

Índice

| | |
|--|-----------|
| Resumo | 3 |
| Abstract | 4 |
| Introdução | 6 |
| Objectivos | 8 |
| Desenvolvimento | 9 |
| Fisiopatologia da Metastização Óssea do Cancro da Próstata: | |
| “Da Próstata ao Osso” | 9 |
| A Invasão Local | 9 |
| A Disseminação Tumoral | 12 |
| A Localização Secundária | 13 |
| Actividade Osteoblástica Metastática | 16 |
| Actividade Osteoclástica Metastática | 17 |
| Prevenção da Metastização Óssea no Carcinoma da Próstata | 19 |
| Bisfosfonatos | 19 |
| Inibição do eixo RANK/RANKL | 23 |
| Inibição dos Factores de Crescimento Derivados do Osso | 24 |

| | |
|---|-----------|
| Inibidores da Angiogénese | 26 |
| O Receptor do Factor de Crescimento Epidérmico como alvo | 27 |
| Antagonistas da Endotelina | 28 |
| Fármacos Antineoplásicos | 29 |
| Antineoplásicos Inibidores da Família das Sarcoma Quinases | 31 |
| Análogos da Vitamina D | 32 |
| Terapêutica Genética | 33 |
| Outras Abordagens Terapêuticas | 34 |
| Conclusão | 39 |
| Bibliografia | 40 |

Resumo

O carcinoma da próstata é um tumor altamente prevalente na maioria dos países ocidentalizados, sendo considerada a neoplasia mais frequente no homem e a terceira causa de morte por cancro, e tende a metastizar preferencialmente para o tecido ósseo. Enquanto na sua forma localizada se trata de uma doença curável e com uma perspectiva de sobrevivência aceitável, a disseminação para o osso representa uma fase irreversível da doença, com perspectivas de tratamento, até há bem pouco tempo, meramente paliativo. As metástases ósseas são, portanto, a maior complicação do carcinoma da próstata, não só por traduzirem uma doença disseminada, mas também pela dor que causam e pelas complicações a que estão associadas.

A disseminação óssea neoplásica é um processo complexo e apenas parcialmente conhecido, no qual participam múltiplas moléculas e células do próprio osso como os osteoclastos e os osteoblastos. Sabe-se, hoje, que o eixo desempenhado pela osteoprotegerina e pelo *receptor activator of nuclear factor- κ B* (RANK) e seu respectivo ligando é a pedra basilar da actividade osteoclástica metastática. Por outro lado, as famílias das *wingless type integration site family member* (WNTs) e das *bone morphogenetic proteins* (BMPs), são as principais responsáveis pela actividade dos osteoblastos. Da actividade destes dois tipos de células resulta o aspecto imagiológico metastático, que no carcinoma da próstata é, geralmente, osteoblástico.

O estudo progressivamente mais aprofundado da fisiopatologia da metastização óssea tem levado à concepção de métodos terapêuticos para tratar esta localização secundária no carcinoma da próstata. Os tratamentos actuais actuam essencialmente na redução da dor e na prevenção das complicações ósseas resultantes das metástases. Todavia, tem-se verificado um

interesse crescente no desenvolvimento de métodos de prevenção da metastização óssea, de forma a conseguir impedir a progressão da doença e aumentar a sobrevida destes doentes.

Num momento em que os bisfosfonatos constituem a arma terapêutica mais poderosa no tratamento da doença metastática óssea, outras estratégias afiguram-se plausíveis, como os inibidores do eixo RANK/RANKL, inibidores dos factores de crescimento do osso, da angiogénese, do factor de crescimento epidérmico, antagonistas da endotelina, havendo ainda espaço para o estudo de fármacos citotóxicos, radiofármacos, e produtos naturais, entre outros.

Actualmente, existem vários ensaios clínicos em curso, tentando aferir a viabilidade de diversos fármacos na prevenção da metastização óssea relacionada com alguns tipos de tumores. Alguns resultados pré-clínicos são promissores, mas, por enquanto, deveremos estar ainda a alguma distância da introdução no mercado de fármacos com indicação para utilização na prevenção da disseminação do carcinoma da próstata para o osso.

Abstract

Prostate carcinoma is a highly prevalent tumor in most western countries, being the most common cancer in males and the third cause of death by cancer worldwide, and it shows a tendency to metastasize preferentially to the bone tissue. While in its localized form it is a curable disease, with an acceptable prognosis of survival, however, the spread of this cancer to the bone tissue represents an irreversible phase of the illness which was limited to merely palliative treatment, up until recently. Bone metastases are therefore the biggest complication of prostate cancer, not only because they represent the spread of the disease, but also because of the pain that these cause and their associated complications.

The spread of the carcinoma to the bone is a complex process that is only partially understood, and it includes the participation of multiple molecules and bone cells like osteoclasts and osteoblasts. Today it is known that the axis played by osteoprotegerin, the activator of nuclear factor- κ B receptor along with its respective ligand, is the fundamental basis for osteoclastic metastasis activity. On the other hand, the wingless type integration site family members along with the bone morphogenetic proteins, are mainly responsible for the osteoblastic activity. It is from the activity of both these types of cells that results the typical imagiological metastatic image that in prostate cancer appears as osteoblastic.

The progressive in depth study of the physiopathology of bone metastases has led to the development of new methods of management to treat this secondary localization of prostate cancer. Current treatment aims at essentially reducing pain and preventing bone complications that result from the metastases. However, there has been an increased interest in the development of prevention methods against bone metastasis, in order to prevent disease progression and increase the survival of these patients.

At a time where the bisphosphonates constitute the most powerful weapon in the treatment against bone metastatic disease, other plausible strategies emerge like the inhibitors of the RANK/RANKL axis, inhibitors of bone growth factors, of angiogenesis, of epidermic growth factors, endothelin antagonists, and still continually allowing for the study of cytotoxic pharmaceuticals, radiopharmaceuticals and natural products, among others.

There are currently many ongoing clinical trials attempting to assess the viability of various drugs in the prevention of bone metastases related to some types of tumors. Some of the pre-clinical results are promising, but, for now, we are still some distance away from introducing into the market specific medications indicated for the prevention of the spread of prostate cancer to the bone.

Introdução

O carcinoma da próstata é um dos tumores mais frequentes nos homens, nos países ocidentais. Tal como a maior parte das neoplasias o cancro da próstata só é curável antes de metastizar. Neste cancro a metastização ocorre preferencialmente para os ossos, essencialmente do esqueleto axial. Esta predilecção das células malignas prostáticas pelo osso acarreta inúmeras complicações ósseas que, para além da diminuição da qualidade de vida do indivíduo, estão associadas a uma diminuição da sobrevida. Entre as complicações mais frequentes encontram-se a dor óssea, as fracturas patológicas, a compressão medular, a necessidade de radioterapia ou cirurgia ósseas. A maioria dos tumores com propensão para disseminar para o osso, como o cancro da mama, da tiróide, do rim, do pulmão ou o mieloma múltiplo, apresentam frequentemente metástases com aspecto destrutivo (osteolítico ou osteoclástico). Pelo contrário, o carcinoma da próstata está geralmente associado a metástases de aspecto osteosclerótico (ou osteoblástico). O facto de uma metástase ter uma aparência osteoblástica não significa que a actividade dos osteoclastos esteja ausente do local. Pelo contrário, vários estudos demonstram um papel importante da actividade destas células na fisiopatologia das metástases ósseas do cancro da próstata, motivo pelo qual podem representar um alvo terapêutico em qualquer tipo de lesão metastática.

O processo através do qual uma célula com origem no epitélio glandular prostático metastiza para o osso é complexo e difícil. À célula metastática é exigido que adquira características que lhe permitam destacar-se do tumor primitivo, entrar em circulação e fixar-se no osso onde deverá encontrar boas condições para se desenvolver, o que implica fortes interações com o meio ambiente do tecido ósseo.

As vias que conduzem à formação de metástases osteolíticas e osteoblásticas são extremamente complexas, estando ainda por conhecer detalhadamente. No entanto, várias

moléculas têm sido identificadas e estudadas, com principal relevo para o eixo desempenhado pela osteoprotegerina (OPG), pelo *receptor activator of nuclear factor- κ B* (RANK) e o seu ligando (RANKL), produzidos pelos osteoblastos e promotores da actividade osteoclástica. As famílias das WNTs (*wingless type integration site family members*) e das BMPs (*bone morphogenetic proteins*) foram, por sua vez, catalogadas como as principais impulsionadoras da actividade osteoblástica.

A utilização de fármacos específicos para qualquer uma das etapas fundamentais no processo metastático, pode ter um efeito benéfico no tratamento do carcinoma da próstata, quer no prolongamento da sobrevida, quer na prevenção das metastases ósseas e suas complicações.

Entre os fármacos mais utilizados no tratamento das complicações ósseas do carcinoma da próstata metastático encontram-se os bisfosfonatos, potentes inibidores da actividade osteoclástica. Outros fármacos que podem actuar a nível da metastização óssea incluem os inibidores do eixo RANK/RANKL, inibidores dos factores de crescimento do osso, inibidores da angiogénese, inibidores do factor de crescimento epidérmico, antagonistas da endotelina, entre outros. No entanto, o tratamento ideal das metástases ósseas será a sua prevenção, para a qual nenhum fármaco provou, até à data, ser eficaz. Têm sido realizados alguns estudos nesse âmbito, com alguns resultados promissores, mas mais estudos são necessários para que se possa atingir o objectivo de encontrar uma solução terapêutica capaz de prevenir a metastização óssea no cancro da próstata.

Objectivos

Este trabalho tem como objectivo uma revisão da literatura publicada sobre a fisiopatologia da metastização óssea e prevenção de metástases ósseas, em doentes com carcinoma da próstata.

Pretende-se com este estudo discutir e perceber possíveis formas de tratamento profilático das metástases ósseas, ao invés do tratamento actual, com bisfosfonatos, centrado na tentativa de evitar as complicações mais frequentes, resultantes de alterações estruturais no tecido ósseo.

Assim, esperamos que a compreensão da fisiopatologia da metastização óssea possa servir de base para novas abordagens terapêuticas, através da identificação de substâncias-alvo nas etapas que levam à formação das metástases.

Desenvolvimento

Fisiopatologia da Metastização Óssea do Cancro da Próstata:

“Da Próstata ao Osso”

O processo de metastização do cancro da próstata para o osso obedece a três etapas fundamentais: invasão local (perda de adesividade de células tumorais, proteólise e degradação da matriz extracelular, motilidade das células neoplásicas e angiogénese), disseminação vascular (intravasamento das células tumorais, transporte, sobrevivência na circulação sanguínea e migração distal) e localização secundária (com quimiotaxia e ancoragem endotelial, extravasamento e estabelecimento da metástase (Msaouel P. et al, (2008))).

A Invasão Local

A invasão local, passo fulcral da metastização, está dependente da perda de características adesivas por parte das células do tumor, permitindo-lhes destacarem-se, tornarem-se móveis e degradarem a matriz extracelular. Este processo é facilitado pela acção de enzimas proteolíticas que possibilitam a ruptura da matriz extracelular e da barreira endotelial, levando à entrada de células metastáticas na corrente sanguínea. A adesão célula-célula é mantida pelo complexo caderina-catenina, enquanto a ligação célula-matriz extracelular é garantida pelas integrinas (Clarke N.W. et al, (2009)). As caderinas, entre as quais a melhor caracterizada no cancro da próstata é a E-caderina, são glicoproteínas

transmembranares, cuja acção é dependente do cálcio, desempenhando funções de adesão intercelular e de sinalização, estando fixas ao citoesqueleto de actina através das cateninas e às células adjacentes através de outras moléculas de caderina (Weis W.I. et al, (2006)). A evidência de que a perda de adesão célula-célula representa um passo essencial no processo de invasão local, conduziu à sugestão de que a redução da expressão de E-caderina pode ser utilizada como marcador do potencial metastático de alguns tumores. A β -catenina tem outra função, para além do papel no complexo caderina-catenina, a regulação de transdução de sinal. Estudos demonstraram uma expressão aumentada de β -catenina no tumor primário, enquanto as metástases apresentavam valores diminuídos (Bryden A.A.G. et al, (2002)). As integrinas são particularmente importantes na adesão e migração no local de implantação das células metastáticas, após o qual ocorre a degradação da matriz extracelular e da membrana basal, através da acção de metaloproteinases. (Nagle R.B. et al, (1994)). Sabe-se que o activador do plasminogénio tipo-uroquinase desempenha um factor promotor da actividade lítica das metaloproteinases, o que faz dele um factor essencial no desenvolvimento de metástases. A sua acção parece ser promovida pela ligação do factor de crescimento epidérmico (do inglês, *epidermal growth factor*, EGF) ao seu receptor (EGF-R), cuja activação tem sido referida como um importante factor na aquisição de um fenótipo invasivo das células tumorais (Angelucci A. et al, (2006)).

Para que exista motilidade celular e, portanto, migração das células tumorais, é necessária a acção de proteínas de ligação à guanosina trifosfato (do inglês, *guanosin triphosphate*, GTP). A Ras (RAc Sarcoma) é uma dessas proteínas, com localização transmembranar, possuindo propriedade de transdução de sinal, levando a proliferação, transcrição nuclear, apoptose e invasão. As Rho são GTPases activadas (enzimas hidrolases que se ligam e hidrolizam a GTP) durante a cascata de eventos despoletados pela Ras, estando envolvidas na motilidade celular, actuando na dinâmica da actina e promovendo alterações

morfológicas na célula, que levam ao crescimento, motilidade e invasão através do epitélio. Esta observação tem levado à suposição de que a inibição da síntese destas proteínas pode, portanto, reduzir o potencial de invasão das células tumorais. Aceita-se que o eixo Ras-Rho deve estar activado nas metástases do carcinoma da próstata, constituindo a base da aquisição de motilidade das células (Clarke N.W. et al, (2009)).

Tumores de dimensões reduzidas são, geralmente, capazes de se nutrir por difusão, mas acima dos 2 mm, torna-se necessária a criação de uma rede capilar vascular no terreno ocupado pela neoplasia, a partir dos vasos sanguíneos envolventes (Berger G. et al, (2003)). A densidade vascular torna-se assim, um marcador da angiogénese tumoral, sendo substancialmente mais elevada em indivíduos com tumores que apresentam metástases, comparativamente com aqueles que têm doença localizada. O activador da angiogénese é o factor de crescimento endotelial vascular (do inglês, *vascular endothelial growth factor*, VEGF), produzido em resposta a estímulos das células tumorais, entre os quais o mais importante é a hipoxia. O seu receptor não se liga apenas ao VEGF, como também a outros membros da superfamília VEGF, entre os quais os factores de crescimento tumorais α e β (do inglês, *transforming growth factors*, TGF- α/β), o factor de crescimento epidérmico (EGF) e a interleucina-8 (IL-8), o que faz com que a inibição da ligação do VEGF ao seu receptor possa afectar não apenas a angiogénese (Ferrara N., (2005)).

A Disseminação Tumoral

O transporte e sobrevivência de células tumorais através da corrente sanguínea é uma etapa essencial na metastização,

visto permitir a disseminação para um local distante do tumor primitivo. A sobrevivência das células neoplásicas em circulação depende da sua capacidade de escaparem à destruição mecânica provocada pelo fluxo sanguíneo e à acção dos leucócitos e do óxido nítrico, produzido pelo epitélio.

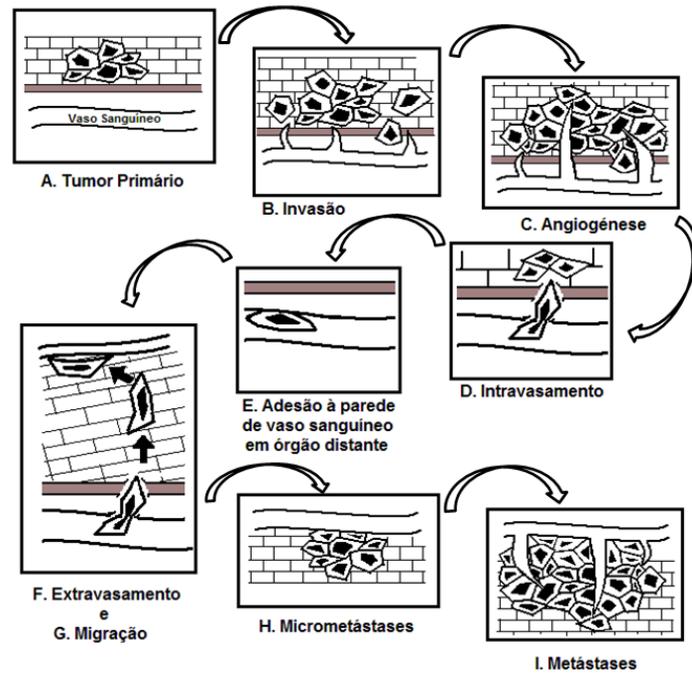


Figura 1. Metastização. Adaptado de Zetter B.R., (1998)

Para aumentar a sua protecção, as

células tumorais formam agregados com depósitos de fibrina e plaquetas, aumentando assim as hipóteses de sobreviverem. Existem suspeitas de que a células tumorais se mantêm em circulação durante menos de 24 horas após a sua entrada na corrente sanguínea, ligando-se ao endotélio dos órgãos alvo (Hart C. A. et al, (2005)). Quase todas as células tumorais que entram na circulação morrem, 85% nos primeiros 5 minutos. Um estudo com células PC-3 marcadas com luciferase mostrou que 24 horas após a sua injeção, em ratinhos, não existiam células viáveis detectáveis (Rosol, T.J. et al, (2003)).

A Localização Secundária

A localização secundária (*homing*) é específica para cada tipo de tumor, reflectindo, nalgumas situações, uma lógica assente na anatomia do sistema vascular, mas, ainda assim, independente dessa anatomia, em grande parte dos casos, como no cancro da próstata.

O processo de *homing* inicia-se com a adesão ao epitélio vascular que é conseguida através de um processo que envolve duas fases conhecidas como *docking* (ligação de baixa afinidade) e *locking* (ligação firme) e envolve o reconhecimento e adesão a receptores específicos, as selectinas, e a estabilização dessa ligação através de integrinas (Orr F.W. et al, (1995) e Lehr J.E. et al, (1998)). Algumas das moléculas que se crê estarem implicadas nesta ligação tão específica das células metastáticas da próstata ao endotélio do osso incluem a *platelet-endothelial cell adhesion molecule-1* (PECAM-1), a integrina $\alpha 4\beta 1$ e a *sialil Lewis X* que se ligam às células endoteliais através da E-selectina e da *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1). Alterações nas caderinas N e VE, assim como na PECAM-1, conduzindo à retracção endotelial que permite a entrada das células para a matriz extracelular, num processo conhecido como transmigração ou extravasamento, após o qual poderá existir indução das vias ligadas ao Ras com conseqüente activação do eixo Ras-Rho-Rac (Clarke N.W. et al, (2009)).

A apetência das células do carcinoma da próstata pelo osso, assim como a de outros tumores por outras localizações permanece um enigma. Stephen Paget, em 1889, apresentou a sua teoria da “semente e do solo”, sugerindo que deverão existir factores específicos no tecido que irá acolher a metástase para proporcionar um meio favorável a um determinado tipo de células. Esta teoria foi utilizada, para formular uma mais moderna (Fidler I.J. et al, (2002)), que levanta a hipótese de em cada tumor existirem subpopulações diferentes de células, com tropismos distintos que as tornam especificamente moldadas para colonizarem determinados

órgãos, assim sejam capazes de explorar as vantagens que o ambiente de cada órgão lhes proporciona. Pensa-se, portanto, que a próstata e o microambiente ósseo partilham características que se manifestam pela tendência das células prostáticas para aí se fixarem (Logothetis C.J. et al, (2008)). Dois dos estímulos necessários para que tal aconteça são conseguidos pela presença no local de quimiocinas e lípidos específicos. O *stromal-derived factor-1* (SDF-1) e o seu receptor CXCR4, parecem ser os responsáveis pela quimiotaxia das células metastáticas em vários tumores, entre os quais se contam o cancro da mama, rim, pulmão, pâncreas, melanoma maligno e próstata (Clarke N.W. et al, (2009)). De facto, a utilização de um antagonista do receptor CXCR4, 4F-benzoyl-TN14003, mostrou ser capaz de inibir a migração de células do cancro da mama, *in vivo* (Tamamura H. et al, (2003)), levando a considerar o eixo CXCR4-SDF-1 como potencial alvo terapêutico, ainda que possa não ser essa a única quimiocina implicada na sinalização para a metastização óssea no cancro da próstata (Hart C. A. et al, (2005)). A constatação de que as células tumorais se desenvolvem rapidamente na proximidade de adipócitos, com recrutamento rápido de lípidos, assim que se fixam na medula óssea, demonstra que as fontes lipídicas são, também elas, importantes estímulos na atracção de células metastáticas. A especificidade desse estímulo é uma hipótese que se baseia na observação de que a migração de células PC-3 é promovida pela adição de ácido araquidónico ao estroma ósseo, sendo bloqueada pela acção dos lípidos ómega-3 (Brown M.D. et al, (2006)).

Após estabelecimento, as micrometástases do Carcinoma da Próstata provocam alterações no ambiente ósseo, por se instalarem no espaço da medula óssea. A forma mais encontrada é a de metástase osteoblástica, embora também se possam encontrar metástases osteolíticas. No entanto, ocorre sempre activação osteoclástica nas metástases osteoblásticas (Keller et al. (2001)), o que sugere um papel importante desempenhado pelos dois tipos de células, independentemente do aspecto imagiológico e histológico da metástase (Logothetis et

al. (2005)). Na verdade, os osteoblastos têm um papel fulcral no recrutamento e estimulação da actividade dos osteoclastos, efeitos obtidos à custa da produção de *colony stimulating factor-1* (CSF-1) e RANKL, ligando do RANK. Este último factor é influenciado por diversos factores osteotróficos, entre os quais o peptídeo relacionado com a hormona paratiroideia (PTHrP), o 1,25-dihidroxicolecalciferol, estrogénios e interleucinas, que alteram a expressão de RANKL pelos osteoblastos e, portanto, ainda que indirectamente, são também moduladoras da actividade osteoclástica (Boyce B.F. et al, (2008) e Rentsch C.A. et al., (2009)). No decorrer da reabsorção óssea provocada pelos osteoclastos são libertados e activados vários factores mitogénicos da matriz extracelular, tais como o factor de crescimento derivado de plaquetas (do inglês, *platelet-derived growth factor*, PDGF), as formas ácida e básica do factor de crescimento dos fibroblastos (do inglês, *acid and basic fibroblast growth factors*, FGFa e FGFb), proteínas morfogenéticas do osso (em inglês, *bone morphogenetic proteins*, BMPs), factor de crescimento do tipo insulina (do inglês, *insuline-like growth factor*, IGF), osteogenina e TGF- β , que no seu conjunto são conhecidos como factores de crescimento derivados do osso (do inglês, *bone-derived growth factors*, BDGFs). Os BDGFs, em adição a factores sistémicos (PTH, estrogénios, prostaglandinas e citocinas), promovem o recrutamento de osteoblastos (Rentsch C.A. et al., (2009)), que levam à formação de osso, no espaço criado pelos osteoclastos. A deposição de osso coexiste com a sua reabsorção, pelo que observamos diferentes graus de padrões mistos, durante o curso da doença. A deposição não segue o padrão lamelar, sendo desorganizada, e origina um neo-osso desestruturado e instável, aumentando, por isso, o risco de fractura patológica nessa região (Roudier M.P. et al., (2008)).

Actividade Osteoblástica Metastática

A osteosclerose observada nas metástases osteoblásticas parece ser provocada pela acção conjunta de duas vias reguladoras da massa óssea, uma através de *wingless type integration site family members* (WNTs) e outra pelas *bone morphogenetic proteins* (BMPs), pertencentes à família das TGF- β (Dai J. et al, (2008)). A família das WNTs foi identificada como estando implicada no normal desenvolvimento ósseo durante a embriogénese e na produção de osso no adulto, através da indução da transcrição de genes de factores osteotrópicos, como a osteoprotegerina (do inglês, *osteoprotegerin*, OPG) e a endotelina-1 (do inglês, *endothelin-1*, ET-1) (Glass D.A. et al, (2005)). A OPG compete pela ligação do RANK ao seu ligando, RANKL, evitando desse modo a activação de osteoclastos. Por seu turno, a ET-1 estimula a proliferação e diferenciação dos osteoblastos (Mohammad K.S. et al, (2003)). Um dos mecanismos através dos quais aumenta a activação da via das WNTs, parece ser a diminuição do seu inibidor DKK-1 (membro da família Dickkopf de inibidores das WNTs), cuja expressão diminui na doença metastática osteoblástica (Hall C.L. et al, (2008)). A via de sinalização das BMPs é iniciada por homo ou heterodimerização dos seus receptores membranares, com consequente fosforilação de moléculas sinalizadoras que se translocam para o núcleo da célula, promovendo a transcrição de genes importantes para a formação óssea (Wan M. et al, (2005)). As BMPs são sequestradas no espaço extracelular pelos seus antagonistas, BMPAs. Estudos demonstraram uma expressão aumentada de BMP6 em linhas celulares osteoscleróticas, assim como uma diminuição do BMPA Noggin (Schwaninger et al, (2007)), indicando que a sinalização promovida por BMPs sem antagonização contribui para o fenótipo osteosclerótico das metástases. Assim, a inibição destas duas vias poderá revelar-se uma mais-valia na tentativa de prevenir o desenvolvimento de metástases osteoblásticas.

Actividade Osteoclástica Metastática

Uma componente osteolítica parece estar sempre presente nas metástases ósseas, (ainda que estas possam revelar-se osteoblásticas, imagiologicamente), através da via da OPG/RANK/RANKL, que está envolvida na regulação dos osteoclastos. No local de

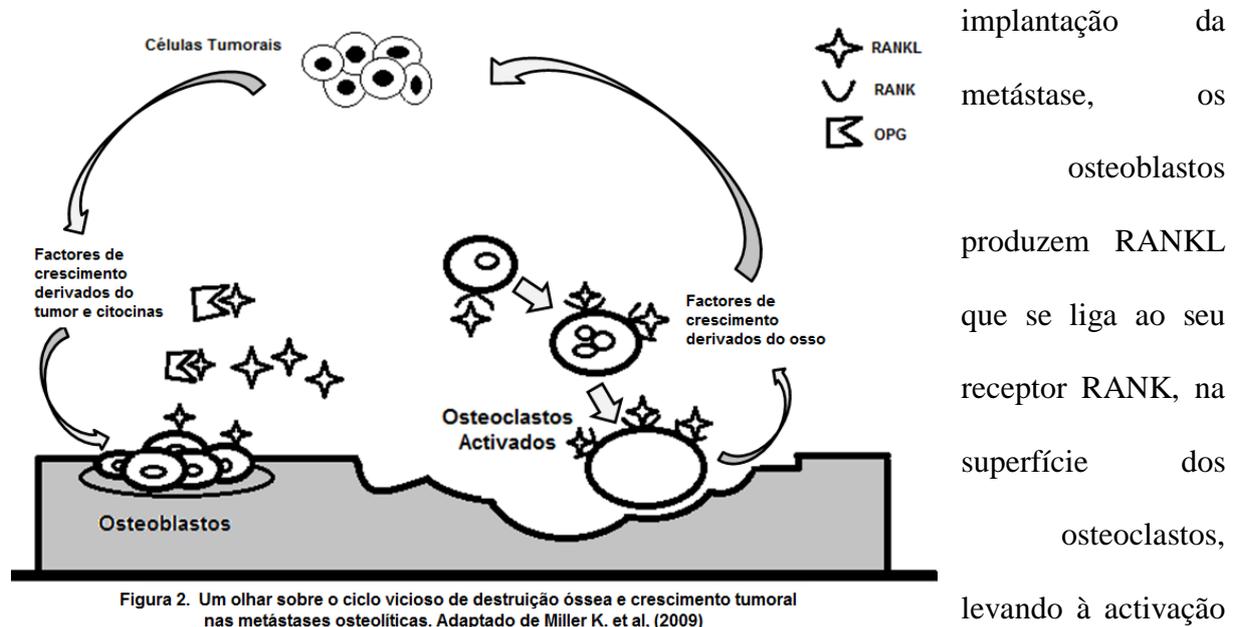


Figura 2. Um olhar sobre o ciclo vicioso de destruição óssea e crescimento tumoral nas metástases osteolíticas. Adaptado de Miller K. et al, (2009)

destas células que iniciam, assim, a reabsorção óssea (Keller E.T., (2002)). Esta destruição do osso conduz à libertação de factores de crescimento que promovem o desenvolvimento das células tumorais (Figura 1). A observação de que células tumorais sem expressão de RANKL conseguem estimular a diferenciação de osteoclastos, desde que exista PTHrP, leva a considerar que esta possa ser uma via alternativa da estimulação osteoclástica, para além do eixo RANK/RANKL. A OPG é um inibidor competitivo da ligação do RANK, regulando este processo (Clarke N.W. et al, (2008)). A evidência de que uma componente osteolítica está presente na maioria das metástases foi enfatizada através de estudos em ratos injectados com células de carcinoma da próstata na tíbia e posterior administração de OPG, com prevenção total do estabelecimento de metástases mistas (Zhang J. et al, (2001)). O papel da OPG continua a ser objecto de estudo e controvérsia, atendendo a que não só as células da medula óssea como as próprias células do carcinoma da próstata parecem contribuir para a sua

produção (Holen I. et al, (2002)). Esta observação de que a OPG pode ser um factor de sobrevivência das células tumorais prostáticas no osso parece paradoxal, já que aparentemente deveria ser mais vantajosa a criação de espaço no osso, através da actividade osteoclástica. No entanto, acredita-se que este aumento da produção deve estar relacionado com uma segunda acção da OPG, a sua capacidade de inactivar o *TNF-related apoptosis inducing ligand* (TRAIL), inibindo a apoptose e, portanto, aumentando a sobrevivência das células tumorais (Eaton C.L. et al, (2003)). Adicionalmente, estudos sobre esta matéria, revelam que a utilização de RANKL pode impedir eficazmente o efeito supressor da OPG sobre o TRAIL (Holen I. et al, (2002)).

Prevenção da Metastização Óssea no Carcinoma da Próstata

No momento em que o carcinoma da próstata se dissemina para o osso, deixa de ser curável, restando apenas terapêuticas paliativas. Uma das preocupações no tratamento dos doentes com cancro da próstata com metástases ósseas é a prevenção e tratamento das complicações ósseas, ou *skeletal-related events* (SREs). Entre estes, os mais frequentes são a dor óssea, as fracturas patológicas, a compressão medular, a hipercalcémia maligna e a necessidade de radioterapia e/ou cirurgia ósseas.

Torna-se assim indispensável desenvolver estratégias de prevenção das metástases ósseas de forma a prevenir todas as complicações que daí advêm e a prolongar a sobrevivência destes doentes. Têm sido descritas algumas novas terapêuticas promissoras. São essas terapêuticas, que têm como alva etapas estratégicas do processo de metastização óssea, que se procuram descrever de seguida.

Bisfosfonatos

Os Bisfosfonatos são potentes inibidores da actividade osteoclástica, sendo os fármacos mais utilizados no tratamento de metástases ósseas secundárias a tumores como o cancro da mama, o cancro do pulmão, o cancro da próstata e o mieloma múltiplo. Estes fármacos são hoje em dia largamente utilizados com o intuito de reduzir o número de eventos patológicos relacionados com as metástases ósseas já estabelecidas, ou SREs (*skeletal-related events*), entre os quais as fracturas ósseas patológicas, dor óssea e compressão medular (Lage M. J. et al, (2008)). No entanto, têm surgido alguns estudos que sugerem que os bisfosfonatos podem ter actividade antitumoral directa. Essa actividade parece ser baseada em efeitos pró-apoptóticos, assim como de inibição da adesão, invasão e angiogénese, parecendo, portanto,

legítimo o estudo desta família de fármacos na prevenção de metástases ósseas (Morgan G., Lipton, (2010)).

Foi demonstrado que os bisfosfonatos são capazes de inibir a apoptose de células tumorais. No entanto, os bisfosfonatos nitrogenados e, em especial, o ácido zoledrónico, apresentam maior potência (Green J.R. et al, (2004)). Seguem-se-lhe, por ordem decrescente de eficácia, o ibandronato, a forma activa do risedronato e o clodronato. A sua acção pró-apoptótica parece dever-se ao aumento da proteína pró-apoptótica bcl-2 e, simultaneamente, à inibição da activação do eixo Ras-Rho (Jagdev S.P. et al, (2001)). Foi demonstrada para o ácido zoledrónico uma inibição da angiogénese, assim como da adesão, por inibição da integrina $\alpha_v\beta_3$ (Bezzi M. et al, (2003)), que medeia a ligação das células ao osso mineralizado e às proteínas da matriz óssea, assim como regula factores proangiogénicos (Santini D. et al, (2003)). Curiosamente, a inibição da invasão e migração das células tumorais parece ser dependente da dose. Assim, para baixas doses, consegue-se um bloqueio da via do mevalonato, que resulta na produção de GTPase, com consequente inibição da capacidade de invasão. Para doses mais elevadas, obtém-se a inibição de metaloproteinases, com consequente bloqueio da migração e invasão (Boissier S. et al, (2000)). O ácido zoledrónico foi, também, capaz de inibir a quimiotaxia mediada pelo eixo SDF-1/CXCR4, com diminuição da expressão de CXCR4, no cancro da mama (Denoyelle C. et al, (2003)). O mesmo efeito foi observado para o minodronato em células PC-3 e LNCaP-SF de carcinoma da próstata (Miwa S. et al, (2005)). Tem sido sugerido um efeito supressor do ácido zoledrónico sobre as micrometástases na medula óssea. Dados preliminares relativos a um estudo em doentes com carcinoma da mama, numa perspectiva neoadjuvante e adjuvante, referem uma diminuição no número de tumores ocultos em 73% das doentes (Lin A. et al, (2007)).

Vários estudos em fase pré-clínica foram desenvolvidos na tentativa de apurar um efeito preventivo dos bisfosfonatos na formação de metástases ósseas. Um estudo realizado com risedronato administrado a ratinhos com modelos de cancro da mama com metástases ósseas, procurou avaliar a actividade deste bisfosfonato quando administrado após o desenvolvimento de metástases osteolíticas, durante a injeção do tumor e antes da injeção. O fármaco mostrou diminuir a osteólise, atrasar a progressão das metástases ósseas e inibir a formação das mesmas, embora não tenha tido acção sobre metástases extraesqueléticas (Sasaki A. et al, (1995) e (1998)). Num ensaio que incluiu 508 indivíduos com carcinoma da próstata tratados com hormonoterapia ou braquiterapia, a administração diária de clodronato revelou-se ineficaz na prevenção do aparecimento de metástases ósseas, tal como não conseguiu conduzir a um aumento da sobrevida média dos indivíduos participantes no estudo (Mason M.D. et al, (2004)).

Por outro lado, existem alguns resultados que apontam no sentido do ácido zoledrónico inibir não só as metástases ósseas, como também as metástases hepáticas e pulmonares, com aumento da sobrevida, em ratinhos (Hiraga T., (2004)). Tem sido sugerido, ainda, que a administração de ácido zoledrónico de forma contínua pode ser mais eficaz numa perspectiva de terapêutica adjuvante, comparativamente à administração de dose única (Morgan G., Lipton, (2010)). É curioso observar que num estudo em doentes com doença metastática e sem doença metastática, a administração de clodronato levou a um aumento da sobrevivência apenas no grupo de doentes com disseminação tumoral óssea (Dearnaley D.P. et al, (2009)). Estes resultados levaram a especular sobre uma possível susceptibilidade maior dos doentes com metástases por apresentarem uma actividade osteoclástica maior, ao contrário dos doentes com doença localizada, com uma componente osteoblástica mais intensa (Morgan G. et al, (2010)). Um bisfosfonato de terceira geração, o minodronato, apresentou eficácia

também em metástases osteoblásticas, em células LNCaP injectadas em ossos humanos, na sua formação, no atraso da progressão das metástases e na diminuição do número de osteoclastos, aumentando a suspeita de que a actividade osteoclástica está presente na formação de metástases osteoscleróticas, também (Yonou H. et al, (2007)). A sua acção parece dever-se à supressão do CXCR4, que foi observada para metástases osteolíticas e osteoscleróticas (células PC-3 e LNCaP-SF), tanto *in vivo* como *in vitro* (Miwa S. et al, (2005)). De momento, estão em curso vários estudos com o intuito de avaliar a eficácia de bisfosfonatos na prevenção de metástases ósseas, em doentes com carcinoma da próstata e do pulmão (Tabela 1). Um estudo da Sociedade Europeia de Urologia, ao qual foi dado o nome de ZEUS (Zoledronic acid EUropean Study), tenta avaliar a capacidade do ácido zoledrónico, num número esperado de 1300 doentes com carcinoma da próstata de alto risco, administrando 4 mg do fármaco trimestralmente a um grupo de doentes com terapêutica convencional em curso e comparando com um grupo de doentes apenas sob terapêutica convencional (Wirth M. et al, (2008)). O estudo Cancer and Leukemia Group B (CALGB)-9202, procura, por sua vez, avaliar a eficácia da administração de ácido zoledrónico de forma precoce (4 mg, de 3 em 3 meses) *versus* a sua administração de forma convencional, com o objectivo de avaliar a eficácia da administração precoce na prevenção de SREs (<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00079001>, (2011)). Ainda assim, pensa-se que os resultados poderão também contribuir para a aferição do seu papel na prevenção da metastização óssea. Em doentes com cancro do pulmão de células não pequenas recentemente diagnosticados, nos estadios IIIA e IIIB, está a ser, também, avaliada a eficácia do ácido

zoledrónico em prevenir as metástases ósseas, por oposição a um grupo de controlo (<http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00172042>, (2011)).

| | Estudo | Regime Terapêutico | Nº Doentes Propostos | População Alvo | Endpoint Primário |
|----------|-------------|--|----------------------|---|--------------------------------|
| Próstata | ZEUS | Tratamento Standard vs. Tratamento Standard + AZ | 1300 | Cancro da Próstata de Alto Risco | Prevenção de metástases ósseas |
| | CALGB 90202 | AZ standard vs. AZ tardio | 680 | Cancro da Próstata com Metástases Ósseas | Prevenção de SREs |
| Pulmão | Study 2419 | AZ vs. controlo | 445 | CPCNP recém diagnosticado, em estadio IIIA ou IIIB, sem derrame pleural | Prevenção de metástases ósseas |

CPCNP-Cancro do Pulmão de Células Não Pequenas, SREs – Skeletal Related Events, AZ – Ácido Zoledrónico

Figura 1. Ensaios clínicos em curso sobre prevenção de metástases ósseas. Adaptado de Morgan G e Lipton (2010).

Esperam-se resultados destes três estudos a um curto prazo, esperando-se que seja encontrado um papel preventivo do ácido zoledrónico na metastização óssea, quer do carcinoma da próstata, quer do cancro do pulmão de células não pequenas.

Inibição do eixo RANK/RANKL

Atendendo ao papel central do RANK e seu receptor, RANKL na actividade osteoclástica, espera-se que possam ser alvos importantes na abordagem terapêutica preventiva das metástases ósseas no carcinoma da próstata. Um estudo realizado em ratinhos com metástases ósseas osteoscleróticas LuCaP, avaliou a eficácia da administração de sRANK-Fc, uma proteína criada a partir da fusão de RANK de murino e da porção Fc da Imunoglobulina 1 humana. Esta molécula com capacidade de inibição do RANKL foi administrada aos ratinhos durante um período de seis semanas, seis semanas após a

inoculação das metástases, com análise histológica às 12 semanas. A sRANK-Fc diminuiu a área ocupada pelas metástases osteoscleróticas, assim como os valores de marcadores serológicos de remodelação óssea e do PSA (Zhang J. et al, (2003)). Um estudo mais recente, com o mesmo fármaco, realizado também em ratinhos, procurou avaliar a eficácia da associação de RANK-FC ao docetaxel, taxano utilizado no tratamento da cancro da próstata avançado hormono-resistente, com o objectivo de tentar diminuir a sua dosagem e, conseqüentemente, os efeitos adversos deste citotóxico. A terapêutica em associação foi administrada durante 10 semanas, a partir da 2ª semana após injeção intratibial de células LNCaP. O exame histopatológico às 12 semanas, revelou uma redução de 13% da área tumoral para o grupo tratado apenas com docetaxel, 60% para o grupo tratado com RANK-Fc e 70% para o grupo com terapêutica em associação (Ignatoski K.M.W. et al, (2008)).

Está, ainda, em curso um ensaio clínico de fase III (NCT00286091) com o propósito de avaliar a capacidade do denosumab, um anticorpo monoclonal humano anti-RANKL, na prevenção das metástases ósseas, por comparação com placebo (<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00286091>). Esperam-se os resultados parciais deste ensaio que estará concluído em 2014.

Inibição dos Factores de Crescimento Derivados do Osso

Foram identificadas, até hoje, várias moléculas libertadas durante a actividade osteoclástica observada na implantação das metástases ósseas. Estas moléculas, conhecidas como BDGFs (factores de crescimento derivados do osso), em associação a factores sistémicos, levam ao recrutamento de osteoblastos, células formadoras de osso implicadas na origem das metástases osteoblásticas. O conjunto destas moléculas representa um manancial de verdadeiros factores de sobrevivência das células tumorais metastáticas, pelo que

representam alvos interessantes, na tentativa de prevenir as metástases ósseas. São muitas as moléculas envolvidas, sendo por isso, expectável que o bloqueio de uma delas não permita um controlo total da progressão metastática.

Um estudo recente, recorreu a um anticorpo anti-PDGFR α humano, (receptor- α do factor de crescimento derivado de plaquetas), o IMC-3G3, para testar a sua acção no bloqueio de metástases ósseas em ratinhos. Após inoculação de células PC-3 nos ossos dos membros posteriores dos ratinhos, foi administrado IMC-3G3, com análise histológica às 4 semanas. O grupo de ratinhos tratados com o anticorpo anti-PDGFR α mostrou uma redução de 72% do número de metástases macroscópicas, quando comparado com o grupo controlo. Dado ainda mais interessante, foi a inexistência de metástases em 10 dos 13 ratinhos sob terapêutica com IMC-3G3, face a 5 dos 17 ratinhos do grupo de controlo (Russel M.R. et al, (2008)).

Um estudo com imatinib, um inibidor da tirosina cinase do PDGFR, comparou os efeitos deste fármaco em ratinhos com um grupo controlo, um grupo sob administração de paclitaxel e outro com uma associação de imatinib e paclitaxel, durante 10 semanas. Os resultados mostraram uma inibição das metástases ósseas, com apenas 4 dos 18 ratinhos a apresentarem metastização, contra 19 em 19 ratinhos no grupo controlo. Observou-se, também, uma diminuição da densidade vascular, tanto com a associação de fármacos, como com a terapêutica isolada com imatinib, com consequente apoptose de células tumorais (Kim S. et al, (2006)).

Espera-se que num futuro próximo possam ser desenvolvidas novas moléculas que tenham como alvo outros factores de crescimento das metástases no osso, assim como ensaios clínicos que avaliem a sua capacidade para a prevenção metastática. A exploração de eventuais fármacos com estes alvos deverá ser pensada não só de forma isolada, como

também em associações, com o intuito de bloquear o maior número possível de factores de crescimento e assim conseguir-se uma acção mais eficaz.

Inibidores da Angiogénese

A angiogénese tem como seu principal activador o VEGF, cuja expressão se encontra aumentada na doença neoplásia, sobretudo se disseminada. No entanto, o seu receptor liga-se também a outras moléculas, como os TGF α e β , o EGF, o TNF- α ou a IL-8.

O bevacizumab é um anticorpo monoclonal humano anti-VEGF, aprovado como antiangiogénico para o tratamento de tumores. A sua eficácia tem sido testada em combinação com outros fármacos, nomeadamente com citotóxicos. Um ensaio clínico, CALGB 90006, testou a administração de bevacizumab em combinação com docetaxel e estramustina, em 79 doentes com cancro da próstata, com diminuição da PSA de 50% em 81% dos doentes estudados (Picus J. et al, (2003)). Um estudo de fase II revelou uma resposta de PSA de 86% após administração de bevacizumab em associação com docetaxel, prednisolona e talidomida (Ning Y. M. et al, (2006)).

A talidomida tem efeitos antiangiogénicos e imunomoduladores do microambiente tumoral (Teo S. K., (2005)). Administrada isoladamente, demonstrou uma resposta de PSA de apenas 18% dos indivíduos (Figg D.W. et al, (2001)), enquanto a associação com docetaxel obteve uma resposta em 53% dos doentes, com uma sobrevivência média de 28,9 meses contra 14,7 verificados para os doentes que receberam docetaxel isoladamente (Dahut W.L. et al, (2004)).

Até ao momento não foi estudada a eficácia na prevenção da metastização óssea para nenhum dos dois fármacos, sendo pertinente que tal possa suceder no futuro, atendendo a que angiogénese representa um passo importante na disseminação tumoral.

O Receptor do Factor de Crescimento Epidérmico como alvo

A ligação do factor de crescimento epidérmico ao seu receptor, EGF-R, com sua consequente activação tem sido motivo de estudo, nos últimos anos. Esta proteína transmembranar quando activada é capaz de controlar o crescimento celular, a sobrevivência e a migração de células tumorais. Estudos mostraram que a capacidade de invasão é conferida pela indução da ligação do receptor activador da uroquinase do plasminogénio (uPA-R) ao seu ligando uPA. A expressão de uPA-R está aumentada em tumores com metastização óssea e correlaciona-se com o prognóstico clínico, pensando-se que possa contribuir para a interacção entre as células tumorais metastáticas e as células do tecido que as acolhe (Angelucci A. et al, (2006)).

O Gefitinib é um fármaco de administração oral com capacidade de supressão do EGF-R, aprovado para o tratamento de cancro do pulmão. Alguns ensaios clínicos demonstraram um efeito de redução da massa tumoral prostática *in vitro*, tanto quando administrado isoladamente (Vicentini et al. (2003)), como em associação com anti-androgénicos, (Festuccia et al. (2005)) e também *in vivo* (Sirotnak et al. (2002)). A capacidade do gefitinib de inibir a formação de metástases ósseas foi testada num ensaio em ratinhos inoculados com células PC-3 e PCb2, através da sua administração subcutânea ou intracardíaca diária, numa dosagem de 150mg/Kg, durante 21 dias. As células PCb2, com maior potencial metastático, mostraram-se mais susceptíveis à acção do fármaco, com uma inibição da formação metastática que resultou em apenas 19% de área metastática óssea face

ao grupo de controlo, enquanto o grupo inoculado com células PC3 mostrou uma área de metastização de 53%, o que levou os seus autores a concluir que o gefitinib pode ser um fármaco indicado no controlo da disseminação óssea do carcinoma da próstata (Angelucci A. et al, (2006)). Neste estudo, observaram-se também reduções no número de metástases extra-esqueléticas (pulmonares e em nódulos linfáticos abdominais) de 60 e 65% para as células PC3 e PCb2, respectivamente.

Antagonistas da Endotelina

Grande parte das metástases ósseas do carcinoma da próstata apresenta um aspecto imagiológico de osteosclerose, o que se deve a um aumento da actividade osteoblástica. A proliferação e diferenciação deste tipo de células devem-se à acção da endotelina-1 (ET-1), que activa o receptor de endotelina-A. Curiosamente, esta molécula foi também identificada como estando envolvida na dor relacionada com o tecido ósseo (Nelson J. et al, (2003)).

O atrasentan é um fármaco oralmente activo, altamente selectivo para o receptor da endotelina-A, inibindo a sua ligação à endotelina-1. Num ensaio clínico de fase II, um grupo de doentes com carcinoma da próstata metastático assintomático foi sujeito a uma dose diária de 10mg e atrasentan, tendo apresentado um aumento do período decorrido até à fase sintomática, com 183 dias contra 137 do grupo placebo, assim como um atraso da progressão bioquímica (Carducci M.A. et al, (2003)). O ensaio que se lhe seguia, de fase III, estudando 809 homens com carcinoma da próstata metastizado divididos entre grupos tratados com atrasentan ou placebo, demonstrou um aumento do tempo de progressão para doença sintomática, assim como do atraso no aumento dos marcadores de metastização óssea (Carducci M.A. et al, (2004)).

Um novo inibidor exclusivo da endotelina-A, o ZD4054, encontra-se a ser estudado através de ensaios clínicos de fase I e II, sem resultados conhecidos até ao momento (Morris C. D. et al, (2005)).

Nenhum dos fármacos antagonistas do receptor da endotelina-A foi aprovado para doença metastizada, por falta de resultados mais consistentes. Apesar dos resultados promissores relacionados com o atraso para a progressão de doença sintomática e alívio da dor óssea, não foi ainda estudado um possível papel do bloqueio do receptor de endotelina-A através dos seus inibidores selectivos conhecidos até ao momento, atrasentan e ZD4054 (Carducci M.A. e Jimeno A. (2006)).

Fármacos Antineoplásicos

Apesar de os fármacos antineoplásicos terem já uma longa história de utilização em variados tumores, novos compostos vão sendo adicionados a este grupo já extenso. O efeito preventivo sobre metástases ósseas nunca foi testado para este tipo de drogas. No entanto, estudos recentes com compostos de platina têm demonstrado que alguns deles, nomeadamente a satraplatina pode ter um efeito antitumoral mais eficaz do que se pensava (Oh W.K. et al, (2007)).

Um estudo que envolveu 50 doentes com risco aumentado de progressão metastática, revelou um aumento significativo no período livre de metástases, em doentes sob terapêutica com satraplatina e prednisolona (5,2 meses), por comparação à administração isolada de prednisolona (2,5 meses) (Sternberg C.N. et al, (2005)). Um outro ensaio clínico, de fase III, juntou 950 doentes com o intuito de avaliar a eficácia da associação de satraplatina à prednisolona, como quimioterapia de segunda linha no carcinoma prostático hormono-refractário, tendo revelado uma redução de 40% no risco de progressão da doença, nos

doentes a receberem sartraplatina, por comparação com placebo. Foi também observado um aumento médio de 13% no período até à metastização óssea. Aos 6 meses, 30% dos doentes a tomar satraplatina e prednisolona mantinham neoplasia localizada contra 17% dos doentes a receber prednisolona e de 16 e 7%, respectivamente, aos 12 meses. Os efeitos adversos mais relatados foram mielossupressão e alterações gastrointestinais, geralmente ligeiros a moderados (Nathan F.E. et al, (2005)). Este estudo veio sugerir que a satraplatina, um agente citotóxico de administração oral, tem um perfil de utilização seguro e pode ser uma importante alternativa a ter em conta no tratamento de cancro da próstata resistente à hormonoterapia, estando, ainda, por clarificar, a sua utilidade na prevenção das metástases ósseas.

Um fármaco recém-criado, o BKM1740, é um antagonista da bradicinina conjugado com um grupo aminobisfosfonato e mostrou eficácia no atraso da formação de metástases ósseas no carcinoma da próstata. A sua acção deve-se à inibição da survivina, uma molécula antiapoptótica que está geralmente aumentada em vários cancros, sendo associada a um mau prognóstico no carcinoma da próstata (Shariat S.F. et al, (2004)). Um estudo experimental pré-clínico procurou ilustrar *in vitro* os efeitos do MKM1740 em células C4-2 e ARCaP_M, tendo conseguido demonstrar a sua capacidade de supressão da survivina. Adicionalmente, foi feita a inoculação de células C4-2 em tíbias de ratinhos, para avaliar a eficácia do fármaco, *in vivo*. Os resultados demonstraram uma diminuição nos níveis de PSA e melhoria da arquitectura óssea, tendo o estudo imunohistoquímico demonstrado que esses efeitos se deveram à inibição da survivina e indução de apoptose das células metastáticas (Seo S.I. et al, (2008)).

Espera-se que novos estudos com base nos mecanismos de acção de citostáticos possam trazer novas perspectivas no tratamento do carcinoma prostático com afectação óssea e na prevenção da metastização óssea

Antineoplásicos Inibidores da Família das Sarcoma Quinases

A família das sarcoma quinases (SFKs) é um grupo de tirosina-quinases sem receptores, do qual o membro melhor caracterizado é a src, que se sabe ser um importante proto-oncogene, promotor da proliferação celular, sobrevivência, motilidade e angiogénese (Yeatman T.J., (2004)). Tanto a src como a lyn, uma outra tirosina-quinase da família SFK foram identificadas como estando expressas em quantidades elevadas no carcinoma da próstata. Particularmente, o aumento da src parece estar relacionado com a progressão da doença (Asim et al, (2008)), assim como com a promoção da actividade osteoclástica (Miyasaki T. et al, (2006)).

Uma molécula inibidora das SFKs e da Quinase Bcr-Abl, o dasatinib, está aprovada no tratamento de segunda linha da leucemia mielóide crónica e da leucemia linfoblástica aguda com cromossoma Philadelphia positivo. Um estudo com este fármaco procurou estudar a sua capacidade de prevenção da metastização óssea no carcinoma da próstata, em 48 ratinhos aos quais foram injectadas intratibialmente células C4-2b. Os ratinhos foram divididos em 4 grupos em que o primeiro foi sujeito à administração de placebo, o segundo à de docetaxel a 5mg/kg, o terceiro recebeu dasatinib a 50mg/kg e o quarto uma associação de docetaxel e dasatinib de 5 e 50 mg/kg, respectivamente. Enquanto o docetaxel foi administrado a cada duas semanas, o dasatinib foi dado 5 vezes por semana aos ratinhos, até às 7 semanas após inoculação das células tumorais. Os resultados mostraram uma normalização dos valores de PSA no grupo que recebeu dasatinib, com valores ainda mais baixos para o grupo com associação de fármacos. Um aumento da densidade óssea foi também registado no grupo tratado com dasatinib, com efeito superior quando associado a docetaxel. O dasatinib, tanto isoladamente como em associação, mostrou também inibir a osteólise que foi quantificada através dos níveis de calcémia. Os resultados deste ensaio levaram os seus autores a concluir que o dasatinib inibe o crescimento de células C4-2b no osso, com eficácia

superior se associado a docetaxel, o que faz deste fármaco uma possível alternativa futura na prevenção de metástases ósseas. Esperam-se novos estudos relacionados com este fármaco (Koreckij T. et al, (2009)).

Análogos da Vitamina D

O peptídeo relacionado com a hormona paratiroideia (PTHrP) é um dos factores de sobrevivência das células metastáticas melhor caracterizados no carcinoma da próstata. Tanto as células normais como as células neoplásicas do carcinoma da próstata exibem esta proteína que promove a proliferação e sobrevivência das células tumorais (Shen X. et al, (2007)). Para além disso, o PTHrP desenvolve um papel importante na progressão do carcinoma prostático, na sua apetência para metastizar para o tecido ósseo, assim como demonstrou estar implicado na promoção da remodelação óssea, com predomínio osteolítico (Hall C.L. et al, (2006)). De forma quase paradoxal, a forma activa da vitamina D, a 1,25-dihidroxitamina D₃ regula a proliferação celular, a diferenciação, apoptose, resposta imunitária e angiogénese, tendo sido encontrada uma relação entre os níveis baixos de Vitamina D e uma incidência aumentada do cancro da próstata (Bouillon R. et al, (2008)). A utilização de um análogo da vitamina D, o EB1089, mostrou diminuir a expressão de PTHrP, com um efeito hipercalcémico de apenas 50% quando comparado com a forma activa da vitamina D (Kissmeyer A.M. et al, (1997)).

Um estudo realizado *in vitro* e *in vivo*, procurou encontrar um papel protector do EB1089, na génese de metástases ósseas da linhagem C4-2. A administração durante 48 ou 72 horas de EB1089 mostrou um efeito redutor na migração (45%) e invasão (35%), quando comparado com o grupo de controlo, *in vitro*. O efeito nas colónias de células C4-2 mostrou ser mais eficaz na redução do número do que nas suas dimensões. *In vivo*, o fármaco começou a ser administrado intraperitonealmente no momento em que as células foram injectadas na

circulação sanguínea de ratinhos, tendo limitado a dimensão da área tumoral. A sua administração a partir do 24º após inoculação das células tumorais, revelou uma diminuição da microvascularização tumoral. Ainda assim, o EB1089 exibiu um efeito maior em células tumorais de controlo, comparativamente grupos inoculados com células que sobreexpressavam o PTHrP. Os autores deste estudo concluíram com estes resultados que este análogo da vitamina D tem funções anti-migratórias e anti-invasivas, exercendo um efeito protector forte no crescimento metastático *in vivo*, podendo vir a representar uma importante arma terapêutica na prevenção e tratamento do carcinoma da próstata metastático (Bhatia V. et al, (2009)).

Terapêutica Genética

A necessidade de novas formas de tratamento no carcinoma da próstata tem levado à sugestão de que métodos de terapêutica celular por modificação genética podem ter uma palavra a dizer. A modulação do ambiente da medula óssea poderá ser um avo importante na prevenção da metastização para esse local (Wang H. and Thompson T.C., (2008)). A imunoterapia baseada em genes disponível inclui (1) alteração de células tumorais para produção de moléculas proinflamatórias ou proteínas altamente antigénicas para estimularem o reconhecimento imunitário; (2) introdução de genes imunomoduladores, *in vivo*, como citocinas, no local do tumor; (3) alteração de células imunitárias dos doentes para combate às células tumorais (Cross D., Burmester J.K., (2006)). No entanto, a tecnologia disponível até ao momento ainda não permite a introdução de modificadores genéticos por administração sistémica com a eficácia desejada.

A utilização do tecido ósseo como alvo terapêutico tem sido testada através de medula óssea modificada geneticamente com interleucina-12 (IL-12). A observação de que a

administração sistémica de IL-12 leva a demasiados efeitos secundários, levou à tentativa de inoculação de células progenitoras mielóides com um vector retroviral, o DFG-mIL-12, capaz de modificar células as actividades de células dendríticas introduzidas no espaço ocupado por tumores, em ratinhos (Nishioka Y. et al, (1999)). Um estudo recente recorreu à administração de uma mistura de células medulares com leucócitos, modificada pela transdução de IL-12 por DFG-mIL-12, num modelo experimental de carcinoma da próstata de ratinhos, tendo registado um efeito antimetastático significativo, tanto no osso como nos pulmões, com redução da produção de metástases ósseas e menor número de colónias metastáticas pulmonares. A IL-12 foi capaz de induzir respostas imunitárias e morte de células tumorais mediada por células NK e linfócitos T citotóxicos (Wang H. et al., (2007)). Os ratinhos que receberam células medulares tratadas com IL-12 transduzida por DFG-mIL-12 apresentaram também um aumento na sobrevivência durante o período de 40 dias de follow-up. Com este estudo ficou demonstrada a capacidade deste recurso terapêutico em administrar IL-12 na doença disseminada.

A modificação do tecido ósseo através de terapêutica genética necessita de estudos futuros que comprovem a sua eficácia, sobretudo devido às dificuldades apresentadas na distribuição sistémica dos vectores utilizados. Pensa-se que moléculas que actuem nas vias de formação das metástases possam vir a ser estudadas para utilização na prevenção da metastização óssea do carcinoma da próstata.

Outras Abordagens Terapêuticas

A metastização óssea no cancro da próstata continua a não ter, ainda, uma forma eficaz de prevenção completamente esclarecida e aprovada. Para além das terapêuticas mais frequentes, recorrendo a moléculas direccionadas para a inibição das vias metastáticas

conhecidas, existem, ainda, algumas alternativas que têm sido testadas neste campo. Neste grupo de armas terapêuticas incluem fármacos utilizados primariamente para outro tipo de patologias, radiofármacos, compostos naturais, entre outras. São também revistos alguns fármacos dirigidos a moléculas alvo já referidas como implicadas na fisiopatologia das metástases ósseas, para as quais existem ainda poucos estudos e evidências da sua eficácia.

A importância das integrinas para a metastização no cancro da próstata é conhecida, sabendo-se que desempenham acções nos processos de adesão, migração, invasão e motilidade. A integrina $\alpha_v\beta_3$ foi, inclusivamente implicada como indutora da actividade osteoclástica (Teitelbaum S.L., (2006)). Um antagonista selectivo das integrinas, o Cilengitide, está a ser estudado, actualmente, através de ensaios clínicos de fase II, pelo National Cancer Institute, com o intuito de avaliar a sua eficácia no tratamento de carcinoma da próstata metastático (NCT00103337) e no tratamento de carcinoma da próstata hormono-resistente não metastizado (NCT00121238) (Bradley D.A. et al, (2007)). No entanto, o seu hipotético papel na prevenção da metastização óssea está, ainda, por apurar.

As metaloproteinases, enzimas que degradam as proteínas da matriz extracelular, foram identificadas como tendo papéis importantes no processo de invasão tumoral e na desregulação da remodelação óssea, através da promoção da actividade do RANKL (Nemeth J.A. et al, (2002)). Um novo inibidor de várias metaloproteinases, o BMS-275291, foi utilizado num estudo em homem com carcinoma da próstata com disseminação óssea. A resposta de PSA não foi conseguida e o tempo para a progressão de sintomas foi de 8 semanas, em 56% dos doentes (Lara P.N. et al, (2006)). Apesar da ineficácia deste fármaco, poderá haver lugar a novos estudos com recurso a inibidores de metaloproteinases, nomeadamente com aferição do seu papel na prevenção da formação das metástases ósseas.

A radioterapia tem sido utilizada no carcinoma da próstata com o intuito de reduzir a dimensão do tumor, mas os radiofármacos são capazes de diminuir a actividade osteoclástica e reduzir a carga tumoral no osso (Goblirsch M. et al, (2004)). As áreas ricas em cristais de hidroxiapatite resultantes do processo metastático têm sido usadas como alvos preferenciais para a ligação de radiofármacos. Nos Estados Unidos da América estão já disponíveis 3 radiofármacos: 32 Fósforo, 89 Estrôncio (Porter A.T. et al, (1993)) e 153 Samário (Sartor O. Et al, (2004)). Ensaio clínico de fase III com utilização de 89 Estrôncio e 153 Samário mostraram um impacto na qualidade de vida dos doentes com carcinoma da próstata metastático, reduzindo também a utilização de opióides. Ainda assim, nenhum dos fármacos teve impacto na sobrevivência dos doentes ou actividade antitumoral, para além de ter sido registada toxicidade hematológica. Um estudo mais recente, revelou diferentes resultados para a utilização de 89 Estrôncio, apresentando um tempo médio até à progressão metastática de 11,27 meses, com uma sobrevivência média de 22,67 meses, em doentes de carcinoma da próstata com metástases osteoblásticas. O radiofármaco foi administrado em associação a um regime semanal citotóxico com alternância entre doxorubicina com cetozonazol e paclitaxel com estramustina (Amato R.J. et al, (2008)).

Tranilast é um fármaco amplamente utilizado em países como o Japão e Coreia do Sul, no tratamento de doenças alérgicas ou atópicas, como asma, rinite alérgica e dermatite atópica. Curiosamente, foi descoberto, recentemente, que este fármaco inibe a proliferação de células da matriz extra-celular, como os fibroblastos, miofibroblastos e células do músculo liso vascular, tanto *in vivo* como *in vitro*, assim como a proliferação celular em vários tumores. Com base nestes conhecimentos, um estudo procurou avaliar a eficácia do tranilast na supressão da proliferação celular no cancro da próstata e da diferenciação osteoclástica. Ratinhos foram inoculados com células de carcinoma da prósta nos ossos do crânio. Foi administrado tranilast durante 9 dias, em doses de 0, 200 e 400 mg/kg/dia. *In vitro*, foram

utilizadas células humanas de linhagens LNCaP, PC3 e DU145, uma linhagem de células de carcinoma da próstata de ratinho, PLS-10, e células de medula óssea, tratadas também com tranilast. Os resultados revelaram uma redução significativa dos volumes tumorais, para o grupo de dosagem maior, com observação de promoção da apoptose e necrose tumoral aparente. *In vitro*, obteve-se uma redução da proliferação celular em todas as linhagens celulares, com aumento da apoptose nas linhagens LNCaP e PLS-10, assim como uma redução da diferenciação osteoclástica nas células de medula óssea de ratinhos, levando os autores a concluir que o uso de tranilast pode ser eficaz na terapêutica de carcinoma da próstata com extensão ao osso, pelo que se aguarda por novos estudos que possam confirmar o efeito observado e procurar um efeito preventivo (Sato S. et al, (2009)).

A mTOR é uma serina/treonina quinase que regula vários sinais anti-apoptóticos (Castedo M. et al, (2002)). Um inibidor desta quinase, biodisponível por via oral, o everolimus (RAD001), induz a apoptose de células epiteliais e mostrou-se eficaz na supressão de tumores prostáticos, em ratinhos (Majumder P.K. et al, (2004)). Estes resultados orientaram um estudo com células C4-2 injectadas em tíbias de ratinhos tratados com RAD001, docetaxel e ácido zoledrónico, isoladamente ou em associação. Qualquer um dos fármacos foi capaz de diminuir o volume tumoral. Os níveis de PSA diminuíram para valores de 68% e 65%, no grupo que recebeu RAD001 e docetaxel, respectivamente. A associação dos 3 compostos foi a mais eficaz na redução do volume tumoral, com 64% de inibição em relação ao grupo de controlo. Para além destes resultados, o RAD001 mostrou ser o único a aumentar a massa corporal, em 3,6%, enquanto nos restantes grupos houve uma diminuição média de 4% (Morgan T.M., (2008)).

Por fim, refere-se um produto natural, derivado da magnólia, o honokiol. Vários estudos relataram a capacidade deste produto de inibir o crescimento celular endotelial, de células tumorais, assim como induzir a apoptose através da activação da via do citocroma c e

da activação de caspases. Para além disso, o honokiol inibe a activação do factor de crescimento endotelial vascular induzido pela Rac. Os efeitos deste fármaco foram avaliados num estudo com a inoculação de células C4-2 em ossos de ratinhos e administração diária de honokiol (100mg/kg) e/ou semanal de docetaxel (5mg/kg), durante 6 semanas. Os resultados demonstraram uma indução da decorrente da administração de honokiol, que foi também capaz de reduzir os níveis de PSA. A associação com docetaxel revelou efeitos aditivos em relação à administração isolada de honokiol. A análise imunohistoquímica confirmou a existência de efeitos de inibição do crescimento, proapoptóticos e antiangiogénicos nas metástases (Shigemura K. et al., (2007)). Esperam-se resultados futuros em relação a novos estudos com este produto, sobretudo no campo da prevenção da metastização óssea, que não foi ainda tido em conta.

Conclusão

O processo que leva à formação de metástases ósseas no carcinoma da próstata, é extremamente complexo e envolve um sem número de moléculas e vias distintas. A realização de estudos que permitam identificar os passos necessários a que uma célula tumoral com origem na próstata possa disseminar-se e colonizar o tecido ósseo com sucesso assume-se como uma necessidade, na tentativa de encontrar formas de prevenir esse processo.

Até à data foram já realizados alguns estudos que demonstram alguns efeitos anti-metastáticos de variadas moléculas, embora sem resultados suficientemente consistentes, que levem à aprovação de algum método terapêutico preventivo na metastização.

Espera-se que através de estudos já em curso e de ensaios ainda não desenhados, sobretudo procurando associações entre fármacos com mecanismos de acção distintos, se possam vir a encontrar opções válidas para a prevenção da formação de metástases no carcinoma da próstata, aumentando assim a sobrevivência dos doentes e evitando as sérias complicações a que estão sujeitos.

Bibliografia

Amato RJ (2008) Phase II Study of Strontium-89 in Combination With Alternating Weekly Chemohormonal Therapies for Patients With Advanced Androgen-Independent Prostate Cancer. *Am J ClinOncol* 31: 532–538.

Angelucci A et al (2006) Suppression of EGF-R signaling reduces the incidence of prostate cancer metastasis in nude mice. *Endocrine-Related Cancer* 13: 197–210

Asim M et al (2008) Src kinase potentiates androgen receptor transactivation function and invasion of androgen-independent prostate cancer C4-2 cells. *Oncogene* 27: 3596–3604.

Bergers G, Benjamin LE (2003) Tumorigenesis and the angiogenic switch. *NatRevCancer* 3: 401–10.

Bezzi M (2003) Zoledronate sensitizes endothelial cells to tumor necrosis factor-induced programmed cell death: evidence for the suppression of sustained activation of focal adhesion kinase and protein kinase B/Akt. *J BiolChem* 278:43603–14.

Bhatia V et al (2009) EB1089 inhibits the PTHrP-enhanced bone metastasis and xenograft growth of human prostate cancer cells. *Mol CancerTher*8(7): 1787–1798.

Boissier S et al (2000) Bisphosphonates inhibit breast and prostate carcinoma cell invasion, an early event in the formation of bone metastases. *CancerRes.* 60:2949–54.

Bouillon R et al (2008) Vitamin D and Health: perspectives from mice and man. *J Bone Min Res* 23: 974–9.

Boyce BF, Xing L (2008) Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys.* 473: 139–46.

Bradley DA (2007) Bone Directed Therapies for Prostate Cancer. *The Journal of Urology* 178: S42-S48.

Brown MD et al (2006) Promotion of prostatic metastatic migration towards human bone marrow stroma by Omega 6 and its inhibition by Omega 3 PUFAs. *Br J Cancer* 94: 842–53.

Bryden AAG et al (2002) E-cadherine and β -catenin are down-regulated in prostatic bone metastasis. *BJU International* 89:400-403

Carducci M et al (2004) Effects of atrasentan on disease progression and biological markers in men with metastatic hormone refractory prostate cancer: Phase 3 study. *J Clin Oncol* 22:4508.

Carducci MA et al (2003) Effect of endothelin-A receptor blockade with atrasentan on tumor progression in men with hormone-refractory prostate cancer: A randomized, Phase II, placebo controlled trial. *J Clin Oncol* 21:679–89.

Carducci MA, Jimeno A (2006) Targeting Bone Metastasis in Prostate Cancer with Endothelin Receptor Antagonists. *Clin Cancer Res* 12: 6296-6300.

Castedo M et al (2002). Mammalian target of rapamycin (mTOR): Pro- and anti-apoptotic. *CellDeathDiffer* 9:99–100.

Clarke NW et al (2009). Molecular mechanisms of metastasis in prostate cancer. *Asian Journal of Andrology* 11: 57–67.

ClinicalTrial.gov. Study on Prolonging Bone Metastasis-Free Survival in Men With Hormone Refractory Prostate Cancer Disponível em: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00286091>.

ClinicalTrials.gov. A study to evaluate the safety and efficacy of zoledronic acid in the prevention or delaying of bone metastasis in patients with stage IIIA and IIIB non-small cell lung cancer. Disponível em: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00172042>.

ClinicalTrials.gov. Zoledronate in preventing skeletal (bone)-related events in patients who are receiving androgen deprivation therapy for prostate cancer and bone metastases. Disponível em: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00079001>.

Cross D, Burmester JK (2006). Gene therapy for cancer treatment: past, present and future. *ClinMedRes* 4: 218–227.

Dahut WL et al (2004) Randomized Phase II trial of docetaxel plus thalidomide in androgen-independent prostate cancer. *J Clin Oncol* 22:2532–9.

Dai J et al (2008) Prostate cancer induces bone metastasis through Wnt-induced bone morphogenetic protein-dependent and independent mechanisms. *Cancer Res.* 68:5785–94.

Dearnaley DP et al (2009) Adjuvant therapy with oral sodium clodronate in locally advanced and metastatic prostate cancer: long-term overall survival results from the MRC PR04 and PR05 randomised controlled trials. *Lancet Oncol* 10:872–6.

Denoyelle C et al (2003) New insights into the actions of bisphosphonate zoledronic acid in breast cancer cells by dual RhoA-dependent and -independent effects. *Br J Cancer* 88:1631–40.

Eaton CL, Coleman RE (2003) Pathophysiology of bone metastases from prostate cancer and the role of bisphosphonates in treatment. *Cancer Treatment Reviews* 29; 189-198.

Ferrara N (2005) VEGF as a therapeutic target in cancer. *Oncology*69(3):11– 6.

Festuccia C et al (2005) Additive antitumor effects of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, gefitinib (Iressa), and the non steroidal antiandrogen, bicalutamide (Casodex), in prostate cancer cells in vitro. *International Journal of Cancer* 115 630–640.

Fidler IJ (2002) The organ microenvironment and cancer metastasis. *Differentiation* 70: 498–505.

Figg WD et al (2001) A randomized Phase II trial of thalidomide, an angiogenesis inhibitor, in patients with androgen independent prostate cancer. *ClinCancerRes* 7:1888 –93.

Glass DA et al (2005) Canonical Wnt signaling in differentiated osteoblasts controls osteoclast differentiation. *Dev Cell*. 8:751–64.

Goblirsch M et al (2004) Radiation treatment decreases bone cancer pain, osteolysis and tumor size. *Radiat Res* 161: 228.

Green JR (2004) Bisphosphonates: preclinical review. *Oncologist*. 9(4): 3–13.

Hall CL (2006) Role of Wnts in prostate cancer bone metastases. *J Cell Biochem* 97:661–72.

Hall CL et al (2008) Dickkopf-1 expression increases early in prostate cancer development and decreases during progression from primary tumor to metastasis. *Prostate*.

Hart CA et al (2005) Invasive characteristics of human prostatic epithelial cells: understanding the metastatic process. *Br J Cancer* 92: 503–12.

Hiraga T et al (2004) Zoledronic acid inhibits visceral metastases in the 4T1/luc mouse breast cancer model. *Clin Cancer Res*. 10:4559–67.

Holen I et al (2002) Osteoprotegerin (OPG) is a survival factor for human prostate cancer cells. *Cancer Res* 62: 1619–1623.

Ignatoski KMW et al (2008) RANKL Inhibition Is an Effective Adjuvant for Docetaxel in a Prostate Cancer Bone Metastases Model. *The Prostate* 68:820-829.

Jagdev SP et al (2001) The bisphosphonate, zoledronic acid, induces apoptosis of breast cancer cells: evidence for synergy with paclitaxel. *Br J Cancer* 84:1126–34.

Keller ET et al (2002) The role of osteoclastic activity in prostate cancer skeletal metastases. *Drugs Today* 38: 91–102.

Keller ET et al (2001) Prostate carcinoma skeletal metastases: cross-talk between tumor and bone. *Cancer Metastasis Rev* 20: 333–349.

Kim S et al (2006) Targeting platelet-derived growth factor receptor on endothelial cells of multidrug-resistant prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 98: 783–93.

Kissmeyer AM et al (1997) Metabolism of the vitamin D analog EB1089: identification of in vivo and in vitro liver metabolites and their biological activities. *Biochem Pharmacol* 53:1087–97.

Koreckij T (2003) Dasatinib inhibits the growth of prostate cancer in bone and provides additional protection from osteolysis. *British Journal of Cancer* 101: 263–268.

Lage MJ et al (2008) The Cost of Treating Skeletal-Related Events. *Am J Manag Care*. 14(5):317-322.

Lara PN (2006) A randomized phase II trial of the matrix metalloproteinase inhibitor BMS-275291 in hormone refractory prostate cancer patients with bone metastases. *Clin Cancer Res* 12: 1556.

Lehr JE, Pienta KJ (1998) Preferential adhesion of prostate cancer cells to a human bone marrow endothelial cell line. *Journal of the National Cancer Institute* 90: 118–123.

Lin A et al (2007) Zoledronic acid as adjuvant therapy for women with early stage breast cancer and occult tumor cells in bone marrow. *Breast Cancer Res Treat* 106 (1): Abstract 510.

Logothetis CJ et al (2008) Understanding the Biology of Bone Metastases: Key to the Effective Treatment of Prostate Cancer. *Clin Cancer Res* 14 (6): 1599-1602.

Logothetis CJ, Lin SH (2005) Osteoblasts in prostate cancer metastasis to bone. *Nat Rev Cancer* 5: 21–28.

Majumder PK et al (2004). mTOR inhibition reverses Akt-dependent prostate intraepithelial neoplasia through regulation of apoptotic and HIF-1-dependent pathways. *Nat Med* 10: 594–601.

Mason MD et al (2004) Development of bone metastases from prostate cancer: first results of the MRC PR04 trial (ISCRTN 61384873) (abstract). *Proc Am Soc Clin Oncol* , 4511.

Miwa S et al (2005) The Bisphosphonate YM529 Inhibits Osteolytic and Osteoblastic Changes and CXCR-4–Induced Invasion in Prostate Cancer. *Cancer Res* 65: 8818-8825.

Miyazaki T et al (2006) The role of c-Src kinase in the regulation of osteoclast function. *Mod Rheumatol* 16: 68–74.

Mohammad KS, Guiste TA (2003) Mechanisms of osteoblastic metastases: role of endothelin. *ClinOrthopRelat Res*. 415: S67-74.

Morgan G, Lipton A (2010) Antitumor Effects and Anticancer Applications of Bisphosphonates. *Semin Oncol* 37 (2):S30-S40.

Morgan TM et al (2008) RAD001 (Everolimus) Inhibits Growth of Prostate Cancer in the Bone and the Inhibitory Effects Are Increased by Combination With Docetaxel and Zoledronic Acid. *The Prostate* 68: 861-871.

Morris CD et al (2005) Specific inhibition of the endothelin A receptor with ZD4054: clinical and pre-clinical evidence. *Br J Cancer* 92: 2148-52.

Msaouel P et al (2008) Mechanisms of bone metastasis in prostate cancer: clinical implications. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 2: 341–355

Nagle RB (1994) Adhesion molecules, extracellular matrix, and proteases in prostate carcinoma. *J Cell Biochem Suppl* 19: 232–7.

Nathan FE et al (2005) Satraplatin: A new treatment option for patients with hormone refractory prostate cancer. *ASCO* 23:4802 [Abstract].

Nelson J et al (2003) The endothelin axis: Emerging role in cancer. *Nat Rev Cancer* 3:110–6.

Nemeth JA et al (2002) Matrix metalloproteinase activity, bone matrix turnover, and tumor cell proliferation in prostate cancer bone metastasis. *J Natl Cancer Inst* 94: 17.

Ning YM et al (2006) A Phase II trial of docetaxel, thalidomide, bevacizumab, and prednisone in patients with metastatic androgen-independent prostate cancer (AIPC) *ASCO* 24:13037.

Nishioka Y (1999) Induction of systemic and therapeutic antitumor immunity using intratumoral injection of dendritic cells genetically modified to express interleukin 12. *Cancer Res* 59: 4035–4041.

Oh WK (2007) Is there a role for platinum chemotherapy in the treatment of patients with hormone-refractory prostate cancer? *Cancer* 109: 477– 86.

Orr FW et al (1995) Tumor–bone interactions in skeletal metastasis. *Clin Orthop Relat Res* 312: 19–33.

Picus J et al (2003) The use of bevacizumab with docetaxel and estramustine in hormone refractory prostate cancer: Initial results of CALGB 90006. *Proc Am Soc Clin Oncol* 22: 1578.

Porter AT et al (1993) Results of a randomized phase-III trial to evaluate the efficacy of strontium-89 adjuvant to local field external beam irradiation in the management of endocrine resistant metastatic prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 25: 805.

Rentsch CA et al (2009) Loss of inhibition over master pathways of bone mass regulation results in osteosclerotic bone metastases in prostate cancer. *Swiss Med Wkly* 139 (15–16) : 220 – 225

Rosol TJ et al (2003) Animal models of bone metastasis. *Cancer* 97: 748–757.

Roudier MP et al (2008). Histopathological assessment of prostate cancer bone osteoblastic metastases. *J Urol* 180: 1154–60.

Russel MR et al (2008) The α -receptor for platelet-derived growth factor as a target for antibody-mediated inhibition of skeletal metastases from prostate cancer cells. *Oncogene* 28, 412–421.

Santini D et al (2003) Zoledronic acid induces significant and long-lasting modifications of circulating angiogenic factors in cancer patients. *Clin Cancer Res* 9: 2893–7.

Sartor O et al (2004) Samarium-153-Lexidronam complex for treatment of painful bone metastases in hormone-refractory prostate cancer. *Urology* 63: 940.

Sasaki A et al (1995) Bisphosphonate risedronate reduces metastatic human breast cancer burden in bone in nude mice. *Cancer Res* 55: 3551–7.

Sasaki A et al (1998) Effect of a newly developed bisphosphonate, YH529, on osteolytic bone metastases in nude mice. *Int J Cancer* 77: 279–85.

Sato S et al (2009) Tranilast Suppresses Prostate Cancer Growth and Osteoclast Differentiation In Vivo and In Vitro. *Prostate* 70: 229–238.

Schwaninger et al (2007) Lack of Noggin expression by cancer cells is a determinant of the osteoblast response in bone metastases. *Am J Pathol* 170: 160–75.

Seo SI et al (2008) BKM1740, an Acyl-Tyrosine Bisphosphonate Amide Derivative, Inhibits the Bone Metastatic Growth of Human Prostate Cancer Cells by Inducing Apoptosis. *ClinCancerRes*14(19).

Shariat SF et al (2004) Survivin expression is associated with features of biologically aggressive prostate carcinoma. *Cancer* 100: 751-7.

Shen X et al (2007) PTHrP contributes to the anti-proliferative and integrin $\alpha 6\beta 4$ -regulating effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Steroids* 72: 930–8.

Shigemura K et al (2007) Honokiol, a Natural Plant Product, Inhibits the Bone Metastatic Growth of Human Prostate Cancer Cells. *Cancer* 109:1279-89.

Sirotnak FM (2002) Studies with CWR22 xenografts in nude mice suggest that ZD1839 may have a role in the treatment of both androgen-dependent and androgen-independent human prostate cancer. *Clinical Cancer Research* 8: 3870–3876.

Sternberg CN et al (2005) Phase III trial of satraplatin, an oral platinum plus prednisone vs. prednisone alone in patients with hormone-refractory prostate cancer. *Oncology* 68: 2–9.

Tamamura H (2003) T140 analogs as CXCR4 antagonists identified as anti-metastatic agents in the treatment of breast cancer. *FEBS Lett* 550: 79–83.

Teitelbaum SL (2008) Osteoclasts and integrins. *Ann N Y AcadSci* 1068: 95.

Teo SK (2005) Properties of thalidomide and its analogues: Implications for anticancer therapy. *AAPS J* 7:E14 –9.

Vicentini C et al (2003) Prostate cancer cell proliferation is strongly reduced by the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor ZD1839 in vitro on human cell lines and primary cultures. *Journal of Cancer Research Clinical Oncology* 129: 165–174.

Wan M, Cao X (2005) BMP signaling in skeletal development. *Biochem Biophys Res Commun* 328:651–7.

Wang H et al (2007) IL-12 gene-modified bone marrow cell therapy suppresses the development of experimental metastatic prostate cancer. *Cancer Gene Ther* 14: 819–827.

Wang H, Thompson TC (2008) Gene-modified bone marrow cell therapy for prostate cancer. *Gene Therapy* 15, 787–796.

Weis WI, Nelson (2006) WJRe-solving the Cadherin-Catenin-Actin Conundrum. *The Journal of Biological Chemistry* 281: 35593–35597

Wirth M et al (2008) Effectiveness of zoledronic acid for the prevention of bone metastases in high-risk prostate cancer patients. A randomised, open label, multicenter study of the European Association of Urology (EAU) in Cooperation with the Scandinavian Prostate Cancer Group (SPCG) and the Arbeitsgemeinschaft Urologische Onkologie (AUO). A report of the ZEUS study [abstract 184]. Apresentado no Genitourinary Cancer Symposium; San Francisco C.A..

Yeatman TJ (2004) A renaissance for SRC. *NatRevCancer* 4: 470–480.

Zhang J et al (2001) Osteoprotegerin inhibits prostate cancer-induced osteoclastogenesis and prevents prostate tumor growth in the bone. *J Clin Invest* 107: 1235–1244.

Zhang J et al (2003) Soluble Receptor Activator of Nuclear Factor κ B Fc Diminishes Prostate Cancer Progression in Bone. *Cancer Research* 63: 7883