

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE**

CORSO DI LAUREA IN CHIMICA INDUSTRIALE

**IL LETROZOLO COME CURA ORMONALE NELLA
TERAPIA DEL TUMORE AL SENO**

Relatore: Prof. Alice Sosic

Laureando: Vittoria Sabbadin

Matricola: 2008950

ANNO ACCADEMICO 2023/2024

INDICE

Abstract	1
1. Introduzione	2
1.1 Il tumore al seno, fattori di rischio e prevenzione.....	2
1.2 Alterazioni ormonali nel tumore al seno	7
1.3 Inibitori dell'aromatasi.....	9
1.4 Terapia ormonale per il tumore al seno	12
2. Scopo della tesi	14
3. Letrozolo	15
3.1 Sviluppo del letrozolo	15
3.2 Sintesi del letrozolo	17
3.3 Farmacodinamica.....	18
3.4 Farmacocinetica.....	18
3.5 Efficacia ed effetti collaterali	19
4. Conclusioni	22
Bibliografia	23

Abstract

Questo studio di ricerca tratta l'analisi approfondita del letrozolo, un inibitore competitivo dell'aromatasi utilizzato in medicina come trattamento specifico per il tumore al seno.

Nelle terapie a base di ormoni possono essere usati dei loro antagonisti, che permettono di bloccare l'azione. L'aromatasi è l'enzima responsabile della sintesi degli estrogeni, la cui concentrazione è maggiore nel tessuto mammario. Gli inibitori di questo enzima bloccano la conversione degli androgeni in estrogeni e, di conseguenza, rappresentano una strategia indiretta per ottenere un effetto antiestrogeno, rallentando in questo modo la proliferazione che porta all'insorgenza del tumore.

Il letrozolo è un derivato sintetico achirale non steroideo del benzidritriazolo, molto selettivo nei confronti dell'aromatasi, con una potenza del 99,9%, in grado di inibire l'azione dell'enzima riducendo le concentrazioni di estradiolo, estrone ed estrone solfato nelle donne in postmenopausa.

1. Introduzione

1.1 Il tumore al seno, fattori di rischio e prevenzione

Il cancro è una malattia che comporta una proliferazione anomala di alcune cellule dell'organismo, con il rischio che queste possano diffondersi in altre parti del corpo. Le cellule cancerose si formano in seguito alla perdita dei normali meccanismi di controllo che regolano crescita e proliferazione; questo porta ad una crescita incontrollata, come rappresentato in Figura 1.

Un tumore si definisce benigno quando le cellule che lo costituiscono si moltiplicano più del dovuto, conservando però le caratteristiche del tessuto di origine e rimanendo confinate nell'organo da cui sono state originate. Inoltre, il tumore benigno non va incontro a metastasi, un processo di invasione di organi circostanti che invece può essere riscontrato nel caso di tumore maligno, dove le cellule acquisiscono capacità diverse trasformandosi e, in alcuni casi, tendono a migrare intaccando altri organi. [1]

La maggioranza dei tumori deriva da una cellula cancerosa progenitrice che, dividendosi, porta alla formazione di un tumore di cellule uguali; le caratteristiche che rendono maligna la cellula vengono ereditate nel processo di divisione cellulare in modo stabile. [2]

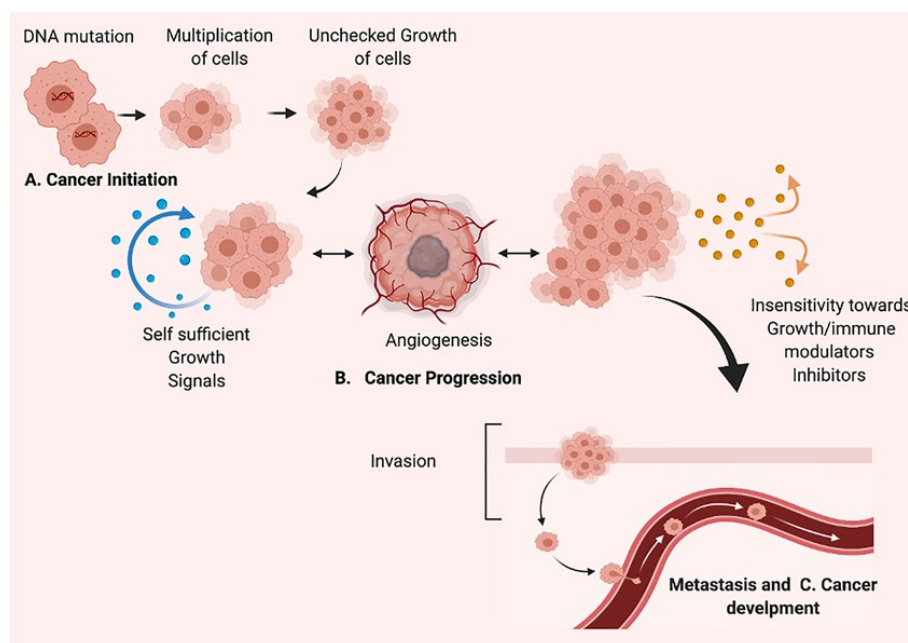


Figura 1: processo di sviluppo del cancro.

Queste alterazioni possono essere causate dal fumo, dall'alimentazione, dall'ambiente, dai virus o da mutazioni di oncosoppressori e proto-oncogeni, illustrati in Figura 2. Gli oncosoppressori

sono geni che regolano l'apoptosi, cioè la morte indotta della cellula finalizzata ad eliminare le cellule difettose; se questi geni subiscono mutazioni, possono essere soppressi con la conseguenza che la cellula difettosa non viene eliminata ma si replica. I proto-oncogeni, invece, sono geni che normalmente codificano per proteine coinvolte nel controllo della divisione e del differenziamento cellulare, se questi sono mutati si altera la loro normale funzione e la cellula può trasformarsi in una cellula cancerosa. Il proto-oncogene mutato viene quindi definito oncogene attivo, le mutazioni che possono causare questa conversione tipicamente sono:

- mutazioni strutturali, che stabiliscono l'attività costitutiva di una proteina senza un segnale in entrata
- mutazioni regolatorie, che inducono la produzione della proteina nel luogo o nel momento sbagliato

In entrambi i casi, comunque, si ha un segnale di crescita interno persistente senza stimoli esterni. [2]

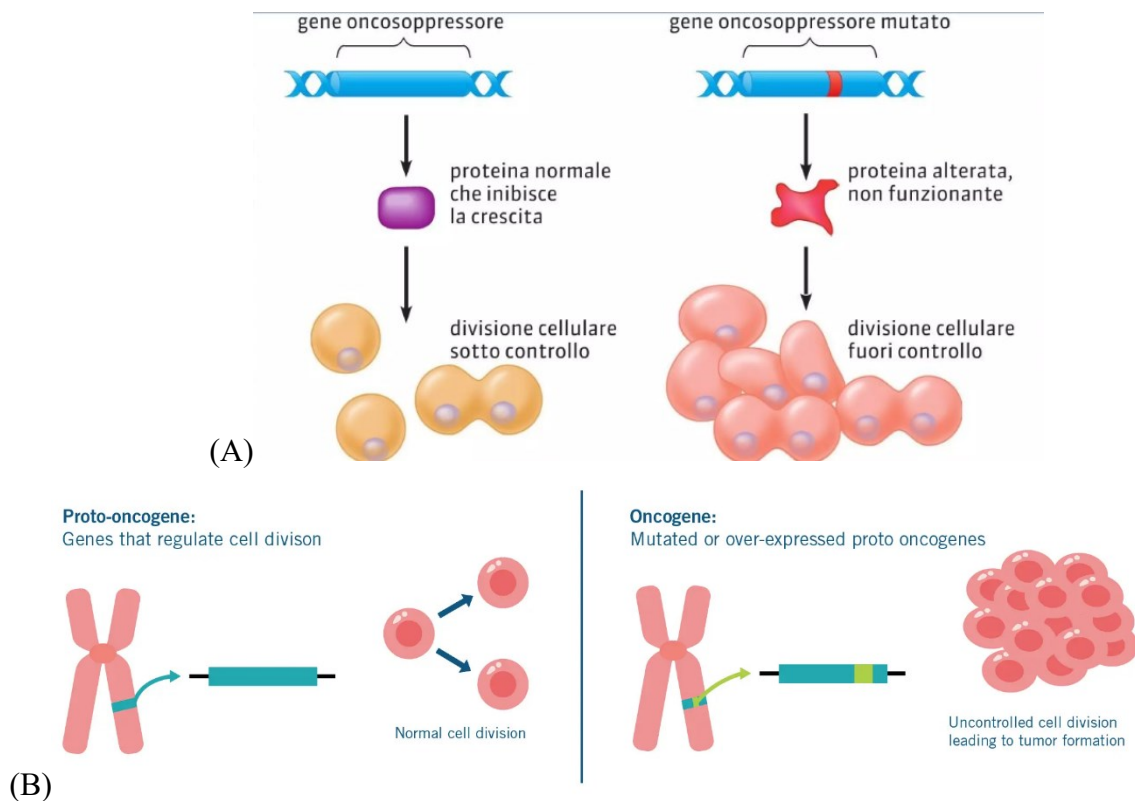


Figura 2: entrambe le immagini mostrano come la mutazione dell'oncosoppressore (A) e del proto-oncogene (B) portino ad una divisione cellulare incontrollata.

Procedendo con le ricerche, ho approfondito altri aspetti riguardanti il tumore al seno, come la sua incidenza a livello globale. Questa neoplasia risulta essere la più diffusa tra le donne e la principale causa di morte per cancro. La maggior parte dei tumori al seno viene diagnosticata nelle donne in età avanzata, quindi oltre i 50 anni. Considerando i tassi di incidenza e di

mortalità, si può notare come questi variano in base alla zona geografica: risultano più elevati in Paesi più sviluppati (Nord America e Nord Europa), e minori nei paesi meno sviluppati (Estremo Oriente, Africa e Sud America). Un'eccezione è data dal Giappone in quanto, nonostante sia un Paese altamente sviluppato, presenta bassi tassi di cancro al seno, come mostrato in Figura 3.

Queste differenze tra le diverse zone del mondo indicano importanti differenze nello stile di vita, nei fattori ambientali, nella suscettibilità genetica e nell'attività di screening mammografico tra i vari Paesi. [3]

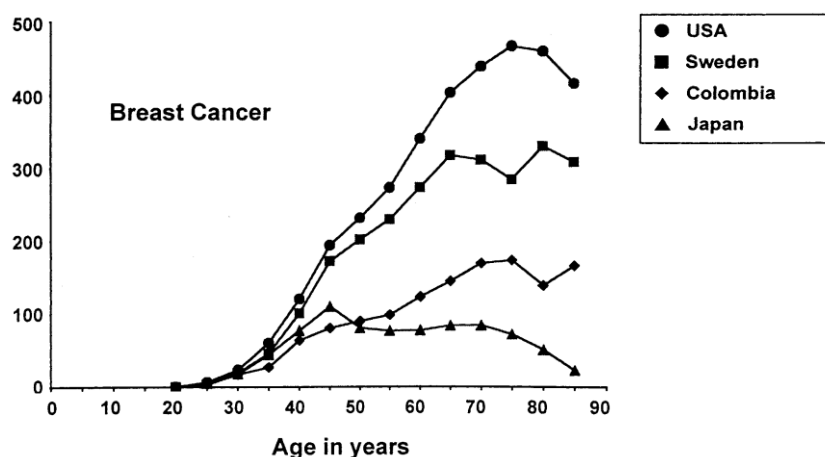


Figura 3: Grafico riportante i tassi di incidenza del cancro al seno corretti per età, 1988-1992, in quattro Paesi: Stati Uniti, Svezia, Colombia e Giappone. [3]

Valutando poi i fattori di rischio per questo tipo di tumore, ho potuto verificare che ne esistono diversi di consolidati, mentre alcuni sono ancora in fase di studio. La tabella riportata in Figura 4 presenta i fattori accertati, organizzati in categorie in base all'entità dei loro effetti.

Factor	High-risk group	Low-risk group	<i>Hormonal</i>	Relative risk 1.1–2.0	
			Age at first full-term pregnancy	> 30 years	< 20 years
			Age at menarche	< 12 years	> 14 years
			Age at menopause	> 55 years	< 45 years
			Obesity	Obese	Thin
			(postmenopausal)		
			Parity	Nulliparous	Multiparous
			(postmenopausal)		
			Lactation	None	Several years
			(premenopausal)		
			Hormonal contraceptives recent use	Yes	No
			Hormone replacement therapy recent and long-term use	Yes	No
			<i>Other</i>		
			Height	Tall	Short
			History of primary cancer in endometrium, ovary, or colon	Yes	No
			Alcohol consumption	Yes	No
			Socio-economic status	High	Low
			Religion	Jewish	Seventh Day Adventist, Mormon
Gender	Relative risk > 4.0 Female	Male			
Age	Old	Young			
Country of birth	North America Northern Europe	Asia, Africa			
BRCA1/2	Yes	No			
Two first-degree relatives with breast cancer diagnosed at an early age	Yes	No			
History of cancer in one breast	Yes	No			
Mammographic density (postmenopausal)	75% of breast dense	< 5% dense			
	Relative risk 2.1–4.0				
One first-degree relative with breast cancer	Yes	No			
Biopsy-confirmed atypical hyperplasia	Yes	No			
High-dose radiation to chest	Yes	No			
Oophorectomy before age 35	No	Yes			
Bone density (postmenopausal)	High	Low			

Figura 4: Tabella con i fattori di rischio accertati per il cancro al seno. [3]

L'ereditarietà familiare rappresenta uno dei fattori di rischio più consolidati; infatti, una donna con una madre o con una sorella che ha sviluppato il cancro al seno presenta un rischio da due a tre volte maggiore di sviluppare a sua volta questa malattia. È stimato che il 7% dei casi di neoplasia alla mammella sia dovuto a geni ereditari, inoltre, la presenza di più parenti affetti aumenta ulteriormente il rischio. [3]

Un ulteriore rischio è la densità mammografica; alcuni studi hanno potuto dimostrare che le donne in postmenopausa con una percentuale alta di densità, hanno un rischio fino a quattro volte maggiore di sviluppare un cancro rispetto a donne con percentuali di densità inferiori.

Anche la densità ossea viene considerata un fattore di rischio quando raggiunge livelli elevati nelle donne in postmenopausa; questo è dato dal fatto che gli estrogeni hanno la funzione di aiutare a conservare la massa ossea, si può dedurre quindi che la densità ossea e il rischio di tumore al seno siano collegati in funzione alla quantità di estrogeni disponibili per i tessuti bersaglio. [3]

Un aspetto indispensabile da considerare nello studio del tumore al seno è la prevenzione, fondamentale per ridurre l'incidenza di questa neoplasia che risulta essere la più frequente nelle donne in tutte le fasce di età. In questo paragrafo saranno analizzate le azioni di prevenzione primaria e secondaria che si possono attuare per ridurre il rischio di sviluppare questa malattia.

Come prevenzione primaria si intendono tutti i comportamenti che possono essere modificati o tenuti sotto controllo per seguire uno stile di vita salutare, alcuni di questi sono:

- Modifica della dieta. L'obesità rappresenta un rischio per molti tumori, tra cui quello al seno; per quest'ultimo nello specifico è associata ad un cancro negativo per i recettori degli estrogeni (HR-) in premenopausa e di cancro al seno triplo negativo. Un'alimentazione sana ed equilibrata aiuta quindi a prevenire diverse malattie, tra cui il tumore. [4]
- Esercizio fisico. Nella maggior parte delle pazienti con tumore al seno l'attività fisica migliora il benessere fisiologico e psicologico; una meta-analisi di studi prospettici ha valutato l'associazione tra il rischio di contrarre la malattia e l'esercizio fisico, dimostrando una riduzione del rischio del 12% per gli individui fisicamente attivi. [4]
- Fumo e alcol. Il consumo di tabacco in generale è una delle principali cause di cancro, anche l'alcol aumenta il rischio di contrarre questa malattia del 20% nelle donne che lo consumano quotidianamente; una diminuzione o eliminazione di questi comportamenti riduce la possibilità di insorgenza di questa malattia. [4]
- Uso di ormoni. L'uso di anticoncezionali ormonali come la pillola può ridurre il rischio di tumore ovarico ma comporta un lievissimo incremento del rischio di tumore al seno. [5]
- Gravidanza. Dal momento che durante la gravidanza la produzione di estrogeni viene momentaneamente bloccata, si ha un effetto protettivo verso il rischio di tumore al seno. [5]

La prevenzione secondaria, invece, si concentra sulla diagnosi precoce attraverso una serie di esami specifici; tra questi ci sono:

- Autopalpazione. È il primo strumento di prevenzione che ogni donna può effettuare a casa e permette di individuare dei cambiamenti nelle mammelle; comprende una prima fase di osservazione, per vedere se sono presenti mutazioni nella forma del seno o nel capezzolo, e una seconda fase di palpazione per rilevare l'eventuale presenza di noduli. Questo tipo di esame andrebbe effettuato mensilmente tra il settimo e il quattordicesimo giorno del ciclo.
- Visita senologica. Consiste in un esame completo al seno preceduto da un'anamnesi, necessaria per raccogliere informazioni utili per la diagnosi, e successivamente un esame che prevede osservazione e palpazione; questa visita è consigliata principalmente per le donne dopo i 40 anni mentre dopo i 50 si raccomanda anche una mammografia.
- Mammografia. Si tratta di una radiografia del seno che utilizza una dose molto bassa di radiazioni per evidenziare eventuali calcificazioni, noduli o anomalie che richiedono

indagini. Questo esame, considerato uno screening, è raccomandato a tutte le donne di età compresa tra i 50-69 ogni due anni, salvo eccezioni specifiche; per le donne sotto ai 40 anni, invece, la mammografia non è indicata a causa dell'alta densità del tessuto mammario.

- Esami strumentali. Un primo esame per una diagnosi precoce è la mammografia al quale si aggiungono ecografia e risonanza magnetica. Tra i 20 e i 40 anni il controllo viene solitamente svolto dal ginecologo tranne in casi specifici, ad esempio in casi di familiarità, dove si può approfondire con un'ecografia o una biopsia (agoaspirato); tra i 40 e i 50 anni alla mammografia può essere associata un'ecografia.
- Ecografia mammaria. È un esame veloce e indolore che prevede l'uso di radiazioni emesse da una sonda ad ultrasuoni in grado di analizzare la densità del tessuto mammario, è infatti molto utile nel caso un seno giovane.
- Test genetici. Sono stati sviluppati dei test genetici capaci di fornire una stima più accurata sul rischio di insorgenza di tumore al seno in base al profilo genetico, è stato infatti rilevato che le donne con una storia familiare di tumore al seno presentano un rischio maggiore di sviluppare la patologia. Dopo aver valutato la necessità del test tramite un colloquio con un genetista o un oncologo, si esegue un prelievo di sangue per l'estrazione del DNA da analizzare; i risultati del test possono essere positivi o negativi e indicano se è stata identificata o no la mutazione, se essa è stata ereditata non c'è la certezza di contrarre la malattia ma il rischio è maggiore. ^[5]

1.2 Alterazioni ormonali nel tumore al seno

Un aspetto importante da considerare nello studio del tumore al seno è la classificazione delle diverse tipologie con le quali esso può presentarsi, fondamentale per la diagnosi e per il trattamento.

Una prima suddivisione va fatta tra i tumori non invasivi e quelli invasivi; per i primi si tratta di cellule anormali che rimangono confinate nella zona del seno in cui si formano, non sono i più pericolosi ma se non trattati possono diventare invasivi e quindi pericolosi, in questa categoria rientrano:

- Carcinoma duttale in situ: è il più comune ed ha inizio nelle cellule che rivestono i dotti lattiferi della mammella.
- Carcinoma lobulare in situ: ha inizio nelle cellule che rivestono i lobuli del seno, le ghiandole responsabili della produzione di latte.

I tumori invasivi invece, a differenza di quelli non invasivi, possono lasciare il loro sito di origine invadendo il tessuto mammario, i linfonodi e anche organi distanti, inducendo così un

processo di metastasi. I tumori invasivi sono classificati in base alle caratteristiche che presentano:

- Carcinoma duttale invasivo. È il più comune, con un'incidenza del 70-80% nelle donne, ha origine nei dotti del seno e comporta la formazione di una massa dura nella mammella; il trattamento dipende dallo stadio a cui è avvenuta la diagnosi e dalle caratteristiche molecolari.
- Carcinoma lobulare invasivo. Rappresenta il 10-15% delle diagnosi, ha origine nei lobuli del seno e non si presenta sotto forma di grumi ma di linee.
- HER2-positivo. La proteina del recettore 2 del fattore di crescita epidermico umano (HER, Human Epidermal Growth Factor Receptor) è necessaria nell'aiuto della crescita e della riparazione delle cellule, mutazioni di questo gene portano alla sovrapproduzione della proteina HER2 che causa a sua volta una crescita eccessiva delle cellule del cancro al seno.
- Triplo negativo. Questo tipo di cancro risulta negativo per i tre recettori principali coinvolti in questo tipo di tumore (estrogeni, progesterone e HER2).
- HR-positivo. Il tumore può risultare positivo al recettore degli estrogeni e/o a quello del progesterone, si parla in generale di tumore positivo ai recettori ormonali (HR, hormone receptors).

Ci sono poi altri tipi di tumore che sono però più rari come:

- Cancro al seno infiammatorio. Implica solitamente un gonfiore al seno, fossette cutanee e/o decolorazioni del seno.
- Carcinoma metaplastico. La biologia di questo tumore presenta pochi studi, sembra assomigliare a tumori invasivi.
- Angiosarcoma. Ha origine nei vasi sanguigni della mammella e nei linfonodi.
- Malattia di Paget. Insorge nel capezzolo o nell'areola, si può spesso trovare sotto forma di carcinoma duttale o cancro al seno invasivo.

In generale il cancro al seno invasivo è classificato in: locale quando interessa solo la mammella, regionale quando vengono coinvolti anche i linfonodi vicini e infine metastatico se si propaga in altre aree del corpo. ^[6]

Nello specifico andrò a considerare il cancro al seno HR-positivo, causato quindi da alterazioni ormonali. Gli ormoni sono considerati dei regolatori della crescita, della maturazione e della differenziazione cellulare, hanno un ruolo importante anche nel metabolismo; il loro ruolo sulla crescita e sulla progressione del tumore può essere diretto o indiretto. ^[7]

Gli ormoni chiave necessari nel sistema riproduttivo femminile per la progressione e la regolazione sono gli estrogeni, essi hanno un ruolo fondamentale anche nel sistema non riproduttivo. Insieme al progesterone, gli estrogeni sono ormoni ovarici femminili essenziali per regolare lo sviluppo e la funzione di un seno normale, alterazioni di questi ormoni possono comportare conseguenze critiche, come lo sviluppo del tumore al seno. Estrogeni e progesterone lavorano in modo coordinato nello sviluppo delle strutture duttali e nell'amplificazione dei lobuli dell'epitelio normale (strutture ghiandolari); queste funzioni risultano compromesse nello sviluppo della malattia. Entrambi gli ormoni, di conseguenza, si rivelano correlati all'aumento e alla progressione del tumore. ^[8]

Approfondendo in particolare il cancro al seno, ho potuto constatare che una grande percentuale di questi tumori è positiva ai recettori per gli ormoni steroidei, compresi i recettori per gli estrogeni (ER), per il progesterone (PR) e quelli per gli androgeni (AR). Questi tre recettori sono fondamentali per la maturazione sessuale e per la gestazione, sono inoltre riconosciuti come marcatori prognostici capaci di predire il corso della malattia e di distinguere quella con "prognosi favorevole" da quella con "prognosi sfavorevole". Circa il 70% dei tumori al seno esprime il recettore alfa degli estrogeni (ER α), esso appartiene ai recettori ormonali nucleari e per questo può essere attivato dagli estrogeni e può regolare l'espressione dei suoi geni bersaglio. In condizioni fisiologiche normali, i target dell'ER α svolgono ruoli importanti nella proliferazione e differenziazione cellulare durante la crescita e lo sviluppo, l'espressione di questo recettore è un fattore di rischio per il cancro al seno. ^[9]

1.3 Inibitori dell'aromatasi

Questo studio si concentrerà in particolare sulla terapia ormonale, impiegata nei casi di tumori maligni ormone-dipendenti.

Una cellula cancerosa può richiedere un ormone specifico, può essere quindi somministrata una piccola molecola con un effetto opposto, oppure possono essere impiegati degli antagonisti capaci di bloccare l'azione dell'ormone richiesto.

La terapia ormonale viene prescritta nei casi di tumori sensibili all'azione degli ormoni usati: tumore al seno HR positivo (caratterizzato dalla presenza di recettori ormonali, hormone receptors), tumore della prostata, dell'endometrio e dell'ovaio. Questo tipo di terapia può inoltre ridurre il rischio di recidiva, la probabilità, cioè, che il tumore si ripresenti in seguito ad altri trattamenti, oppure può contribuire alla riduzione di sintomi di malattie in fase avanzata.

Le classi di farmaci impiegate solitamente per neoplasie causate da alterazioni ormonali sono: modulatori selettivi dei recettori estrogenici che svolgono un'azione pro o anti-estrogenica, gli inibitori dell'aromatasi e gli analoghi agonisti (LHRH, ormone di rilascio dell'ormone

luteinizzante) o antagonisti che inibiscono la produzione di estrogeni da parte delle ovaie (con conseguente interruzione del ciclo mestruale). [1]

Considerando nello specifico i farmaci utilizzati nel trattamento di tumori maligni al seno estrogeno-dipendenti, vengono solitamente impiegati gli inibitori dell'aromatasi, capaci di bloccare l'enzima aromatasi impedendo così la produzione di estrogeni. [1]

L'aromatasi, mostrata in Figura 5, è un complesso enzimatico legato alla membrana cellulare e formato da due componenti: una è un citocromo aromatasi (P450arom) contenente l'eme, mentre l'altra è una proteina *partner redox* ossidoreduttasi (reduttasi) che utilizza NADPH (nicotinammide adenina dinucleotide fosfato, un coenzima che presenta due nucleotidi uniti con legame fosfoanidrico) come cofattore. L'aromatasi fa parte della famiglia dei citocromi, cioè le proteine che dipendono dal gruppo eme, e il suo nome biochimico è citocromo P450 19A.

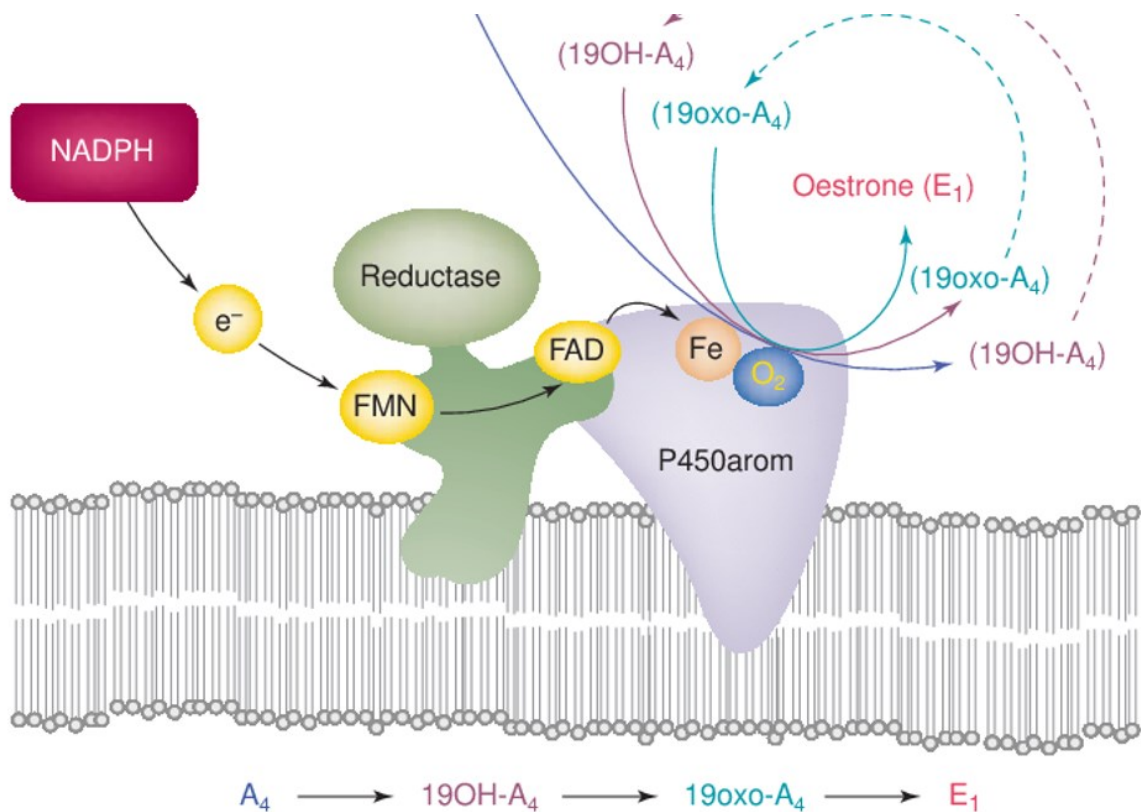


Figura 5: diagramma schematico della membrana microsomiale con il complesso enzimatico dell'aromatasi ancorato ad essa; sono riportati i tre cicli ossidativi necessari per la sintesi degli estrogeni.

Questo enzima catalizza l'ultimo passaggio della biosintesi degli estrogeni a partire dagli androgeni, nel quale si ha la formazione di un anello aromatico attraverso l'ossidazione e l'eliminazione di un gruppo metilico, come mostrato in Figura 6. [10]

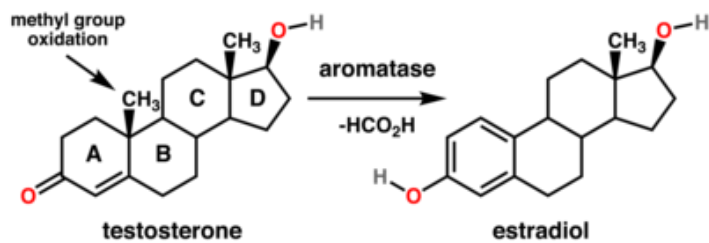


Figura 6: Reazione di formazione di un anello aromatico nel passaggio da testosterone a estradiolo, catalizzato da aromatasi.

Il citocromo P450 19A contiene un gruppo eme, un complesso che costituisce la parte non proteica dell'emoglobina composto da un atomo di ferro bivalente e una molecola di protoporfirina; sono inoltre presenti altre cromoproteine respiratorie con la funzione di trasporto dell'ossigeno. Questo citocromo è necessario per legare il substrato steroideo con l'ossigeno, e di conseguenza catalizza l'ossidazione. Dato che l'enzima ha il compito di catalizzare l'ultimo passaggio della sintesi, esso è stato visto come un bersaglio importante per la progettazione di farmaci antiestrogenici. ^[10]

Gli inibitori utilizzati possono essere di due tipi:

- Steroidei irreversibili: competono con i substrati endogeni per il sito attivo dell'enzima, nel quale agiscono come falsi substrati e vengono poi trasformati in intermedi che si legano al sito attivo, causando l'inibizione irreversibile dell'enzima.
- Non steroidei reversibili: anche questi inibitori competono per il sito attivo dell'enzima, dove però formano un legame di coordinazione con l'atomo di ferro del gruppo eme; questo legame è reversibile, di conseguenza, è possibile recuperare l'attività enzimatica una volta che l'inibitore viene rimosso.

Un esempio di inibitore irreversibile è l'exemestrane, mentre di inibitore reversibile è l'aminoglitetimide, rappresentati entrambi in Figura 7.

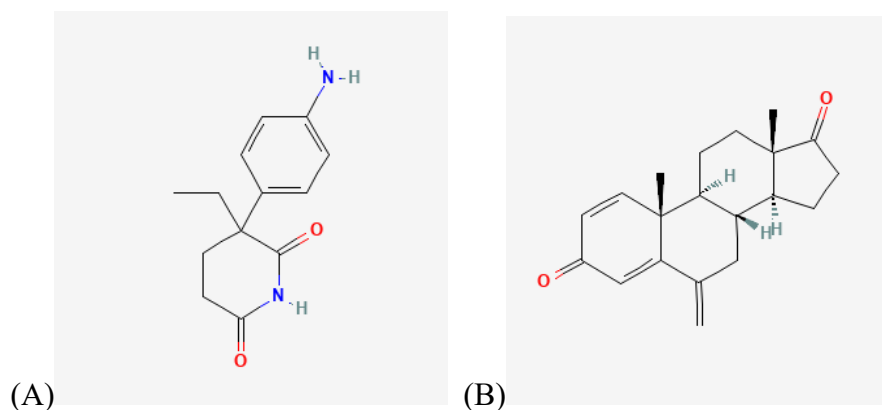


Figura 7: molecola di aminoglitetimide (A) e di exemestrane (B).

volontà di avere figli dopo le cure, in modo da preservarne la fertilità quando possibile. Alcuni trattamenti, infatti, inducono una menopausa precoce, che può essere reversibile, oppure danno la possibilità di crioconservazione degli ovociti, prelevandoli prima di iniziare le cure in modo da offrire la possibilità di procreazione assistita. ^[1]

La cura può essere prescritta prima dell'intervento chirurgico, in modo da ridurre le dimensioni della massa tumorale da asportare, o in un momento successivo così da contrastare un possibile ritorno della malattia (in questo caso la cura ha la durata di 5 anni). Può essere prescritta anche per una malattia diagnosticata in fase avanzata o quando si verifica una ricomparsa della stessa. La scelta di somministrare questi medicinali come prevenzione nelle donne sane, che possono presentare un rischio elevato di carcinoma mammario positivo, rimane invece una possibilità dibattuta.

La scelta della procedura migliore viene effettuata dal medico in base ai singoli casi. Nei tumori che presentano recettori ormonali positivi in fase precoce e in fase avanzata, la terapia ormonale è somministrata sotto forma di compresse da assumere una volta al giorno seguendo le direttive dell'oncologo.

In alcuni casi è necessario bloccare l'attività delle ovaie tramite ablazione ovarica, inducendo così una menopausa; questo viene solitamente fatto nelle donne che non sono ancora entrate in menopausa e per alcuni casi di tumore precoce o tumore in fase avanzata. Per fare ciò, ci sono diverse procedure possibili: asportazione chirurgica delle ovaie, radioterapia alle ovaie oppure iniezione di antagonisti LHRH, capaci di bloccare il rilascio dell'ormone responsabile della stimolazione dell'attività ovarica, inibendo la produzione di estrogeni. ^[1]

2. Scopo della tesi

La presente tesi ha l'obiettivo di esaminare il ruolo del letrozolo utilizzato come farmaco nella terapia ormonale per il trattamento del tumore al seno.

Sono state analizzate caratteristiche generali sulla malattia e sulla terapia ormonale; in particolare, sarà approfondita la cura ormonale con l'uso di inibitori dell'aromatasi, responsabili di bloccare l'enzima in modo tale da impedire la produzione di estrogeni e quindi la progressione della malattia.

Nello specifico, la ricerca si focalizza sulla molecola di letrozolo e sui suoi aspetti chimici, farmacologici e clinici, riportando la scoperta del farmaco e la sua sintesi, la farmacodinamica, la farmacocinetica e i diversi effetti collaterali che possono derivare dalla terapia con questo farmaco.

Inoltre, la tesi ha affrontato il tema della prevenzione del tumore al seno, esaminando le possibili strategie di prevenzione primaria e secondaria.

Attraverso questa ricerca si intende acquisire una maggiore comprensione del letrozolo come opzione terapeutica nella cura del tumore al seno.

3. Letrozolo

3.1 Sviluppo del letrozolo

Gli estrogeni sono gli ormoni responsabili della progressione del tumore al seno, di conseguenza una conoscenza più approfondita sul loro ruolo nell'insorgenza della malattia ha permesso lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche focalizzate sulla sintesi di questo ormone, sul recettore di quest'ultimo e sulle vie di segnalazione intracellulare.

Un bersaglio per l'inibizione selettiva è stato trovato nell'enzima aromatasi, responsabile di catalizzare l'ultima fase della biosintesi degli estrogeni. Gli inibitori dell'aromatasi (AI) di terza generazione sono in grado di bloccare la produzione di estrogeni in modo efficace ma senza comportare effetti sulle vie steroidogeniche. Il letrozolo è stato scoperto essere un AI altamente selettivo e potente, più di altri inibitori come anastrozolo, exemestane, formestane e aminoglutetimide. ^[11]

La ricerca di inibitori dell'aromatasi potenti e selettivi ha avuto inizio con l'aminoglutetimide, un inibitore di prima generazione che però non era selettivo nei confronti dell'aromatasi, inibendo la biosintesi di altri ormoni come cortisolo, ormone tiroideo e aldosterone. Il suo difetto, infatti, era quello di legarsi a vari enzimi del citocromo e di inibire diverse ossidrilazioni di steroidi, questo portava ad effetti collaterali indesiderati. ^[10]

La progettazione di farmaci basati sulla struttura di questo inibitore competitivo reversibile come prototipo ha condotto ad inibitori più selettivi, il fadrozolo è un esempio di inibitore di seconda generazione che risultava più efficace dell'aminoglutetimide in termini di selettività, potenza e sicurezza ma non ancora del tutto selettivo.

Per arrivare all'inibitore di terza generazione, è stata seguita una progettazione farmacologica basata su studi di relazione struttura-attività tra una serie di derivati benzil-azolici del fadrozolo. L'obiettivo di trovare un AI molto potente (con una potenza del 99%, come mostrato in Figura 9) e totalmente selettivo è stato raggiunto con la progettazione del letrozolo. ^[11]

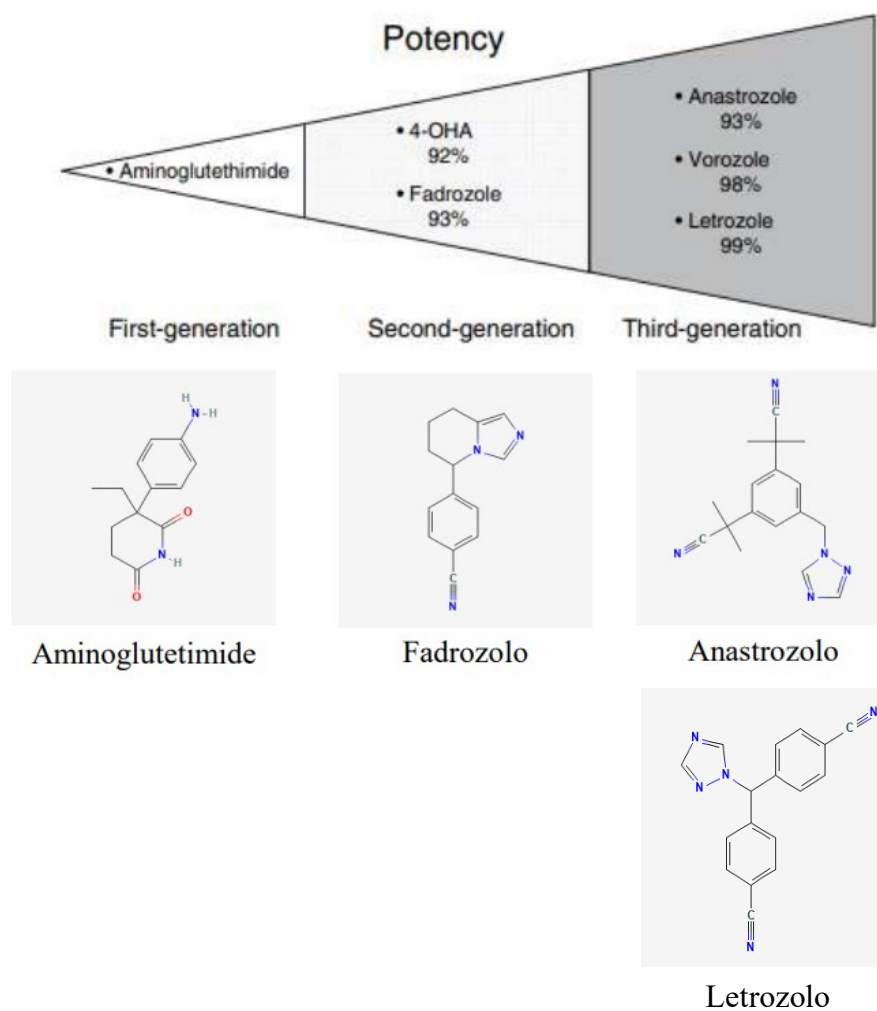


Figura 9: potenza degli inibitori di prima, seconda e terza generazione con alcune delle rispettive strutture molecolari. ^[11]

Questo composto è stato sviluppato tenendo conto del concetto medico-scientifico secondo il quale la massima soppressione degli estrogeni avrebbe portato alla massima soppressione del tumore.

La prima registrazione del letrozolo per il trattamento del carcinoma mammario è avvenuta in Francia a metà del 1966. Nello stesso anno, il farmaco ha ricevuto l'approvazione per il trattamento della malattia in stadio avanzato in Europa, mentre l'approvazione da parte delle autorità statunitensi è stata ottenuta un anno dopo. Nel 2001, è stato lanciato per la prima volta come trattamento di prima linea per il tumore al seno avanzato e in fase neoadiuvante; successivamente, il letrozolo ha ottenuto l'approvazione per il trattamento adiuvante esteso e, più recentemente, per quello precoce. ^[12]

3.2 Sintesi del letrozolo

La sintesi, rappresentata in Figura 10, inizia con l'alchilazione dell'1,2,4-triazolo con l' α -bromometil-p-tolunitrile in acetone in presenza di carbonato di potassio e ioduro di potassio per ottenere il benzonitrile. Questo viene poi deprotonato con potassio-terz-butossido e fatto reagire con 4-fluorobenzonitrile per fornire letrozolo, $C_{17}H_{11}N_5$, con nome IUPAC 4-[(4-cianofenil)-(1,2,4-triazol-1-il)metil]benzonitrile. Entrambi i passaggi della reazione avvengono a temperatura ambiente. ^[13]

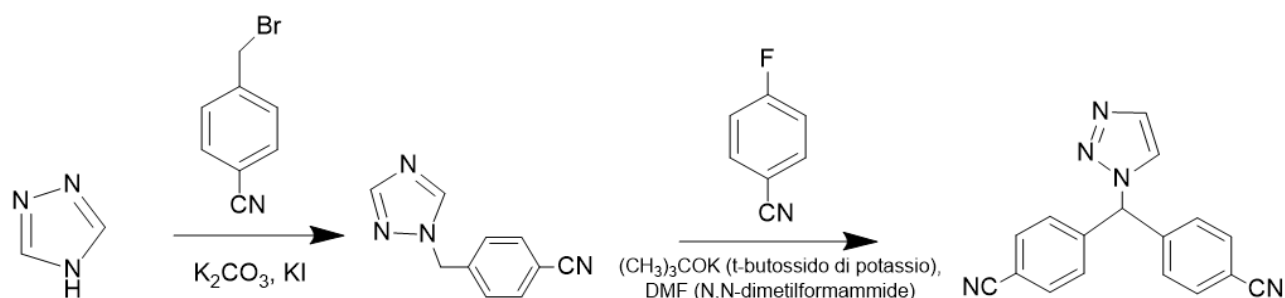


Figura 10: schema delle sintesi che mostra come si arriva alla molecola di letrozolo.

Il letrozolo si trova sotto forma di polvere cristallina bianca/gialla, praticamente inodore, solubile in diclorometano, parzialmente solubile in etanolo e praticamente insolubile in acqua. Ha un peso molecolare di 285,31 g/mol e un intervallo di fusione tra 184°C e 185°C. Il principio attivo, la cui forma farmaceutica è riportata in Figura 11, si trova in compresse da 2,5 mg per la somministrazione orale. ^[14]



Figura 11: forma farmaceutica del letrozolo.

3.3 Farmacodinamica

La farmacodinamica si occupa dello studio dei meccanismi d'azione dei farmaci e della loro diretta interazione con il bersaglio.

Il letrozolo è un inibitore competitivo non steroideo dell'enzima aromatasi, inibisce quindi la conversione degli androgeni in estrogeni. Le strutture che contengono azoto, come imidazoli e triazoli, si legano al ferro del gruppo eme presente nel citocromo CYP-450 dell'enzima, mentre la parte cianobenzilica che si trova negli inibitori dell'aromatasi come i letrozolo, imita in parte la struttura steroidea del substrato naturale dell'enzima (l'androstenedione); questo meccanismo d'azione è rappresentato in Figura 12. [12]

La conseguenza è una riduzione della biosintesi degli estrogeni in tutti i tessuti. Il trattamento con questo farmaco riduce in modo significativo l'estrone, l'estradiolo e l'estrone solfato e inoltre non influenza la sintesi dei corticosteroidi surrenali, dell'aldosterone o degli ormoni tiroidei. [15]

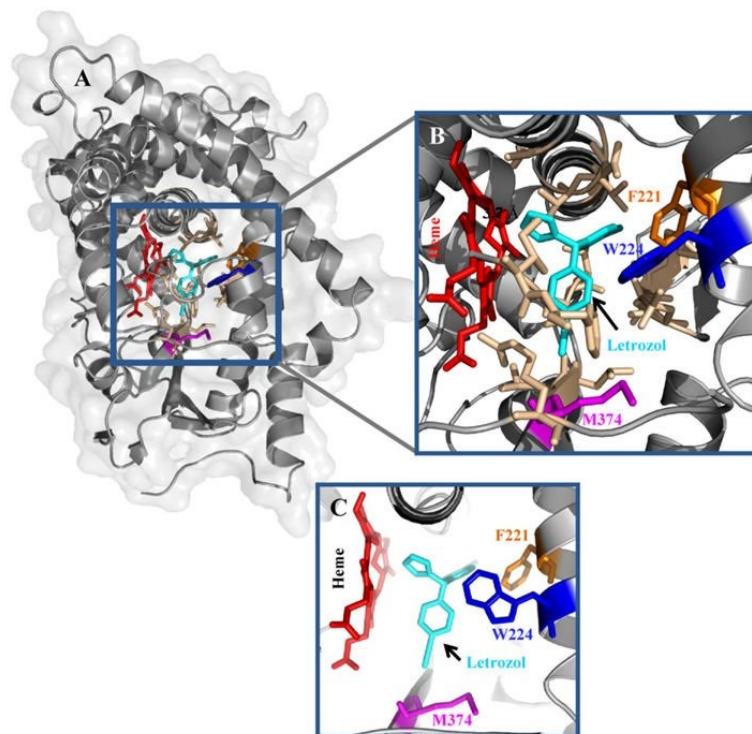


Figura 12: modello di interazione tra letrozolo e il gruppo eme dell'aromatasi.

3.4 Farmacocinetica

La farmacocinetica è lo studio dei processi attraverso i quali un farmaco viene assorbito, distribuito, metabolizzato ed eliminato dal corpo.

Il letrozolo è un farmaco che viene somministrato per via orale ed è velocemente ed interamente assorbito dal corpo. L'assorbimento del farmaco da parte del tratto gastrointestinale è istantaneo

e non è influenzato dal cibo consumato; questo processo avviene entro 1 ora e ha un'emivita di circa 48 ore.

La biodisponibilità del letrozolo è circa del 99,9%, poiché esso non subisce l'eliminazione di primo passaggio, ovvero il processo attraverso il fegato nel quale il farmaco viene assorbito e metabolizzato. Quasi il 60% della dose somministrata (2,5 mg), distribuendosi nei tessuti, si lega debolmente alle proteine plasmatiche (soprattutto all'albumina) così da raggiungere una concentrazione plasmatica massima di 107 nmol/L e un volume di distribuzione di ~1,9 L/kg. Con la somministrazione giornaliera di 2,5 mg, la concentrazione plasmatica allo stato stazionario viene raggiunta in 2-6 settimane.

La via di clearance, quindi la via di eliminazione, per questo farmaco avviene principalmente attraverso gli isoenzimi CYP-450 e prevede la biotrasformazione del letrozolo in un metabolita inattivo (4,4'-metanolo-benzonitrile), il cui coniugato glucuronide è escreto tramite la via renale. L'emivita dell'eliminazione è stata calcolata essere di $35,7 \pm 18,6$ ore.

Inoltre, uno studio condotto su donne in postmenopausa con età comprese tra i 50 e i 70 anni, ha dimostrato che i parametri relativi alla farmacocinetica e farmacodinamica del letrozolo non sono influenzati dall'età. ^[16]

3.5 Efficacia ed effetti collaterali

Dosi giornaliere di letrozolo (da 0,1 mg a 5 mg) sopprimono le concentrazioni plasmatiche di estradiolo, estrone ed estrone solfato dal 75% al 95% rispetto ai livelli base. Non si sono osservati cambiamenti nelle concentrazioni plasmatiche degli androgeni (androstenedione e testosterone) tra le donne sane in postmenopausa, o nelle concentrazioni plasmatiche di androstenedione tra le pazienti in postmenopausa trattate con dosi giornaliere da 0,1 mg a 5 mg. Questo indica che la soppressione della biosintesi degli estrogeni non porta all'accumulo di precursori androgenici. I livelli plasmatici di LH (ormone luteinizzante) e FSH (ormone follicolo-stimolante) non sono stati influenzati dal letrozolo nelle pazienti, così come la funzione tiroidea valutata dai livelli di TSH (ormone stimolante la tiroide). ^[14]

Per quanto riguarda gli effetti collaterali, il letrozolo risulta avere una buona tollerabilità; i più comuni sono risultati essere: ^[15]

- vampate di calore (5-20%)
- nausea (5-11%)
- cefalea (7-11%)
- affaticamento (5%)

- edema periferico (6%)
- dispnea (10%)
- mal di schiena (15%)

Altri effetti collaterali comuni e più gravi che possono essere riscontrati con la somministrazione di letrozolo sono i seguenti:

- Diminuzione della densità minerale ossea (BMD). È stata riconosciuta una correlazione tra gli ormoni sessuali steroidei e la formazione ossea; gli estrogeni hanno effetti pleiotropici diretti o indiretti sugli osteoblasti e gli osteoclasti che favoriscono la formazione ossea. Di conseguenza la privazione di estrogeni dovuta alla menopausa aumenta l'attività degli osteoclasti portando ad uno squilibrio nella formazione ossea che a sua volta causa una diminuzione della qualità dell'osso. Poiché il letrozolo ha lo scopo di inibire la conversione di androgeni in estrogeni, porta anche ad un abbassamento del livello di estrogeni in circolo nelle donne con tumore al seno in postmenopausa. È stato stimato che il tasso di perdita ossea correlato al trattamento con questo farmaco, dopo la menopausa, sia del 2%. Uno studio clinico del 2022 ha inoltre riportato che dopo 2 anni di trattamento, si è riscontrato un tasso di fratture del 4% circa. Pertanto, le donne che già presentano una bassa BMD hanno una maggiore rischio di fratture. Questa complicanza può essere gestita tramite una terapia con bifosfato (per via orale o endovenosa) che è in grado di bloccare l'attività degli osteoclasti, riducendo così il rischio di fratture. ^[16]
- Tossicità embio-fetale. Il letrozolo può causare danni al feto ed è per questo controindicato per le donne in gravidanza; è stato inoltre segnalato che l'uso del farmaco durante la gravidanza ha portato a casi di aborto spontaneo e difetti congeniti alla nascita. ^[16]
- Alti livelli di colesterolo. Uno studio adiuvante ha riscontrato livelli di colesterolo elevati per le donne che assumevano letrozolo, è stata riscontrata una percentuale di ipercolesterolemia del 52,3% delle pazienti trattate con questo farmaco. ^[14]

Effetti collaterali meno comuni ma comunque gravi che sono stati rilevati sono i seguenti:

- Tossicità ovarica. La somministrazione di letrozolo blocca, come precedentemente detto, la conversione degli estrogeni e questo porta ad alti livelli di androgeni. Una durata maggiore di esposizione a questi ormoni può

causare lo sviluppo del fenotipo metabolico della PCOS (sindrome dell'ovaio policistico), che porta ad uno squilibrio endocrino e ormonale oltre ad altri disturbi metabolici. L'ovaio policistico si forma in seguito ad elevati livelli di glucosio nel sangue ed eccesso di androgeni intraovarici. [16]

- Compromissione epatica. È stato riportato che il letrozolo, quando somministrato per un lungo periodo, provoca gravi danni al fegato causati da un innalzamento dei livelli degli enzimi epatici. L'uso di questo farmaco può inoltre causare danni alla vena centrale del fegato a causa del danneggiamento dello stato delle cellule endoteliali. [16]
- Tossicità cardiovascolare. In condizioni fisiologiche, gli estrogeni svolgono un ruolo protettivo sul sistema cardiovascolare regolando i livelli di lipidi plasmatici, la coagulazione e il rischio di malattie cardiovascolari; quindi, la riduzione dei livelli di estrogeni plasmatici, causata dal trattamento con letrozolo, porta ad un aumento dei livelli lipidici. [16]
- Tossicità renale. Non è molto comune per pazienti trattate con questo farmaco, ma sono presenti degli studi del 2022 che hanno riscontrato dei malfunzionamenti renali e alterazioni biochimiche, questi sono stati associati ad un uso prolungato di letrozolo. [16]

Tutti questi effetti collaterali, più e meno comuni, sono riportati schematicamente insieme in Figura 13.

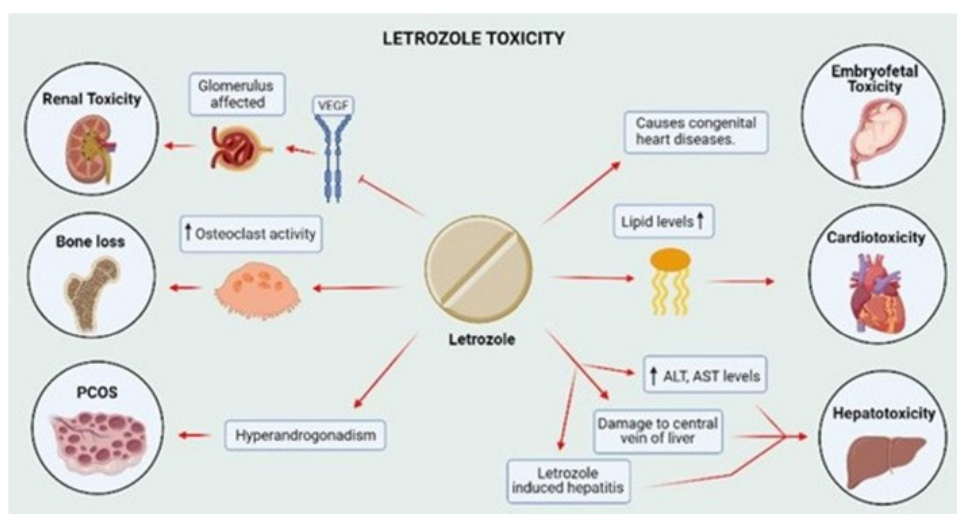


Figura 13: immagine che riassume le diverse tossicità riscontrate a seguito della somministrazione di letrozolo.

4. Conclusioni

Per concludere, il letrozolo si è dimostrato un inibitore dell'aromatasi altamente efficace e selettivo nel trattamento del tumore al seno positivo ai recettori ormonali.

Il tumore al seno resta una delle principali cause di mortalità tra le donne. Una comprensione approfondita del ruolo degli ormoni nella crescita tumorale ha portato allo sviluppo di terapie mirate che bloccano la sintesi di questi ormoni o ne impediscono l'azione.

Tra i trattamenti più efficaci, sono stati riconosciuti quelli con gli inibitori dell'aromatasi, come il letrozolo, che rappresentano una svolta nella cura del tumore al seno HR-positivo, soprattutto nelle pazienti in postmenopausa. Il letrozolo agisce bloccando la produzione di estrogeni, contribuendo così a rallentare la crescita tumorale; grazie alla sua elevata selettività, questo farmaco riduce il rischio di effetti collaterali rispetto a terapie meno specifiche e si è dimostrato molto efficace sia nel ridurre la progressione della malattia, sia nel prevenire recidive in pazienti trattate per carcinoma mammario avanzato.

Nonostante i benefici, l'uso del letrozolo può comportare effetti indesiderati, più o meno gravi. È importante, quindi, un monitoraggio costante per limitare i rischi a lungo termine.

In definitiva, il letrozolo rappresenta un progresso importante nella lotta contro il tumore al seno HR-positivo, migliorando le possibilità di cura e la qualità della vita delle pazienti. Questo sviluppo rappresenta un esempio di come la ricerca scientifica e farmacologica svolga il proprio lavoro, allo scopo di fornire trattamenti sempre più selettivi e personalizzati per affrontare il cancro in maniera mirata ed efficace.

Infine, bisogna considerare il ruolo fondamentale che riveste la prevenzione nell'insorgenza dei tumori in generale, permette infatti di ridurre in modo significativo il rischio di sviluppare questa malattia. Pertanto, prendersi cura della propria salute attraverso uno stile di vita sano, effettuare controlli periodici ed informarsi adeguatamente, sono azioni essenziali per prevenire l'insorgenza della patologia e mantenere un buon livello di salute generale.

Bibliografia

[1]: <https://www.airc.it/cancro/affronta-la-malattia/guida-alle-terapie/la-terapia-ormonale-dei-tumori>

Ultimo accesso: 20.08.2024

[2]: J. Lynne Williams. *Malignancy: An Evolving Definition of a Cancer Cell*. **2002**, 15(1), 37-43

<https://clsjournal.ascls.org/content/15/1/37>

[3]: Barbara S. Hulka, Patricia G. Moorman. *Breast cancer: hormones and other risk factors*. **2001**, 38, 103-116

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378512200001961?via%3Dihub>

[4]: Edward R. Sauter. *Breast Cancer Prevention: Current Approaches and Future Directions*. **2018**, 14: 64-71

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29774312/>

[5]: <https://www.airc.it/cancro/prevenzione-tumore/prevenzione-donna/seno-autopalpazione-visita-senologica>

Ultimo accesso: 25.10.2024

[6]: <https://www.bcrf.org/blog/types-of-breast-cancer/>

Ultimo accesso: 29.10.2024

[7]: A. Reznikov. *Hormonal impact on tumor growth and progression*. **2015**, 37(3), 162–172

<http://dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/145483>

[8]: K. Al-Shami, S. Awadi, A. Khamees, A. M. Alsheikh, S. Al-Sharif, R. Bereshy, S. F. Al-Eitan, S. H. Banikhaled, A. R. Al-Qudimat, R. M. Al-Zoubi, M. S. Al Zoubi. *Estrogens and the risk of breast cancer: A narrative review of literature*. **2023**, 9, 1-20

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10559995/>

[9]: Xiaofei Wang, Da Yang. *The regulation of RNA metabolism in hormone signaling and breast cancer*. **2021**, 529, 1-6.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0303720721000654#:~:text=The%20hormone%20receptors%20in%20breast,RNA%20binding%20proteins%2C%20miRNAs%20and%20lncRNAs.&text=RNA%2Dbinding%20proteins%20and%20miRNAs,of%20resistance%20to%20hormone%20therapy>.

[10]: Patrick, Graham L. *An introduction to medicinal chemistry*; Oxford University Press (2013).

[11]: Ajay S. Bhatnagar. *The discovery and mechanism of action of letrozole*. **2007**, 105:7–17

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17912633/>

[12]: Ajay S. Bhatnagar. *The early days of letrozole*. **2007**, 105:3–5

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17912632/>

[13]: Paul M. Wood, L.W. Lawrence Woo, Anna Humphreys, Surinder K. Chander, Atul Purohit, Michael J. Reed, Barry V.L. Potter. *A letrozole-based dual aromatase–sulphatase inhibitor with in vivo activity*. **2005**, 94, 123–130

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960076004004443?via%3Dihub>

[14]: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2014/020726s027lbl.pdf

Ultimo accesso: 17.10.2024

[15]: Dene Simpson, Monique P. Curran and Caroline M. Perry. *Letrozole A Review of its Use in Postmenopausal Women with Breast Cancer*. **2004**, 64 (11): 1213-1230

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15161328/>

[16]: Anirban Goutam Mukherjee, Uddesh Ramesh Wanjari, Dhanushya Nagarajan, Vibhaa K K, Anagha V., Joshua Paul P., Tharani Priya T., Rituraj Chakraborty, Kaviyarasi Renu, Abhijit Dey, Balachandar Vellingiri, Abilash Valsala Gopalakrishnan. *Letrozole: Pharmacology, toxicity and potential therapeutic effects*. **2022**, (121074) 1-11

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320522007743?ref=pdf_download&fr=RR-2&rr=8d62829bfb475237