



## **Protocollo Sperimentale GOIM 21003**

**Doxorubicina liposomiale non pegilata (Myocet) + ciclofosfamide vs doxorubicina liposomiale non pegilata (Myocet) + ciclofosfamide metronomica nel cancro mammario metastatico – Studio multicentrico randomizzato di fase II-**

<b>Responsabile Studio:</b>	Prof. Giuseppe Colucci colucci@libero.it
<b>Principal Investigator:</b>	Dott. Saverio Cinieri U.O.C Oncologia Medica & Breast Unit P.O. "Antonio Perrino" - Brindisi e-mail: saverio.cinieri@ieo.it
<b>Coordinatore Studio:</b>	Dott.ssa Laura Orlando U.O.C Oncologia Medica & Breast Unit P.O. "Antonio Perrino" – Brindisi e-mail: laura.orlando68@gmail.com
<b>Comitato Etico del Centro Coordinatore</b>	Comitato Etico ASL BR C/o Direzione Generale Via Napoli 8, 72100 Brindisi
<b>Randomizzazione</b>	Dott.ssa Margherita Cinefra U.O.C Oncologia Medica & Breast Unit P.O. "Antonio Perrino" - Brindisi e-mail: cinefra.margherita@libero.it Tel: 0831.53.74.31 Fax: 0831 53.79.18
<b>Data Management, rapporti con i Comitati Etici, segnalazione eventi avversi</b>	Dott. Daniele Rizzi Centro Studi GOIM e-mail: d.rizzoim@libero.it

## INDICE

1.0	Sommario	pag. 3-7
2.0	Introduzione e razionale dello studio	pag. 8-17
3.0	Disegno dello studio	pag. 18
4.0	Terapie di supporto	pag. 19
5.0	Criteri di Inclusione/Esclusione	pag. 19-21
6.0	Parametri di studio basali ed in corso di trattamento	pag. 21
7.0	Endpoint dello studio	pag. 22
8.0	Tossicità e modificazione delle dosi dei farmaci	pag. 22-24
9.0	Eventi avversi	pag. 25-29
10.0	Follow-up	pag. 29-30
11.0	Consenso informato	pag. 30
12.0	Disegno Statistico	pag. 30-31
13.0	Bibliografia	pag. 32-37

## 1.0 SOMMARIO

**TITOLO DEL PROTOCOLLO:** Doxorubicina liposomiale non pegilata (Myocet) + ciclofosfamide vs doxorubicina liposomiale non pegilata (Myocet) + ciclofosfamide metronomico nel cancro mammario metastatico – Studio multicentrico randomizzato di fase II

**INDICAZIONE:** Trattamento del cancro mammario metastatico

**OBIETTIVI:** Obiettivo primario: valutare l'attività in termini di percentuali di risposte (RR) e di qualità di vita.

Obiettivi secondari: valutare la sopravvivenza libera da progressione (PFS) e la sopravvivenza globale (OS).

**DISEGNO DELLO STUDIO:** E' uno studio multicentrico, randomizzato, prospettico, di fase II.

**CRITERI DI INCLUSIONE:**

- Carcinoma mammario istologicamente accertato Her-2 negativo
- Età 18-75 anni
- Stato di validità (WHO)  $\leq 2$
- Malattia in stadio IIIB/IV con presenza di almeno una lesione misurabile unidimensionalmente
- Eventuale precedente chemioterapia adiuvante e/o neoadiuvante terminata da almeno 1 anno
- Eventuale precedente ormonoterapia adiuvante o in malattia avanzata con progressione documentata
- Eventuale precedente RT includente non oltre il 30% dello scheletro contenente midollo osseo e terminata da almeno 4 settimane
- Adeguata funzionalità midollare (GB  $\geq 4.000/\text{mm}^3$ , neutrofili  $\geq 2.000/\text{mm}^3$ ; piastrine  $\geq 100.000/\text{mm}^3$ ), epatica (bilirubina  $\leq 1.5\text{mg}\%$ ), renale (creatininemia

$\leq 1.2\text{mg}\%$ )

- Test di gravidanza negativo (urine o siero) effettuato nei 7 giorni precedenti l'entrata in studio nelle donne in età fertile; tali pazienti dovranno adottare efficaci misure contraccettive non ormonali per tutta la durata del trattamento
- Le pazienti pre-manopausali con malattia endocrino responsiva possono essere trattate con LH-rh analogue, la misurazione con test sierici dell'eventuale attività ovarica va effettuata una sola volta al momento dell'arruolamento dello studio.
- Accessibilità geografica per follow-up
- Consenso Informato scritto

#### CRITERI DI ESCLUSIONE:

- Precedente chemioterapia per malattia metastatica o concomitante terapia con agenti ormonali o bioterapie
- Precedente chemioterapia adiuvante e/o neoadiuvante con raggiungimento del dosaggio cumulativo massimo consentito di Adriamicina pari a 450 mg/mq e Epirubicina pari a 900 mg/mq.
- Metastasi cerebrali sintomatiche
- Malattie psichiche precludenti l'ottenimento del consenso informato
- Altre neoplasie ( ad eccezione del carcinoma cutaneo baso o spinocellulare e il carcinoma in situ della cervice, purché adeguatamente trattati)
- LVEF < 50% determinato con ecocardiogramma o MUGA scan
- Pazienti in gravidanza
- Ipertensione arteriosa incontrollata (sistolica  $\geq 150$  mmHg e/o diastolica  $\geq 100$  mmHg)
- Malattia cardiovascolare clinicamente attiva (ad esempio un infarto acuto del miocardio nei 6 mesi precedente l'arruolamento in studio, CHF NYHA Classe II, aritmia cardiaca severa che possa richiedere un trattamento medico durante lo studio e possa interferire con la regolarità del trattamento

stesso, o che non sia controllata dal trattamento medico)

- Leucociti < 4000/mmc, neutrofili < 2000/mmc, piastrine < 100000/mmc
- Alterazioni della funzione renale (Creatininemia  $\geq$  1.25 volte i valori normali) o epatica (GOT o GPT  $\geq$  1.25 volte i valori normali, a meno che la patologia non sia dovuto a metastasi epatiche)
- Trattamento concomitante con altri farmaci sperimentali

#### TRATTAMENTI:

La randomizzazione 1:1 verrà effettuata per età, precedenti trattamenti con antracicline, endocrino-responsività ed i pazienti saranno allocati ad uno dei due seguenti trattamenti:

- Braccio A: Myocet 60 mg/m<sup>2</sup> e.v. in combinazione con 600 mg/m<sup>2</sup> e.v. di ciclofosfamide ogni 21 giorni
- Braccio B: Myocet 20 mg/m<sup>2</sup> g1, g8, g15 ogni 28 giorni e.v. in combinazione con ciclofosfamide 50 mg totali/die continuativo

#### DURATA TRATTAMENTO:

Ciascuna paziente in caso di malattia stabile o in presenza di una risposta importante (parziale o completa) riceverà il trattamento fino alla progressione o alla massima dose tollerata di antracicline o a tossicità.

#### VALUTAZIONE EFFICACIA:

La valutazione della risposta sarà effettuata, ogni 3 cicli, secondo i criteri RECIST (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors) e verrà effettuata mediante CT scan. La sopravvivenza (OS) sarà calcolata con il numero di giorni dalla data di arruolamento nello studio sino alla data di morte o alla data dell'ultimo follow-up, la sopravvivenza libera da progressione (PFS) con il numero di giorni dall'arruolamento nello studio sino alla data della progressione o alla data di morte. La durata della risposta sarà definita come il numero di giorni dalla data dell'ottenimento della risposta alla prima rivalutazione (CR o PR)

sino alla data di progressione o dell'ultimo follow-up

**VALUTAZIONE TOSSICITA'** La tossicità verrà valutata sia in termini di tossicità ematologica che non ematologica secondo i criteri CTC-AE. La tossicità cardiologica verrà valutata ogni 3 mesi mediante ecocardiogramma.

**VALUTAZIONE QUALITA' DI VITA:** La qualità di vita verrà valutata mediante questionario FACT-B che sarà somministrato alla paziente ad ogni ciclo di terapia

**PARAMETRI DI STUDIO:** Saranno valutati i seguenti markers di angiogenesi circolanti: le cellule endoteliali circolanti (CECs), i precursori circolanti endoteliali (CEPs) e le cellule endoteliali circolanti apoptotiche (CECs) con il seguente timing:

- al basale
- all'ottava settimana di trattamento
- al momento della documentata progressione di malattia

Saranno collezionati 26 mm di sangue e divisi in 5 provette : 2 provette (5 ml ciascuna) di sangue semplice, una contenente citrato (5 ml) e tre contenenti EDTA (3.5 ml per provetta). Le provette verranno trattate come segue:

- le due provette semplici possono essere tenute a temperatura ambiente e centrifugate a 3000 rpm per 10 min e poi separate
- le provette EDTA e quelle con citrato devono essere immediatamente centrifugate a 3000 rpm per 10 minuti e poi separate
- il siero e il plasma devono essere separati in 500 ml (almeno 6 per il siero e 4 per il plasma) e posti a temperatura di -80 C
- il dosaggio delle CECs e delle CEPs sarà effettuato tramite citofluorimetria

## CONSIDERAZIONI STATISTICHE :

L'obiettivo dello studio è quello di verificare se la somministrazione settimanale di Myocet ed endoxan metronomico merita una validazione in una casistica più ampia. Lo studio è di fase II randomizzato con una interim analysis pianificata secondo il disegno di Fleming modificato (29-48). L'arruolamento durante l'analisi ad interim non sarà sospeso ma i pazienti arruolati durante tale analisi non saranno inclusi nella valutazione degli endpoint. Lo studio vuole verificare l'ipotesi nulla che l'effetto reale del trattamento per ciascuna schedula sia al massimo 0.15 contro l'ipotesi alternativa che sia 0.30. Sulla base del disegno di Fleming per verificare tale ipotesi sarà necessario arruolare 55 pazienti per braccio per avere un potere del 90% con un errore  $\alpha = 0.10$ . Una schedula verrà considerata promettente se ci saranno almeno 12 risposte nei 55 pazienti previsti. E' prevista una analisi ad interim dopo che 20 pazienti saranno arruolati per braccio. Una schedula con meno di 3 risposte verrà considerata inefficace. La distribuzione binomiale degli intervalli di confidenza (CI) per stimare l'effetto reale del trattamento sarà costruita secondo il metodo di Duffy e Santner (30-49). La distribuzione della PFS e della OS sarà stimata secondo il metodo di Kaplan Meier (47). Il test di Fisher e del  $\chi^2$  saranno usati per confrontare le caratteristiche di base e le tossicità tra i due bracci. Una  $p < 0.05$  sarà considerata statisticamente significativa. Tutti i pazienti saranno inclusi nell'analisi eccetto quelli che non hanno mai ricevuto il trattamento.

## **2.0 INTRODUZIONE E RAZIONALE DELLO STUDIO**

Il carcinoma metastatico della mammella (MBC) rappresenta una neoplasia chemio-sensibile, con una incidenza di risposte obiettive tra il 45% e il 70%, ma rimane una malattia non guaribile in cui il ruolo svolto dalla chemioterapia sistemica è palliativo. Nonostante i numerosi studi che hanno investigato i diversi regimi chemioterapici per la malattia metastatica il tasso di sopravvivenza a 5 anni è del 20% (1) e la mediana di sopravvivenza è di 2-3 anni (2). Di qui l'esigenza di nuovi farmaci o nuove associazioni chemioterapiche in tale setting in grado di massimizzare l'efficacia clinica e al tempo stesso di limitare la tossicità correlata al trattamento. Recentemente una metanalisi della Cochrane review ha dimostrato che i regimi di combinazione migliorano significativamente la percentuale di risposta e il tempo alla progressione rispetto alla monochemioterapia con un modesto miglioramento della sopravvivenza (3). Le antracicline sono i chemioterapici più attivi nel trattamento del tumore della mammella; il loro utilizzo in regimi di combinazione ha migliorato il disease free survival (DFS) e la sopravvivenza (OS) in pazienti affetti da tumore mammario. La doxorubicina, che è in grado di indurre una frequenza globale di risposte del 40% quando è impiegata in monoterapia, viene comunemente considerata uno dei chemioterapici maggiormente attivi nel trattamento del MBC. Pertanto, la doxorubicina è stata largamente utilizzata nei regimi chemioterapici di combinazione convenzionali, che sono un importante strumento nel trattamento del carcinoma mammario recidivato e/o metastatico. (4,5)

### **2.1 ANTRACICLINE LIPOSOMIALI: MYOCET**

Uno dei principali limiti all'utilizzo delle antracicline è la loro potenziale cardiotossicità che a seconda del tempo di insorgenza si divide in acuta, subacuta e tardiva. Il meccanismo di cardiotossicità da antracicline consiste nell'induzione di un danno mitocondriale del DNA, nella produzione di radicali liberi e nell'interferenza con il metabolismo energetico del miocardio (6). Nel caso specifico della doxorubicina le dosi



cumulative correlate all'insorgenza di un danno miocardico sono comprese tra 450-500 mg/m<sup>2</sup>; è noto infatti che dosi somministrate a un dosaggio cumulativo intorno a 500 mg/m<sup>2</sup> inducano un incremento di tossicità cardiaca (6-9). Esistono differenti strategie in pratica clinica per limitare il potenziale danno indotto dalle antracicline mantenendone l'efficacia clinica. Una di queste è ad esempio la sostituzione della doxorubicina con l'epirubicina, un'altra antraciclina che fa parte della medesima classe che ha dimostrato di avere un dosaggio cumulativo correlato all'insorgenza di danno cardiaco intorno a 900 mg/m<sup>2</sup>, (6-10) o in alternativa l'utilizzo di cardioprotettori come il dexrazoxane che è chimicamente un analogo dell'etilene diamino tetra acetico (EDTA) il quale sembrerebbe avere un effetto cardioprotettivo attraverso la chelazione degli ioni ferro che arresterebbe la produzione dei radicali liberi responsabili del danno cardiaco (11). Il ruolo di quest'ultimo agente è al momento stato messo in discussione dalle ultime linee guida ASCO sulle strategie di chemio protezione (12) per cui non è di utilizzo nella pratica clinica corrente. Una delle tecniche più promettenti sviluppate negli ultimi anni nel campo delle antracicline è stata la formulazione di molecole di doxorubicina incapsulate all'interno di liposomi (10,13). L'incapsulazione di un agente citostatico in un vettore macromolecolare, come un liposoma, riduce drasticamente il suo volume di distribuzione diminuendo la sua diffusione nell'organismo e quindi la tossicità per i tessuti sani e aumentando nel contempo la concentrazione di farmaco nel tessuto neoplastico. In condizioni ideali il farmaco può essere trasportato nel sistema circolatorio all'interno dello spazio acquoso del liposoma e arrivare nella sede del tumore in forma attiva. L'incapsulazione in un liposoma comporta che il farmaco sia protetto dall'inattivazione mentre si trova nel torrente ematico, inoltre la sua diffusione attraverso l'endotelio sano è limitata, mentre può diffondere attraverso l'endotelio tumorale che presenta delle fenestrature. (10, 13, 14). Myocet è doxorubicina complessata con ioni citrato, incapsulata in un liposoma, una dispersione acquosa sterile e apirogena di fosfatidilcolina di uovo e colesterolo, che intrappola la doxorubicina

spingendola all'interno della vescicola (modello TLC D-99) attraverso la generazione di un potenziale. Questo meccanismo di "remote loading" dipende dalla generazione di un gradiente di pH tra l'interno del liposoma e il tampone all'esterno. Al termine del processo di incapsulazione, il rapporto doxorubicina : lipidi in Myocet è approssimativamente 1 : 4 e il pH è compreso tra 5.5 – 6.5. (15).

## **2.2 MYOCET: STUDI DI ASSOCIAZIONE**

L'efficacia del Myocet è stata dimostrata in tre studi randomizzati di fase III nella malattia mammaria metastatica. Nello studio di Harris sono state arruolate 224 pazienti con malattia mammaria metastatica (MBC) e randomizzate in I linea di trattamento a Myocet (N= 108) versus doxorubicina (N= 116) con obiettivo primario il tasso di risposte (RR) (16). (Tab. 1) Le pazienti incluse nello studio non dovevano aver ricevuto una dose cumulativa di antracicline maggiore di 300 mg/m<sup>2</sup> e non dovevano essere state trattate in adiuvante o in metastatico con altro regime chemioterapico da meno di 6 mesi. Una frazione di eiezione all'ecocardiogramma (LVEF)  $\geq 50\%$  era necessaria per entrare nello studio così come l'assenza di severe comorbidità cardiologiche (storia di scompenso cardiaco, aritmia severa o infarto del miocardio). Il 29% delle pazienti nel gruppo trattato con doxorubina ha interrotto il trattamento per comparsa di un evento cardiaco ( $p = 0.0001$ , definito come un decremento nella LEVF  $\geq 20$  punti dal baseline con un valore finale all'ecocardiogramma  $\geq 50\%$  oppure come un decremento  $\geq 10$  points dal baseline con un valore finale dell'ecocardiogramma  $< 50\%$ , una biopsia cardiaca di grado  $\geq 2.5$  o evidenza clinica di scompenso cardiaco) rispetto al 13% delle pazienti nel gruppo trattato con doxorubicina liposomiale. Non ci sono state differenze in termini di percentuali di risposte tra i due trattamenti (16) (Tab 1). Lo studio di Batist et al. ha randomizzato 142 pazienti con malattia mammaria metastatica al trattamento con Myocet e ciclofosfamide versus 155 pazienti al trattamento con doxorubicina convenzionale e ciclofosfamide. Ad un follow-up mediano di 20 mesi, rispettivamente il 6% delle pazienti trattati con Myocet e il 21% delle pazienti trattate con doxorubicina

hanno manifestato un evento di cardiotossicità ( $p= 0.0001$ ). La percentuale di risposte (RC+PR) è stata pari al 43% in entrambi i gruppi. Non si sono evidenziate differenze negli altri parametri esaminati tra i due trattamenti in termini di durata della risposta (9.6 vs 9.1 mesi  $p=0.38$ ), sopravvivenza mediana (19 vs 16 mesi  $p=0.79$ ), tempo alla progressione (TTP) (5.1 vs 5.5 mesi  $p=0.82$ ) (17) (Tab. 1). Una analisi combinata retrospettiva degli studi di Batist e Harris (18) riguardante le pazienti che avevano avuto una precedente esposizione alla doxorubicina ( $n= 68$ ) ha dimostrato una migliore risposta (CR+PR) pari al 31% per il Myocet vs 11% per la doxorubicina convenzionale ( $p= 0.04$ ) ; non ci sono state differenze in termini di TTP e OS. Chan et al. hanno condotto uno studio di confronto tra Myocet ( $n= 80$ ) ed epirubicina più ciclofosfamide come trattamento di I linea nelle pazienti affette da tumore della mammella metastatico (19). Ad un follow-up mediano di 21 mesi non si sono evidenziate differenze in termini di percentuali di risposte tra il Myocet e l'epirubicina (rispettivamente del 46% vs 39%) ( $p=0.42$ ) né della sopravvivenza globale (OS) (18.3 vs 16.0 mesi  $p=0.504$ ) mentre il TTP è risultato a favore del Myocet (7.7 vs 5.6 mesi  $p= 0.022$ ) (Tab.1).

**TAB.1** Risultati di efficacia e tollerabilità cardiologica negli studi in associazione e in monoterapia:

	Myocet/CPA	Dox 60/CPA	Myocet/CPA	Epi/CPA	Myocet	Dox
	(60/600 mg/m <sup>2</sup> )	(60/600 mg/m <sup>2</sup> )	(75/600 mg/m <sup>2</sup> )	(75/600 mg/m <sup>2</sup> )	(75 mg/m <sup>2</sup> )	(75 mg/m <sup>2</sup> )
	(n=142)	(n=155)	(n=80)	(n=80)	(n=108)	(n=116)
Percentuale di risposta al tumore	43%	43%	46%	39%	26%	26%
Rischio relativo	1,01		1,19		1,00	
(95% I. C.)	(0,78-1,31)		(0,83-1,72)		(0,64-1,56)	
PFS mediana (mesi) a	5,1	5,5	7,7	5,6	2,9	3,2
Rapporto di rischio	1,03		1,52		0,87	
(95% I.C.)	(0,80-1,34)		(1,06-2,20)		(0,66-1,16)	

Uno studio di fase I-II è stato invece disegnato per valutare l'uso settimanale dell'antraciclina liposomiale non pegilata e taxani in prima linea nel carcinoma mammario. Sono state arruolate 56 pazienti non trattate precedentemente per il MBC e sono state randomizzate a ricevere paclitaxel (50mg/mq) o docetaxel (30mg/mq) combinato con l'antraciclina liposomiale non pegilata (25mg/mq) nei giorni 1,8 e 15 ogni 4 settimane. Gli end-point primari erano stati l'efficacia clinica e la valutazione degli effetti tossici correlati al trattamento. Gli end-point secondari erano il tempo alla progressione della malattia (TTP) e la sopravvivenza globale (OS). I risultati dello studio hanno dimostrato un beneficio clinico complessivo dell' 87%, mentre per quanto riguarda la safety la somministrazione settimanale si è dimostrata ben tollerata (neutropenia grado G3-G4 del 45%, anemia del 44%, alopecia dell'83%). Il 24% dei pazienti ha sviluppato una riduzione dell'indice di eiezione ventricolare sinistro, ma nessuna riduzione superiore al 10% con recupero dopo il completamento del trattamento. Il TTP medio è stato di circa 11 mesi e la OS media è stata di 23 mesi (43).

Un altro farmaco particolarmente attivo nel trattamento del carcinoma mammario metastatico è la 5'-noranidrovinblastina o vinorelbina (VNR) che è stata impiegata con successo, grazie alla sua significativa attività clinica e al buon profilo di tossicità, nel trattamento del MBC, anche in pazienti precedentemente trattate con antracicline. (20-22). La vinorelbina è alcaloide della Vinca semisintetico, indicato per il trattamento del carcinoma mammario avanzato e del tumore polmonare non a piccole cellule avanzato; come tutti gli alcaloidi della Vinca, l'attività antitumorale è legata alla capacità di bloccare il ciclo cellulare in seguito alla depolimerizzazione del fuso mitotico.

La VNR è stata anche impiegata in numerosi studi di associazione con la doxorubicina convenzionale e con la doxorubicina liposomiale quale terapia di prima linea del MBC, evidenziando una risposta globale variabile tra il 49% e il 77% (23,24).

Recentemente, è stata introdotta nella pratica clinica la formulazione orale della

vinorelbina che ha dimostrato di essere ben tollerata e di avere la stessa efficacia della formulazione endovena (25). L'associazione Myocet + vinorelbina al dosaggio rispettivamente di 50 mg/m<sup>2</sup> e 25 mg/m<sup>2</sup> e.v. giorno 1 e 60 mg/m<sup>2</sup> per os giorno 8, è stata testata in uno studio monocentrico di fase II ottenendo una percentuale di risposte obiettive del 57% (25). Pertanto, al fine di identificare un nuovo regime dotato di bassa tossicità e buona efficacia clinica, è stato condotto uno studio di fase II randomizzato multicentrico di confronto tra Myocet/endoxan (n=126) a dosaggi standard (60 mg/m<sup>2</sup> /600 mg/m<sup>2</sup> g1 q21) vs Myocet /Vinorelbina (VNR) (n= 127) (50 mg/m<sup>2</sup> /VNR 25 mg/m<sup>2</sup> g1 e.v e 80 mg/m<sup>2</sup> g8 q21) con la VNR somministrata nella modalità combinata e.v. g1 e orale g8. L'endpoint primario dello studio erano le percentuali di risposte e obiettivi secondari la sopravvivenza, la sopravvivenza libera da progressione (PFS), la tossicità. Ad un follow-up mediano di 66 settimane la combinazione di Myocet/ciclofosfamide ha mostrato un RR di 45.7% (95%CI, 36.5-54.7%) vs 45.5% (95% CI, 36.3-54.7%) del Myocet/VNR, una PFS di 41 settimane (95% CI, 32-51) a favore di Myocet/ciclofosfamide versus 34 settimane (95% CI, 26-39) del Myocet/VNR. Nessuno dei due regimi ha mostrato un incremento di tossicità cardiologica. (26)

## 2.3 TERAPIA METRONOMICA

- *Angiogenesi*

I tumori primitivi e le metastasi hanno necessità di formare nuovi vasi sanguigni per crescere di circa 2 mm<sup>3</sup> in diametro (27). L'angiogenesi, la formazione di nuovi vasi a partire da quelli preesistenti e la vasculogenesi, l'assemblamento di vasi a partire da precursori endoteliali originati dal midollo osseo, sono processi chiave nello sviluppo tumorale e importanti target per il controllo tumorale (28). L'angiogenesi tumorale è regolata da numerosi fattori sia di stimolo che inibitori. La famiglia del Vascular endothelial growth factor (VEGF) è la principale mediatrice nel promuovere la sopravvivenza, divisione e migrazione delle cellule endoteliali. Il VEGF stimola inoltre

la permeabilità vascolare e la mobilitazione di progenitori endoteliali cellulari dal midollo osseo nella circolazione periferica (29). La produzione tumorale di VEGF può essere il risultato di eventi genetici che includono l'inattivazione dei geni oncosoppressori come la p53, pTEN o VHL, o l'attivazione di oncogeni tra i quali src, ras, bcr-abl, EGFR ed c-erbB2; la sua produzione può inoltre derivare da eventi epigenetici che includono l'ipossia, il pH alterato o ancora l'esposizione ad alcuni fattori di crescita, infiammatori, citochine e ormoni (29). Studi preclinici hanno dimostrato che durante lo sviluppo del tumore mammario l'angiogenesi accompagna o perfino precede la trasformazione da iperplasia a neoplasia, l'equilibrio tra metalloproteinasi (MMP) e i loro rispettivi inibitori si altera in favore dell'attività degradativa delle MMP extracellulari con contestuale incremento di espressione dei fattori inducenti l'ipossia (HIF-1 e HIF-2) (30). Studi clinico-patologici hanno evidenziato l'impatto prognostico negativo della densità tumorale dei microvasi (MVD) e del VEGF(31) così come l'associazione tra essi ed una peggiore risposta alla chemioterapia e all'endocrinoterapia. (32). È dimostrato che i tumori invasivi della mammella producano un elevato numero di stimolatori dell'angiogenesi, tra i quali il principale è l'isoforma aminoacidica 121 del VEGF (33). La progressione tumorale determina un incremento nell'attività angiogenetica con il successivo contributo di differenti fattori di stimolo come il bFGF (basic fibroblast growth factor), TGFβ-1(transforming growth factor β-1), PLGF (placental growth factor), PD-ECGF (platelet-derived endothelial cell growth factor), la pleiotropina ecc. Questo potrebbe rappresentare un meccanismo di resistenza ai farmaci antiangiogenici e rendere il controllo di questo processo più difficoltoso in una fase più avanzata di malattia. Una possibile strategia terapeutica potrebbe essere quella di inibire contemporaneamente diversi pathway di crescita tumorale oppure utilizzare in sequenza diversi farmaci antiangiogenici per ottimizzare il controllo tumorale a lungo termine.

- ***Terapia metronomica: studi clinici***

E' stato dimostrato che molti chemioterapici esercitano attività citotossica non solo sulle cellule tumorali ma anche sulle cellule endoteliali della microvascolarizzazione tumorale. Questo effetto antiangiogenico sembra essere più pronunciato con l'esposizione protratta a basse dosi di chemioterapici rispetto alla ciclica somministrazione degli stessi farmaci alla dose massima tollerata (34). Il termine chemioterapia "metronomica" si riferisce alla frequente, talvolta giornaliera, somministrazione di chemioterapici a dosi significativamente al di sotto della dose massima tollerata, in assenza di intervalli nella somministrazione (35). Studi preclinici in vivo hanno dimostrato che la somministrazione metronomica di un chemioterapico è efficace nell'inibire la crescita di cellule tumorali che avevano sviluppato resistenza allo stesso farmaco; inoltre si è visto che l'apoptosi delle cellule endoteliali vascolari precedeva quella delle cellule tumorali, evidenziando quindi una azione primaria sulla vascolarizzazione (36). Studi preclinici hanno inoltre dimostrato che la combinazione di chemioterapia metronomica con un farmaco antiangiogenico "dedicato" è più attiva che ciascuna terapia da sola, inducendo inoltre risposte senza incrementare la tossicità. (36). Tali dati preclinici hanno dato l'avvio ai primi studi clinici sull'argomento. Una prima esperienza di chemioterapia metronomica è stata condotta all'Istituto Europeo di Oncologia (IEO) con la somministrazione giornaliera orale di ciclofosfamide (endoxan 50 mg/die) e metotrexate orale 2,5 mg per due volte al giorno per due giorni a settimana. (regime CM) in 63 pazienti con malattia mammaria metastatica pretrattati. Questo regime ha ottenuto una percentuale di risposte del 19% e un beneficio clinico (definito come una risposta obiettiva o una stabilità maggiore di 24 settimane) del 32% in assenza di tossicità e con un significativo decremento nei livelli di VEGF (37). Uno studio successivo condotto nello stesso Istituto ha randomizzato 171 pazienti con malattia mammaria metastatica pretrattata con chemioterapia a CM da solo versus CM +Talidomide. Nel gruppo delle pazienti meno pretrattate il CM da solo ha ottenuto una

percentuale di risposta del 20.9% (95%CI 12.9-31.0%) ed un clinical benefit del 41.5% (95%CI 34.0-49.3%) (38). Il Dana Farber Cancer Center ha condotto uno studio di fase II randomizzato che confronta il regime metronomico CM con lo stesso regime in combinazione con il Bevacizumab al dosaggio di 10 mg/kg ogni due settimane in donne affette da malattia mammaria metastatica trattate con almeno un regime di chemioterapia. Una analisi ad interim pianificata dei primi 19 pazienti per braccio ha evidenziato un significativo vantaggio in favore del braccio combinato con 7 vs 3 risposte complete e 6 vs 4 stabilità (39). Un altro studio che investigava la medesima strategia con ciclofosfamide orale giornaliera e Bevacizumab in pazienti con carcinoma ovarico pretrattate con Platino e taxolo ha mostrato un 28% di risposte e un 62% di stabilità (40). Un recente studio di fase II ha riportato un clinical benefit del 68% ed un tasso di risposte del 48% con una tossicità maneggevole con il regime costituito da 50 mg di ciclofosfamide giornaliera in associazione a 500 mg di capecitabina tre volte al giorno più Bevacizumab in pazienti pretrattate affette da malattia mammaria metastatica (41).

- *Myocet*

Le antracicline sono i farmaci più usati nel trattamento del tumore della mammella in fase adiuvante e metastatica. L'effetto collaterale principale di questi farmaci che ne limita però l'uso è la cardiotossicità. (6-10). L'opportunità di usare basse dosi frequenti di chemioterapia ha dimostrato di poter superare la resistenza e di migliorare l'outcome della paziente. Studi che hanno investigato la somministrazione settimanale di paclitaxel hanno dimostrato superiore efficacia rispetto alla somministrazione trisettimanale oltre che minore tossicità ematologica e non ematologica (42). Di recente la somministrazione settimanale della doxorubicina liposomiale non pegilata (25mg/mq giorno 1,8,14 ogni 28 giorni) è stata valutata in uno studio di fase I-II in combinazione con il paclitaxel settimanale o con il docetaxel (43) in 46 pazienti con malattia mammaria metastatica. Il clinical benefit (endpoint primario) è stato dell' 87%, il time to progression mediano



(TTP) è stato di 11 mesi e la sopravvivenza mediana (OS) di 23 mesi; il 24% delle pazienti ha sviluppato una riduzione della frazione di eiezione, reversibile dopo termine del trattamento.

- ***Ciclofosfamide***

Agente alchilante di per sè inattivo (non tossico), che viene trasformato dalle fosforamidasi (enzimi presenti in alte percentuali in molti tumori, ma poco presenti nelle cellule normali) in metaboliti attivi, fosforamide mostarda e acroleina (Mirkes 1985). Questo meccanismo d'azione determina una certa selettività della ciclofosfamide per le cellule tumorali, con risparmio delle cellule sane.

### 3.0. DISEGNO DELLO STUDIO

Sulla scorta dei dati di efficacia e sicurezza dell'associazione di Myocet e ciclofosfamide a dosaggi convenzionali (60/600) e dei dati emergenti riguardo all'attività antiangiogenetica degli stessi farmaci somministrati nella modalità metronomica è stato disegnato uno studio di fase II randomizzato di confronto tra le due diverse schedule.

Le pazienti mediante procedura di randomizzazione centralizzata eseguita con modalità 1:1 riceveranno i seguenti trattamenti:

Braccio A: Myocet 60 mg/m<sup>2</sup> e.v. in combinazione con 600 mg/m<sup>2</sup> e.v. di ciclofosfamide ogni 21 giorni

Braccio B: Myocet 20 mg/m<sup>2</sup> g1, g8, g15 ogni 28 giorni e.v. in combinazione con ciclofosfamide 50 mg totali/die continuativo

Ciascuna paziente in caso di malattia stabile o in presenza di una risposta importante (parziale o completa) riceverà il trattamento fino alla progressione o alla massima dose tollerata di antracicline o a tossicità.

L'infusione endovenosa della ciclofosfamide avverrà a velocità costante per 15 minuti, seguita da Myocet somministrata per infusione endovenosa della durata di un'ora. Per ridurre al minimo il rischio di reazioni legate all'infusione, la prima dose di Myocet verrà somministrata ad una velocità non superiore ad 1 mg/min. Se non si osservano reazioni le successive infusioni saranno somministrate in 60 minuti. Nelle pazienti in cui si verifichi una reazione d'ipersensibilità in corso d'infusione di grado lieve o moderato, la sospensione temporanea dell'infusione generalmente determina la regressione dei sintomi; in tal caso il trattamento può essere ripreso con una velocità di infusione dimezzata.

La ciclofosfamide nel braccio di terapia metronomica verrà somministrata alla dose di 50 mg/die per os previa adeguata informazione alle pazienti.

#### **4.0. TERAPIE DI SUPPORTO**

La scelta del tipo di terapia antiemetica, di G-CSF o di qualunque altra terapia di supporto (per esempio bifosfonati) è a discrezione dello sperimentatore (da segnalare tuttavia nella scheda raccolta dati). Gli effetti collaterali correlati all'impiego di G-CSF sono essenzialmente costituiti da dolori ossei (15-25% dei pazienti), generalmente modici e controllabili con analgesici. Raramente è descritto dolore di notevole entità. Inoltre sono riportati: crampi muscolari, esacerbazione di preesistenti condizioni infiammatorie (es. psoriasi, eczemi, vasculiti) splenomegalia (con occasionale trombocitopenia associata), elevazione di fosfatasi alcalina, acido urico, LDH.

#### **5.0. CRITERI DI INCLUSIONE/ESCLUSIONE**

##### **5.1 Criteri di Inclusione**

- Carcinoma mammario istologicamente accertato Her-2 negativo
- Età 18-75 anni
- Stato di validità (WHO)  $\leq 2$
- Malattia in stadio IIIB/IV con presenza di almeno una lesione misurabile unidimensionalmente
- Eventuale precedente chemioterapia adiuvante e/o neoadiuvante terminata da almeno 1 anno
- Eventuale precedente ormonoterapia adiuvante o in malattia avanzata con progressione documentata
- Eventuale precedente RT includente non oltre il 30% dello scheletro contenente midollo osseo e terminata da almeno 4 settimane
- Adeguata funzionalità midollare (GB  $\geq 4.000/\text{mm}^3$ , neutrofili  $\geq 2.000/\text{mm}^3$ ;

piastrine  $\geq 100.000/\text{mm}^3$ ), epatica (bilirubina  $\leq 1.5\text{mg}\%$ ), renale (creatininemia  $\leq 1.2\text{mg}\%$ )

- Test di gravidanza negativo (urine o siero) effettuato nei 7 giorni precedenti l'entrata in studio nelle donne in età fertile; tali pazienti dovranno adottare efficaci misure contraccettive non ormonali per tutta la durata del trattamento
- Le pazienti pre-manopausali con malattia endocrino responsiva possono essere trattate con LH-rh analogue, la misurazione con test sierici dell'eventuale attività ovarica va effettuata una sola volta al momento dell'arruolamento dello studio.
- Accessibilità geografica per follow-up
- Consenso Informato scritto

## 5.2 Criteri di Esclusione

- Precedente chemioterapia per malattia metastatica o concomitante terapia con agenti ormonali o bioterapie
- Precedente chemioterapia adiuvante e/o neoadiuvante con raggiungimento del dosaggio cumulativo massimo consentito di Adriamicina pari a 450 mg/mq e Epirubicina pari a 900 mg/mq.
- Metastasi cerebrali sintomatiche
- Malattie psichiche precludenti l'ottenimento del consenso informato
- Altre neoplasie ( ad eccezione del carcinoma cutaneo baso o spinocellulare e il carcinoma in situ della cervice, purché adeguatamente trattati)
- LVEF $<50\%$  determinato con ecocardiogramma o MUGA scan
- Pazienti in gravidanza
- Ipertensione arteriosa incontrollata (sistolica  $\geq 150$  mmHg e/o diastolica  $\geq 100$  mmHg)
- Malattia cardiovascolare clinicamente attiva (ad esempio un infarto acuto del

miocardio nei 6 mesi precedente l'arruolamento in studio, CHF NYHA Classe II, aritmia cardiaca severa che possa richiedere un trattamento medico durante lo studio e possa interferire con la regolarità del trattamento stesso, o che non sia controllata dal trattamento medico

- Leucociti < 4000/mmc, neutrofili < 2000/mmc, piastrine < 100000/mmc
- Alterazioni della funzione renale (Creatininemia  $\geq 1.25$  volte i valori normali) o epatica (GOT o GPT  $\geq 1.25$  volte i valori normali, a meno che la patologia non sia dovuto a metastasi epatiche)
- Trattamento concomitante con altri farmaci sperimentali

## **6.0. PARAMETRI DI STUDIO BASALI ED IN CORSO DI TRATTAMENTO**

La risposta verrà definita come risposta completa e parziale in accordo con i criteri RECIST (44) dopo almeno 3 cicli di trattamento e verrà effettuata mediante CT scan. La qualità di vita verrà valutata mediante questionario FACT-B che sarà somministrato alla paziente ad ogni ciclo di terapia (45). La tossicità verrà valutata sia in termini di tossicità ematologica che non ematologica secondo i criteri CTC-AE (46). La tossicità cardiologica verrà valutata ogni 3 mesi mediante ecocardiogramma. Gli endpoint secondari saranno la sopravvivenza (OS) definita come il numero di giorni dalla data di arruolamento nello studio sino alla data di morte o alla data dell'ultimo follow-up, la sopravvivenza libera da progressione (PFS) definita come il numero di giorni dall'arruolamento nello studio sino alla data della progressione o alla data di morte. La durata della risposta sarà definita come il numero di giorni dalla data dell'ottenimento della risposta alla prima rivalutazione (CR o PR) sino alla data di progressione o dell'ultimo follow-up. La distribuzione di tali eventi sarà valutata secondo il metodo di Kaplan-Meier (47). La randomizzazione sarà effettuata 1:1 presso il centro coordinatore e la stratificazione verrà effettuata per età, precedenti trattamenti con antracicline ,

endocrinoresponsività (alto vs basso > 50% vs < 50%) e Ki67 (alto > 15% vs basso < 15%).

## 7.0. ENDPOINT DELLO STUDIO

Endpoint primario: valutazione dell'attività in termini di percentuali di risposte (RR) e di qualità di vita.

Endpoint secondario: valutazione del tempo alla progressione (PFS) e della sopravvivenza globale (OS).

## 8.0. TOSSICITA' E MODIFICAZIONE DELLA DOSE DEI FARMACI

### 8.1 Tossicità ematologica

- **Myocet**

La terapia con Myocet provoca mielosoppressione. Non somministrare Myocet a persone con una conta assoluta di neutrofili (ANC) inferiore a 1.500 cellule/mcl o con piastrine al di sotto di 100.000/mcl prima del ciclo successivo. Si consiglia di monitorare attentamente i parametri ematologici (incluso la conta dei globuli bianchi e delle piastrine, e l'emoglobina) durante la terapia con Myocet.

Oltre ad altre forme di tossicità, la tossicità ematologica può richiedere una riduzione della dose oppure un suo posticipo. Si consigliano le seguenti modifiche delle dosi durante la terapia, che devono essere eseguite contestualmente per Myocet e per la ciclofosfamide. La determinazione della dose in seguito ad una riduzione del dosaggio è a discrezione del medico che cura la paziente.

<b>Grado</b>	<b>Nadir ANC</b>	<b>Nadir conta delle piastrine</b>	<b>Modifica</b>
	<b>(cellule/mcl)</b>	<b>(cellule/mcl)</b>	

1	1500 - 1900	75.000 - 150.000	Nessuna
2	1000 - meno di 1500	50.000 - Meno di 75.000	Nessuna
3	500 - 999	25.000 - Meno di 50.000	Aspettare che l'ANC raggiunga i 1500 o più e/o che le piastrine giungano a 100.000 o più, quindi ridosare riducendo la dose del 25%
4	Meno di 500	Meno di 25.000	Aspettare che l'ANC raggiunga i 1500 e/o che le piastrine giungano a 100.000 o più, quindi ridosare riducendo la dose del 50%.

Se il trattamento è posticipato di oltre 35 giorni dopo la prima dose del ciclo precedente a causa della mielosoppressione, si deve considerare l'interruzione del trattamento.

- **Ciclofosfamide**

Se la ciclofosfamide viene associata ad altri citostatici di tossicità simile potrebbero rendersi necessari o una riduzione del dosaggio o una estensione dei periodi di intervallo.

*Raccomandazioni per la riduzione del dosaggio in pazienti con mielosoppressione:*

Conta leucocitaria [mcl]	Conta piastrinica [mcl]	Dosaggio
> 4000	> 100 000	100% del dosaggio programmato
4000 – 2500	100 000 – 50 000	50% del dosaggio programmato
< 2500	< 50 000	Normalizzazione dei valori o decisione del medico

## 8.2 Tossicità non-ematologica

In base alla peggior tossicità riscontrata al ciclo precedente, le dosi di Myocet e ciclofosfamide al ciclo successivo saranno modificate secondo i seguenti criteri:

Grado 0-2 (eccetto nausea/vomito e alopecia G3)	100% della dose
Grado 3 (eccetto nausea/vomito e alopecia)	75% della dose
Grado 4	Nessuna dose

## 8.3 Cardiotossicità

In caso di sintomi o segni di cardiotossicità (calo della L-VEF  $\geq 20\%$  rispetto alla valutazione basale e comunque al di sotto del 45%) il trattamento verrà sospeso. Il monitoraggio della cardiotossicità verrà effettuato secondo quanto previsto nella tabella relativa inclusa nell'allegato II.

In caso di sintomatologia riferibile alla classe III-IV della scala NYHA (allegato II) il trattamento verrà sospeso.

## 8.4 Tossicità epatica

- **Myocet**

Alla luce dei dati limitati disponibili in pazienti con metastasi epatiche, si consiglia di diminuire la dose iniziale di Myocet conformemente alla tabella che segue.

Test di funzionalità epatica	Dose
Bilirubina < ULN e AST normale	Dose standard di 60 - 75mg/m <sup>2</sup>
Bilirubina < ULN e AST innalzata	Considerare una riduzione della dose del 25%
Bilirubina > ULN ma < 50 mcmmol/l	Riduzione della dose del 50%



Bilirubina > 50 mcmmol/l	Riduzione della dose del 75%
--------------------------	------------------------------

Considerato che queste raccomandazioni sono basate su estrapolazioni, evitare, se possibile, di somministrare Myocet a pazienti con livelli di bilirubina > 50 mcmmol/l.

- **Ciclofosfamide**

Gravi insufficienze epatiche o renali richiedono una riduzione del dosaggio. Si consiglia una riduzione del 25% per valori di bilirubina sierica compresi tra 3,1 e 5 mg/100 ml e una riduzione del 50% per una velocità di filtrazione glomerulare inferiore a 10 ml/minuto.

## **9.0. EVENTI AVVERSI**

La sicurezza e tollerabilità clinica al trattamento sarà valutata attraverso la rilevazione degli Eventi Avversi, sia riferiti che osservati, occorsi durante lo studio, mediante esame dell'obiettività clinica generale, misurazione dei segni vitali, esecuzione di esami chimico-clinici ed ematologici e strumentali.

### **9.1 Definizioni**

#### **9.1.1 Evento avverso (Adverse Event)**

Per Evento Avverso viene definito qualsiasi episodio sfavorevole di natura medica che si verifichi in un Paziente o in un soggetto partecipante a una sperimentazione clinica al quale sia stato somministrato un prodotto farmaceutico e che non deve necessariamente avere una relazione causale con questo trattamento.

Un Evento Avverso può quindi essere qualsiasi segno (compreso un risultato anomalo di un esame ematochimico di laboratorio) o sintomo sfavorevole e non voluto, oppure una malattia associata all'impiego del prodotto medicinale in sperimentazione, per coincidenza temporale, sia essa correlata o meno al prodotto stesso.

I segni, sintomi e/o anormalità clinicamente significative negli esami di laboratorio già presenti prima dell'ingresso nello studio non sono considerati EA, a meno che non ricompaiano dopo la risoluzione o non presentino un peggioramento, per intensità o frequenza, rispetto alla condizione pre-esistente.

Qualsiasi AE dovrà essere riportato, insieme alla data, all'ora di insorgenza e di scomparsa ed alla durata (se inferiore alle 24 ore), nella Scheda Raccolta dati; dovranno altresì essere riportati intensità, relazione con il farmaco, azioni intraprese e trattamenti somministrati.

Per la valutazione dell'intensità, lo Sperimentatore utilizzerà le seguenti categorie: lieve, moderato, grave. Si tratta di una valutazione soggettiva e lo Sperimentatore si baserà sul proprio giudizio per mettere a confronto l'evento avverso insorto con eventi simili che si verificano nella pratica clinica.

Le linee guida per la valutazione dell'intensità sono le seguenti:

**Grado lieve:** segni o sintomi poco evidenti per il Paziente o che non costituiscono per lui un disagio. Gli eventi avversi di questo grado non influenzano alcuna attività o funzionalità. La prescrizione di farmaci non è di solito necessaria per alleviarli

**Grado moderato:** segni o sintomi di gravità sufficiente a causare fastidioso disagio. Le attività quotidiane risultano influenzate da eventi di questo grado. Possono essere necessari trattamenti.

**Grado grave:** segni o sintomi di gravità sufficiente a causare grave, intollerabile disagio o dolore. La severità può determinare la sospensione del trattamento sperimentale. Possono essere somministrati trattamenti.

Va comunque precisato che la gravità di un evento non è sinonimo di serietà.

E' responsabilità dello Sperimentatore assicurare che il Paziente riceva, durante e dopo lo studio, una adeguata assistenza medica per eventuali AE. Tutti gli AE dovranno essere seguiti per determinarne l'esito.

### **9.1.2 Evento Avverso Serio (Serious Adverse Event, SAE)**

Un Evento Avverso Serio è qualsiasi evento medico sfavorevole che:

- Determini il decesso del Paziente;
- Metta il Paziente in pericolo di vita;
- Ne richieda l'ospedalizzazione o determini il prolungamento di una ospedalizzazione preesistente;
- Provochi disabilità o incapacità persistente o significativa;
- Comporti una anomalia congenita o difetti alla nascita.

Ciascun SAE deve essere comunicato immediatamente a mezzo e-mail dallo Sperimentatore allo Sponsor-Sperimentatore (*Dott. Saverio Cinieri: saverio.cinieri@ieo.it* e *dott.ssa Margherita Cinefra: cinefra.margherita@libero.it*) e al centro di Bari (*d.rizzigoim@libero.it*), entro 24 ore dal momento in cui viene rilevato.

Apposite Schede di segnalazione (SAE REPORT FORM) per la comunicazione del SAE saranno consegnate allo Sperimentatore all'inizio della ricerca (Allegato VIII).

Relazioni di follow-up relative al Paziente che ha presentato un SAE dovranno successivamente essere inoltrate dallo Sperimentatore allo Sponsor-Sperimentatore fino alla risoluzione o stabilizzazione dell'evento. Se necessarie potranno essere richieste delle informazioni aggiuntive.

### 9.1.3 Reazione Avversa da Farmaco (ADR)

Si definisce Reazione Avversa una risposta ad un prodotto medicinale che è nociva e non voluta, e che si manifesta al dosaggio normalmente utilizzato nell'uomo per la profilassi, diagnosi o terapia di una patologia o per modificarne funzioni fisiologiche.

La dizione “risposta ad un prodotto medicinale” vuol significare che la correlazione causale fra il prodotto medicinale e l'Evento Avverso, può essere ragionevolmente possibile, non può cioè essere esclusa.

Pertanto una ADR è caratterizzata dal fatto che la correlazione causale tra l'AE ed il prodotto medicinale è giudicata almeno “possibile”.

Nell'esprimere il giudizio di correlazione o meno con il farmaco, lo Sperimentatore si baserà sulle informazioni contenute nella Scheda Tecnica, sulle condizioni cliniche e le terapie concomitanti, e sulla relazione temporale tra l'insorgenza dell'evento e la somministrazione del trattamento sperimentale.

La correlazione tra evento avverso e farmaco sarà espressa in accordo con le seguenti definizioni:

non correlato: ogni reazione che non si manifesta entro un tempo ragionevole dalla somministrazione del farmaco in studio e che probabilmente è stata prodotta dallo stato clinico del Paziente o da altre terapie somministrate al Paziente;

correlazione improbabile: ogni reazione che non si manifesta entro un tempo ragionevole dalla somministrazione del farmaco in studio o che probabilmente è stata prodotta dallo stato clinico del Paziente o da altre terapie somministrate al Paziente;

correlazione probabile: ogni reazione che si manifesta entro un tempo ragionevole dalla somministrazione del farmaco in studio o che segue uno schema

di reazioni note verso il farmaco in studio e che potrebbe non essere ragionevolmente spiegata dallo stato clinico del Paziente o da altre terapie somministrate al Paziente;

correlazione certa: ogni reazione che si manifesta entro un tempo ragionevole dalla somministrazione del farmaco in studio e che segue uno schema di reazioni note verso il farmaco in studio e che ricompaia alla reintroduzione del farmaco e/o che migliora con la sospensione del farmaco o con la riduzione delle dosi.

E' responsabilità dello Sperimentatore seguire le normative di legge inerenti la Farmacovigilanza (Decreto Legislativo 8 aprile 2003, n. 95).

## **9.2 Reazioni Avverse da Farmaco Inattese**

Si definisce Reazione Avversa da Farmaco inattesa una Reazione Avversa la cui natura o intensità non è contemplata nel materiale informativo sul prodotto (ad esempio: Riassunto delle Caratteristiche del Prodotto per farmaci in commercio).

Lo Sperimentatore dovrà immediatamente riportare alla Direzione Sanitaria ed al Comitato Etico Indipendente di riferimento ogni Reazione Avversa da Farmaco che sia contemporaneamente seria ed inattesa.

## **10.0 FOLLOW-UP**

Le pazienti che termineranno il trattamento in risposta o in stabilità di malattia, compresi quelle che terminino il trattamento anticipatamente per tossicità, rifiuto o altro, dovranno effettuare periodiche valutazioni clinico-strumentali per definire il momento della progressione di malattia.

Il tempo alla progressione sarà calcolato dall'inizio del trattamento alla data dell'eventuale progressione.

La sopravvivenza globale verrà calcolata dall'inizio del trattamento fino alla morte.

L'analisi dei risultati, secondo i criteri "intent to treat", sarà effettuata sull'intero campione delle pazienti entrate nello studio; parallelamente sarà effettuata anche un'analisi sulle pazienti valutabili.

La durata della risposta, il tempo alla progressione e la sopravvivenza delle pazienti saranno calcolate con il metodo di Kaplan-Meier.

## **11.0 CONSENSO INFORMATO**

Lo sperimentatore è responsabile dell'ottenimento del consenso informato scritto da parte della paziente dopo aver esaurientemente descritto alla paziente (oralmente e con l'ausilio del foglio informativo) gli scopi e le procedure dello studio, nonché i rischi eventuali connessi alle procedure stesse ed al trattamento; alla paziente verrà assicurato l'anonimato e la confidenzialità dei suoi dati clinici.

La paziente potrà inoltre ritirarsi dallo studio in ogni momento senza alcun pregiudizio per i suoi diritti di paziente. In tal caso, la paziente dovrà essere curata col miglior trattamento alternativo disponibile.

Lo sperimentatore assicurerà che tutte le procedure di verifica dei dati clinici vengano effettuate solo da personale autorizzato e nel rispetto dei diritti del malato; in particolare, l'identità del malato sarà mantenuta riservata.

## **12.0 DISEGNO STATISTICO**

L'obiettivo dello studio è quello di verificare se la somministrazione settimanale di Myocet ed endoxan metronomico merita una validazione in una casistica più ampia. Lo studio è di fase II randomizzato con una interim analysis pianificata secondo il disegno

di Fleming modificato (29-48). L'arruolamento durante l'analisi ad interim non sarà sospeso ma i pazienti arruolati durante tale analisi non saranno inclusi nella valutazione degli endpoint. Lo studio vuole verificare l'ipotesi nulla che l'effetto reale del trattamento per ciascuna schedula sia al massimo 0.15 contro l'ipotesi alternativa che sia 0.30. Sulla base del disegno di Fleming per verificare tale ipotesi sarà necessario arruolare 55 pazienti per braccio per avere un potere del 90% con un errore  $\alpha = 0.10$ . Una schedula verrà considerata promettente se ci saranno almeno 12 risposte nei 55 pazienti previsti. E' prevista una analisi ad interim dopo che 20 pazienti saranno arruolati per braccio. Una schedula con meno di 3 risposte verrà considerata inefficace. La distribuzione binomiale degli intervalli di confidenza (CI) per stimare l'effetto reale del trattamento sarà costruita secondo il metodo di Duffy e Santner (30-49). La distribuzione della PFS e della OS sarà stimata secondo il metodo di Kaplan Meier (47). Il test di Fisher e del  $\chi^2$  saranno usati per confrontare le caratteristiche di base e le tossicità tra i due bracci. Una  $p < 0.05$  sarà considerata statisticamente significativa. Tutti i pazienti saranno inclusi nell'analisi eccetto quelli che non hanno mai ricevuto il trattamento.

### 13.0 BIBLIOGRAFIA

1. Ries LAG, Eisner MP: Cancer of the female breast in Ries LAG, Keel GE, Eisner MP, et al: SEER survival Monograph: Cancer Survival among adults: U.S. SEER Program 1988-2001, Patient and tumour characteristics, Bethesda MD, National Cancer Institute, NIH publication 07-6215, 2007, pp 101-110
2. Mayer EL, Burstein HJ: Chemotherapy for metastatic breast cancer. *Hematol Oncol Clin North AM* 21: 257-272, 2007
3. Carrick S, Parker S, Wilcken N, et al: Single agent versus combination chemotherapy for metastatic breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 18: 2005
4. Sledge GW , Neuberg D, Bernardo P et al: Phase III trial of doxorubicin, paclitaxel and the combination of doxorubicin and paclitaxel as front line chemotherapy in metastatic breast cancer: an intergroup trial (E1193) *J Clin Oncol* 2003; 21: 588-592
5. A' Hern RP, Smith IE, Ebbs SR. Chemotherapy and survival in advanced breast cancer: the inclusion of doxorubicin in Cooper type regimens. *Br J Cancer* 1993; 67: 801-805
6. Birtle AJ. Anthracyclines and cardiotoxicity. *Clinical Oncology* 2000;12:146-52
7. Horan PG, McMullin MF, McKeown PP. Anthracycline cardiotoxicity. *European Heart Journal* 2006; 27:1137-8
8. Jones RL, Swanton C, Ewer MS, et al. Anthracycline cardiotoxicity. *Expert Opinion on Drug Safety* 2006; 5:791-809
9. Swain SM, Whaley FS, Ewer M, et al. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin. *Cancer* 2003; 97: 2869-2879
10. Batist G. Cardiac safety of liposomal anthracyclines. *Cardiovascular Toxicology* 2007;7:72-4



11. Swain SM, Whaley FS, Gerber MC, et al. Cardioprotection with Dexrazoxane for doxorubicin containing therapy in advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 1997; 15: 1318-1332
12. Hensley M, Schuchter LM, Lindley C, et al: American Society of Clinical Oncology clinical practice guidelines for the use of chemotherapy and radiotherapy protectants. *J Clin Oncol* 17:3333-3355, 1999
13. Swenson CE, Bolcsak LE, Batist G et al. Pharmacokinetics of doxorubicin administered i.v. as Myocet (TLC D-99; liposome-encapsulated doxorubicin citrate) compared with conventional doxorubicin when given in combination with cyclophosphamide in patients with metastatic breast cancer. *Anti-Cancer Drugs* 2003;14:239-46
14. Allen TM. Liposomes: opportunities in drug delivery. *Drugs* 1997; 54 (suppl 4): 8-14
15. Cephalon. Summary of product characteristics. Myocet®▼ powder and pre-admixtures for concentrate for liposomal dispersion for infusion (liposomal doxorubicin). 19th June 2007 <http://emc.medicines.org.uk>
16. Harris L, Batist G, Belt R et al. Liposome-encapsulated doxorubicin compared with conventional doxorubicin in a randomized multicenter trial as first-line therapy of metastatic breast carcinoma. *Cancer* 2002;94:25-36
17. Batist G, Ramakrishnan G, Rao CS et al. Reduced cardiotoxicity and preserved antitumour efficacy of liposome-encapsulated doxorubicin and cyclophosphamide compared with conventional doxorubicin and cyclophosphamide in a randomized, multicenter trial of metastatic breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 2001;19:1444-54
18. Batist G, Harris L, Azarnia N et al. Improved anti-tumor response rates with decreased cardiotoxicity of non-pegylated liposomal doxorubicin compared with conventional doxorubicin in first-line treatment of metastatic breast cancer in

- patients who had received prior adjuvant doxorubicin: results of a retrospective analysis. *Anti-Cancer Drugs* 2006;17:587-95
- 19.Chan S, Davidson N, Juozaityte E et al. Phase III trial of liposomal doxorubicin and cyclophosphamide compared with epirubicin and cyclophosphamide as first-line therapy for metastatic breast cancer. *Annals of Oncology* 2004;15:1527-34
  - 20.Fumoleau P, Delgado FM, Delozier T, et al. Phase II trial of weekly intravenous vinorelbine in first line advanced breast cancer chemotherapy. *J Clin oncol* 11: 1245-1252, 1993
  - 21.Garcia-Conde J, Lluch A, Martin M: phase II trial of weekly intravenous vinorelbine in first line advanced breast cancer chemotherapy. *Ann Oncol*, 5: 854-857, 1994
  - 22.Romero A, Rabinovich MG, Valeejo CT, Perez Je,et al. Vinorelbine as first line chemotherapy for metastatic breast carcinoma. *J Clin Oncol* 12: 336-341, 1994
  - 23.Norris B, Pritchard KI, James K et al. Phase III comparative study of vinorelbine combined with doxorubicin versus doxorubicin alone in disseminated metastatic/recurrent breast cancer NCICCTG study MA8. *J Clin Oncol*, 18: 2385-2394, 2000
  - 24.Poletti P, Bettini AC, Caremoli ER et al. Liposomal encapsulated doxorubicin (Myocet) and vinorelbine in previous treatment metastatic breast cancer patients: a feasibility study. *Tumori*; 94: 686-690, 2008
  - 25.Lorusso V, SpadaM, Cassano G, Guida M, Latorre A, Misino A, Calabrese R, Giampaglia M: Navelbine (NVB) alternating oral and i.v. plus Myocet as first line chemotherapy of metastatic breast cancer (MBC): Phase II study. *Ann Oncol*, Abstr A37, 2005.
  - 26.Lorusso V. Giotta F. Bordonaro R. et al A multicenter randomized phase III trial of non pegylated liposomal doxorubicin Myocet® plus Cyclophosphamide (MC) versus Myocet® plus Vinorelbine (MV) as first line in locally advanced (LABC)

- or metastatic breast cancer (MBC) Accepted as poster session ASCO 2011
27. Cameli P, Jain RK, Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000, 14; 407 (6801): 249-57
  28. Hicklin DJ, Ellis LM. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. *J Clin Oncol* 2005 10; 23 (5): 1011-27
  29. Schneider BP, Miller KD. Angiogenesis of breast cancer. *J Clin Oncol* 2005 10; 23 (8): 1782-90
  30. Linderholm B, Lindh B, Beckman L et al. The prognostic value of vascular endothelial growth factor (VEGF) and basic fibroblast growth factor (bFGF) and associations to first metastasis site in 1307 patients with primary breast cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2001
  31. Foekens JA, Peters HA, Grebenchtchikov N et al. High tumor levels of vascular endothelial growth factor predict poor response to systemic therapy in advanced breast cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 5407-5414
  32. Relf M, LeJeune S, Scott PA et al. Expression of the angiogenic factors vascular endothelial cell growth factor, acidic and basic fibroblast growth factor, tumor growth factor beta-1, platelet-derived endothelial cell growth factor, placenta growth factor, and pleiotrohin in human primary breast cancer and its relation to angiogenesis. *Cancer Res* 1997 1; 57 (5): 963-9
  33. Kerbel R, Folkman J. Clinical translation of angiogenesis inhibitors. *Nat Rev Cancer* 2002; 2(10): 727-39
  34. Kerbel RS, Kamen BA. The anti-angiogenic basis of metronomic chemotherapy. *Nat Rev Cancer* 2004; 4(6) 423-36
  35. Browder T, Butterfield CE, Kraling BM et al. Antiangiogenic scheduling of chemotherapy improves efficacy against experimental drug-resistant cancer. *Cancer Res* 2000 1; 60 (7): 1878-86
  36. Klement G, Baruchel S, Rak J et al. Continuous low dose therapy with vinblastine

- and VEGF receptor-2 antibody induces sustained tumor regression without overt toxicity. *J Clin Invest* 2000; 105 (8): R15-24
37. Colleoni M, Rocca A, Sandri MT et al. Low-dose oral methotrexate and cyclophosphamide in metastatic breast cancer: antitumor activity and correlation with vascular endothelial growth factor levels. *Ann Oncol* 2002; 13(1): 73-80
38. Colleoni M, Orlandi L, Sanna G et al. Metronomic low dose oral cyclophosphamide and metotrexate plus or minus thalidomide in metastatic breast cancer: antitumor activity and biological effects. *Ann Oncol* 2006; 17(2): 232-8
39. Garcia AA, Oza AM, Hirte H et al. Interim report of a phase II clinical trial of bevacizumab (Bev) and low dose metronomic oral cyclophosphamide (mCTX) in recurrent ovarian (OC) and primary peritoneal carcinoma: a California Cancer Consortium Trial Proc ASCO 2005
40. Hennessy BT, Gauthier AM, Michaud LB et al. Lower dose capecitabine has a more favorable therapeutic index in metastatic breast cancer: retrospective analysis of patients treated at MD Anderson Cancer Center and a review of capecitabine toxicity in the literature. *Ann Oncol* 2005; 16(8): 1289-96
41. Dellapasqua S, Bertolini F, Bagnardi V et al. Metronomic cyclophosphamide and capecitabine combined with bevacizumab in advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26(30): 4899-4905
42. Verrill MW, Lee J, Cameron DA et al. Anglo-Celtic IV: First results of a UK National Cancer Research Network randomized phase 3 pharmacogenetic trial of three weekly versus weekly paclitaxel in patients with locally advanced or metastatic breast cancer (ABC). *Proc Am Soc Clin Oncol* 25: 1005 2007
43. Rosati MS, Raimondi C, Baciarello G et al. weekly combination of non – pegylated liposomal doxorubicin and taxanes in first-line breast cancer: wALT trial (phase I-II), *Ann Oncol* 2011; 22:315-320
44. P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, et al. New guidelines to evaluate the response to

- treatment in solid tumours. JNCI 92(3) 2000: 205-216
- 45.Brady MJ, Cella DF, Mo F et al. Reliability and validity of the functional assessment of cancer therapy-breast quality-of-life instrument. J Clin Oncol 15; 1997 974-986
- 46.Common Toxicity Criteria for adverse events (CTCAE v.4) NCI 2009
- 47.Kaplan EL, Meier P: Nonparametric estimation of incomplete observations. J Am Stat Assoc 53: 457-481, 1958
- 48.Fleming TR: One sample multiple testing procedure for phase II clinical trials. Biometrics 38: 143-151, 1982
- 49.Duffy DE, Santner TJ: Confidence intervals for a binomial parameter based on multistage tests. Biometrics 43: 81-93, 1987