow-up, non abbiamo ricevuto alcun aggiornamento e il numero di pazienti è progressivamente diminuito da 13 a 10, di cui 6 ancora in vita.

I risultati ottenuti nelle 35 pazienti trattate con il MDB e il protocollo terapeutico standard per il TNBC hanno mostrato un tasso di sopravvivenza del 64% a 5 anni, del 76% a 3 anni, dell'87% a 2 anni e del 100% dopo 1 anno di terapia (Tabella 2). D'altra parte, le 13 pazienti non sottoposte a chemioterapia o radioterapia hanno mostrato un tasso di sopravvivenza del 60% a 5 anni, del 67% a 3 anni, del 75% a 2 anni e del 100% dopo 1 anno di terapia.

DISCUSSIONE

Considerando che il TNBC ha solitamente una prognosi infausta e che la sopravvivenza è spesso molto bassa, le pazienti trattate con MDB hanno mostrato tassi di sopravvivenza più elevati rispetto a quelle che hanno seguito solo i protocolli oncologici standard, come dimostrato nello studio IMpassion130 (Schmid et al. 2018). In quest'ultimo studio di fase 3, le donne con TNBC trattate con atezolizumab più nab-paclitaxel o placebo più nab-paclitaxel hanno avuto una sopravvivenza globale mediana rispettivamente di 21,3 e 17,6 mesi. Nel presente studio, le pazienti trattate con MDB e chemioterapia, o con MDB da solo, hanno avuto una sopravvivenza mediana superiore a 60 mesi.

Secondo l'American Cancer Society, i casi di recidiva dopo intervento chirurgico e trattamenti oncologici non sono considerati nelle statistiche ufficiali sulla sopravvivenza, pertanto, poiché i casi di progressione in quanto tali sono stati eliminati, i dati riportati dalle statistiche ufficiali sono sovrastimati (https://www.cancer.org/cancer/types/breast-cancer/about/types-of-breast-cancer/triple-negative.html). Comunque, secondo i dati dell'American Cancer Society, nei casi di progressione o metastasi del TNBC, la sopravvivenza non supera i 12 mesi. Le statistiche ufficiali sulla sopravvivenza a 5 anni sono parziali e pertanto si riferiscono solo alla minoranza di casi che non hanno presentato recidiva dopo intervento chirurgico e trattamento oncologico. Pertanto, il presente studio ha dimostrato il significativo miglioramento della multiterapia con MDB nei pazienti con TNBC. Le caratteristiche principali della terapia MDB sono l'effetto di targeting multiterapeutico biologico che include le cellule staminali del cancro (CSC), indice di proliferazione, angiogenesi e la riprogrammazione fisiologica delle cellule tumorali, riportando a livello fisiologico molte reazioni vitali deviate dal cancro. Numerosi studi sulle funzioni biologiche del GH documentano l'induzione oncogenica della sua sovraespressione e la relazione dose-dipendente tra l'entità dell'espressione di GH/IGF1/GHR e le caratteristiche proliferative e aggressive dei cloni neoplastici (Vacas et al. 2016; Murphy et al. 2020; Basu, Kopchick, 2023) (Fig. 1). Le concentrazioni di GH, GHR, GHRH e GHRHR sono marcatamente più elevate nei tessuti tumorali della mammella rispetto all'espressione recettoriale fisiologica e peritumorale, con un indice proliferativo dose-dipendente (Vacas et al. 2016; Murphy et al. 2020; Basu, Kopchick, 2023). È stato dimostrato che un'ampia distribuzione con concentrazioni di GHR variabili è stata osservata in molti tipi di cellule sia normali che neoplastiche, con una chiara e significativa prevalenza nelle cellule tumorali proporzionale all'indice proliferativo e alla capacità invasiva e metastatica (Yan et al. 2021; Di Bella et al. 2018; Subramani et al. 2014). È stata documentata anche la sintesi citoplasmatica di GHR a livello del reticolo endoplasmatico e dell'apparato di Golgi, che ha dimostrato che il GH circola nel

siero complessato con la proteina legante l'ormone della crescita (GHBP) (Schilbach, Bidlingmaier, 2015; Matsoukas, Spyroulias, 2017; Fisker, 2006). La GHBP sierica umana contiene la porzione extracellulare di GHR e può essere prodotta mediante uno specifico taglio proteolitico del dominio extracellulare del GHR. La porzione proteica extracellulare che lega l'ormone è quindi comune sia al GHR che al GHBP. Anche il recettore nucleare presenta la stessa porzione proteica che lega il GH presente sia nel GHR che nel GHBP. La presenza di GHR nel nucleo conferma l'ipotesi che il GH internalizzato all'interno della cellula possa modulare la trascrizione di geni specifici.

Inoltre, le proteine che regolano la secrezione di GH da parte dell'ipofisi sono state implicate nella neoplasia mammaria (Subramani et al. 2017; Wennbo, Törnell, 2000; Boguszewski, Boguszewski, 2019; Zhu et al. 2020), ed è stato dimostrato che l'espressione di Pit-1 aumenta l'espressione dell'mRNA di GH e la proliferazione nelle cellule di cancro al seno umano (Martinez-Ordoñez et al. 2018; Ben-Batalla et al. 2010; Seoane et al. 2019). Il GH promuove l'immortalità delle linee cellulari epiteliali mammarie aumentando i livelli di mRNA e proteine della subunità catalitica della telomerasi umana, hTERT (Emerald et al. 2007; Yang et al. 2023; Nguyen et al. 2022; Romaniuk-Drapała et al. 2021). Inoltre, il GH autocrino inibisce i meccanismi di ancoraggio e adesione nelle cellule tumorali mammarie, promuovendo la crescita tumorale in vitro (Kaulsay et al. 2001; Zhang et al. 2023; Brunet-Dunand et al. 2009; Mukhina et al. 2004; Xu et al. 2005). Inoltre, il GH aumenta i carcinomi mammari metastatici interrompendo il contatto cellula-cellula e aumentando la migrazione e l'invasione cellulare (Baskari et al. 2017; Brittain et al. 2017; Zhang et al. 2015), e l'espressione di GH può aumentare l'attività della telomerasi ed estendere la capacità di replicazione di una linea cellulare epiteliale mammaria primaria (Banks et al. 2010; Emerald et al. 2007; Bayne, Liu, 2005; Jaiswal, Yadava, 2020). Pertanto, l'espressione di GH autocrino soddisfa i criteri per essere considerato un oncogene per le cellule mammarie umane (Perry et al. 2006; Wang et al. 2023).

La prolattina (PRL) ha una duplice funzione: come ormone circolante e come citochina. Questa comprensione si basa sulla produzione di PRL e sui suoi distinti siti di regolazione, sul suo legame ai recettori di membrana della superfamiglia dei recettori delle citochine e sull'attivazione di vie di segnalazione che promuovono la crescita e la sopravvivenza cellulare (Fig. 2).

Ci sono sempre più prove che la PRL svolga un ruolo in diversi tipi di cancro nei tessuti riproduttivi e non riproduttivi attraverso la produzione o l'accumulo locale. L'espressione sia della PRL che del suo recettore in linee cellulari tumorali umane di diversa origine fornisce un'ulteriore conferma della sua azione come fattore di crescita autocrino/paracrino (Li et al. 2023; Mangili et al. 2022). Le prove scientifiche del ruolo attivo decisivo della PRL nella tumorigenesi dovrebbero includere i suoi inibitori in tutti i protocolli oncologici. I suoi recettori sono co-espressi sulle membrane plasmatiche con quelli del GH, con cui dimerizzano (Fig. 3).

L'espansione tumorale si verifica solo in presenza di angiogenesi tumorale. È stato documentato in letteratura che tutte le trasformazioni dell'angiogenesi e i fattori di crescita che vi contribuiscono sinergicamente sono regolati negativamente dalla somatostatina e dai suoi analoghi (Dicitore et al. 2022; Aslam et al. 2022; Rai et al. 2015). Tutti gli altri componenti del MDB, sebbene in misura minore rispetto alla somatostatina, regolano negativamente l'angiogenesi (Fig. 3). Se l'espansione neoplastica subisce una trasformazione forzata in angiogenesi, e se l'angiogenesi è inibita dalla somatostatina, la sua indicazione in tutti i tumori, indipendentemente dalla presenza o meno di SSTR, è ulteriormente chiarita e documentata.

L'acido retinoico e la MLT interagiscono con le CSC, identificate in una varietà di tumori, che agiscono come nucleo clonogenico per dare origine a nuova crescita tumorale. Le CSC mostrano proprietà clonogeniche di auto-rinnovamento e flessibilità e contribuiscono a definire specifici microambienti tumorali (TME). Si ritiene che l'interazione tra CSC e TME agisca come un sistema di supporto dinamico che promuove la generazione e il mantenimento delle CSC. L'interazione tra CSC e TME crea le basi per un nuovo approccio multiterapeutico che include MLT, ATRA e D3.

Tra i meccanismi sinergici di ATRA e D3 vi è l'eterodimerizzazione dei recettori nucleari RXR di ATRA e VDR di D3. Sono stati studiati anche i meccanismi biomolecolari di ATRA e MLT sulle CSC e i meccanismi omeostatici sull'ipossia di MLT. MLT attiva fortemente gli scambi emato-tissutali e la perfusione di organi e tessuti regola fisiologicamente la tensione parziale dell'ossigeno e il pH, contrastando così le cause dell'ipossia e la conseguente elevata espressione di HIF (HIF1α, HIF-2α), potenti fattori di trascrizione oncogenici. Il butirrato di sodio può creare un contesto epigenetico per il rilassamento della cromatina, essenziale per l'interazione con i fattori di trascrizione della famiglia degli "Zinc Fingers" e degli "Homeodomains", inclusi i fattori di trascrizione attivati dai recettori nucleari dei componenti del MDB come retinoidi, vitamina D e melatonina coinvolti nei processi di differenziazione. L'acido retinoico agisce creando orientamenti differenziativi specifici e complessi. Anche il ruolo della melatonina è importante; infatti, oltre a regolare la perfusione fisiologica di organi e tessuti, regola gli scambi emato-tessuti e molteplici eventi che possono avere un impatto sulla dinamica molecolare delle cellule staminali tumorali.

CONCLUSIONI

Nel TNBC, la multiterapia biologica MDB ha aumentato la sopravvivenza dei pazienti con TNBC rispetto ai pazienti trattati con protocolli standard, senza eventi avversi o tossicità significativi. I dati sono conformi ai risultati pubblicati sul MDB in altri tipi di cancro, al fine di verificare la razionalità di questa multiterapia biologica e la sinergia antitumorale di somatostatina, inibitori della prolattina, analoghi del GnRH, MLT, retinoidi, solubilizzati in tocoferoli, vitamine D3 e C, proteoglicani, calcio e butirrato di sodio. Questi risultati giustificano la necessità di studi clinici più standardizzati sul MDB nelle donne con TNBC.