

La protezione della funzione ovarica nelle donne sottoposte a chemioterapia

Enzo Ballatori
Statistico medico,
Spinetoli (AP)

Fausto Roila
SC di Oncologia Medica
Azienda Ospedaliera
"S. Maria", Terni

RIASSUNTO

Sono discussi metodi e risultati di uno studio volto a valutare l'efficacia di goserelin, un agonista dell'ormone gonadotropo, nella protezione della funzione ovarica di giovani donne sottoposte a chemioterapia contenente ciclofosfamide.

Parole chiave. Distorsione da selezione, test unidirezionali, perdita della funzione ovarica.

SUMMARY

Ovarian protection during breast-cancer adjuvant chemotherapy

Methods and results of a study on the efficacy of goserelin, a gonadotropin-releasing hormone agonist, in the prevention of ovarian failure in young women submitted to chemotherapy-containing cyclophosphamide were discussed.

Key words. Selection bias, one-sided test, ovarian failure.

Un effetto collaterale di alcuni regimi chemioterapici particolarmente rilevante nelle donne giovani è l'induzione della menopausa precoce che non solo impedisce successive gravidanze, ma anticipa gli effetti indesiderati della menopausa, quali, ad esempio, lo squilibrio ormonale e la diminuzione della densità ossea.

Per quanto concerne la preservazione della funzione riproduttiva l'American Society of Clinical Oncology (ASCO) incoraggia le giovani a rivolgersi a specialisti della funzione riproduttiva per valutare la possibilità di una crioconservazione di embrioni. Tuttavia, per ragioni di tempi, nel senso che il congelamento degli embrioni ritarderebbe l'inizio della chemioterapia, e di costi, tale raccomandazione è poco seguita.

La somministrazione congiunta di un agonista dell'ormone gonadotropo alla chemioterapia può essere un'opzione più praticabile, anche usata congiuntamente alla pratica del congelamento degli embrioni, perché comunque riduce il rischio di insorgenza della menopausa precoce con tutti gli effetti indesiderati che essa comporta, come è già stato dimostrato da un gruppo di ricerca italiano (Del Mastro L, et al. Effect of the gonadotropin-releasing hormone analogue triptorelin on the occurrence of chemotherapy-induced early menopause in premenopausal women with breast cancer. JAMA 2011; 306: 269-76). Lo studio sintetizzato nella scheda si colloca in questo contesto.

Lo studio è randomizzato, a gruppi paralleli, *open label*, condotto con donne in premenopausa di età compresa tra 19 e 49 anni, randomizzate a ricevere la chemioterapia più o meno Goserelin (GOS), un agonista dell'ormone gonadotropo. Si tratta di uno studio "ospite", nel senso che le pazienti sono state arruolate tra le partecipanti ad altri trial; quindi, probabilmente non si sono potute porre in essere tutti gli accorgimenti per un disegno ed un management ottimale della ricerca; il che avrebbe evitato almeno alcuni dei difetti che il lavoro presenta, come, ad esempio, la mancata cecità, e avrebbe potuto limitare l'entità del numero dei persi al follow up, difetti che saranno discussi in ordine sparso, e non in una graduatoria di severità ai fini della valutazione dell'attendibilità dei risultati ottenuti.

Endpoint secondari

Due dei tre obiettivi secondari sono insignificanti e quindi, a nostro avviso, non andavano né previsti nel protocollo, né analizzati.

- a. **Sopravvivenza.** Trattandosi di uno studio di terapia neoadiuvante e adiuvante, il periodo di follow up (mediana: 4,1 anni) è troppo breve per valutare effetti di GOS sulla sopravvivenza globale e sulla sopravvivenza libera da progressione, come si può osservare anche dalle curve riportate nel lavoro: oltre l'80% delle pazienti dopo 4 anni è ancora in vita e poco più del 20% di esse è andato in progressione; in corrispondenza di tempi superiori le numerosità delle pazienti si fanno così piccole da rendere infattibile il confronto. L'irrelevanza di tali endpoint discende dalla considerazione che nessuno può assicurare che il guadagno osservato a favore di GOS si mantenga nel tempo, in quanto nel prosieguo del follow up esso potrebbe essere riassorbito o addirittura rovesciato. Queste considerazioni evitano anche di commentare l'uso del modello di Cox per la valutazione della sopravvivenza e di indagare sulle ragioni per cui la risposta è aggiustata per i fattori di stratificazione usati nella randomizzazione, dato che questi sono introdotti solo per avere due gruppi perfettamente comparabili (una volta stratificata la randomizzazione, sembra inutile aggiustare perché i due bracci sono perfettamente bilanciati rispetto ad essi).
- b. **Gravidanze.** A causa della mancata (e forse difficile da realizzare per uno studio "ospite") cecità dello studio, le donne sottoposte a sola chemioterapia più difficilmente delle altre, che ricevevano (e sapevano di ricevere) anche un farmaco protettore della funzione ovarica, avrebbero forse deciso di avventurarsi in una gravidanza. L'argomento si presta ad una più generale riflessione sulle la-

cune di conoscenza nella ricerca clinica circa una serie di argomenti che sembrano invece rilevanti. Ad esempio, non sappiamo quante (e quali) donne eleggibili abbiano deciso di non dare il consenso ad entrare nello studio perché, tenendo troppo a preservare la funzione ovarica, sapevano (dal consenso informato) che, se avessero partecipato, avrebbero avuto solo 1/2 di probabilità di ricevere GOS, mentre, al di fuori dello studio, avrebbero potuto comunque averlo. Si potrà obiettare che essendovi stata la randomizzazione, tale informazione è irrilevante ai fini del confronto, e in qualche modo è così. Ma conoscere

la frazione delle partecipanti, e le loro caratteristiche rispetto al totale delle donne eleggibili, è utile per ridefinire la popolazione target. Se la frazione delle mancate adesioni allo studio fosse elevata i risultati non potrebbero essere più riferiti alle donne eleggibili, ma solo a quelle che hanno dato il consenso e che potrebbero rappresentare un sottogruppo diversamente connotato da quello di tutte le donne cui è stato chiesto di partecipare. Infine, nello specifico, non ci sono dati sulle gravidanze tentate rispetto a quelle andate a buon fine, così come non ci sono dati sulla integrità dei nati, importanti in quanto la

SCHEDA

Moore HCF, Unger JM, Phillips K-A, et al. Goserelin for ovarian protection during breast-cancer adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med* 2015; 372: 923-32.

Questo studio di fase III ha per obiettivo di provare se l'impiego di un agonista dell'ormone gonadotropo riesce a proteggere la funzione ovarica delle pazienti sottoposte a chemioterapia.

Pazienti e metodi

Donne in pre-menopausa di età compresa tra 18 e 49 anni furono considerate eleggibili se affette da carcinoma mammario ER- e PR-, stadio I-IIIa, per le quali fosse pianificata una chemioterapia neo-adiuvante o adjuvante a base di ciclofosfamide. Le partecipanti furono arruolate tra le donne reclutate in vari studi internazionali sul carcinoma della mammella (SWOG, IBCSG, ecc.).

Le pazienti furono randomizzate 1:1 a ricevere il trattamento standard previsto dal protocollo dello studio di provenienza, da solo (S) o in aggiunta al Goserelin (GOS). La randomizzazione fu stratificata per età (<40, 40-49 anni), regime di chemioterapia (3-4 cicli vs 6-8 cicli), uso di antracicline (sì, no).

Obiettivo primario: confronto del tasso di perdita della funzione ovarica tra i due gruppi di trattamento. La perdita della funzione ovarica fu definita come amenorrea negli ultimi 6 mesi e livelli dell'ormone follicolo-stimolante (*Follicle-Stimulating Hormone*, FSH) nel range post-

menopausale a 2 anni. In ogni caso, le pazienti rimaste incinte furono considerate tra coloro che non avevano subito la perdita della funzione ovarica. Le donne che avevano subito un'isterectomia o una ooforectomia bilaterale non furono valutate.

Endpoint secondari: gravidanza entro 5 anni (valutata annualmente), disfunzione ovarica, definita come amenorrea negli ultimi 3 mesi e livelli post-menopausali di FSH, o estradiolo, o inibina B valutati dopo 1 e 2 anni dalla randomizzazione.

Inoltre, furono considerate la sopravvivenza globale e la sopravvivenza libera da malattia (*Disease-Free Survival*, DFS).

Solo gli eventi avversi correlati agli effetti ormonali e gli eventi avversi gravi occorsi durante la chemioterapia furono registrati routinariamente.

Fissata come clinicamente rilevante una riduzione del 15% del tasso di perdita della funzione ovarica con l'uso di GOS e stabilito un livello di significatività del 2,5% per il test unidirezionale scelto per eseguire il

confronto tra i due gruppi, si sarebbero dovute reclutare 416 pazienti per avere una probabilità dell'80% di trovare una differenza significativa.

Lo studio fu chiuso anticipatamente per mancanza di fondi per la distribuzione dei farmaci. Tuttavia, ad una rivalutazione *post hoc*, considerando le pazienti effettivamente arruolate, risultò che lo studio avrebbe avuto una potenza superiore all'80% se la differenza minima clinicamente rilevante della differenza nel tasso di perdita della funzione ovarica fosse stata fissata al 20% (anziché al 15%).

L'analisi statistica dell'endpoint primario fu condotta mediante un modello logistico, considerando tutte le pazienti valutabili che avessero completato i 2 anni di follow up, assumendo come variabili esplicative il fattore età (due livelli: <40, 40-49 anni) e il tipo di chemioterapia [in altre parole, gli stessi fattori usati per stratificare la randomizzazione]. Inoltre, furono analizzate sia la frequenza delle gravidanze nei due gruppi, sia la sopravvivenza globale a 4 anni, derivando la stima dell'HR (Hazard ratio) e il relativo intervallo di confidenza al 95% in base al modello di Cox, con aggiustamento per i fattori di stratificazione e per stadio della malattia.

chemioterapia potrebbe interferire con il sistema riproduttivo anche in modi diversi dalla perdita della funzione ovarica.

Gruppo di controllo

Il braccio di controllo non riceve alcun trattamento. Questa è una situazione che, in linea di massima, dovrebbe essere evitata, perché se poi (come di fatto è accaduto) il gruppo di trattamento mostra migliori risultati questi, in generale, potrebbero essere imputati al solo effetto placebo del farmaco. Nel caso presente probabilmente non è così non solo per il

quadro teorico di riferimento, ma perché i suoi risultati corroborano quelli ottenuti da altri studi sull'argomento.

Test unidirezionali

Tra i metodi usati per la determinazione della numerosità del campione viene menzionato il test unidirezionale (sebbene considerato ad un livello di significatività dimezzato: 0,025, anziché 0,05). Apparentemente il razionale dello studio sembra consentirlo, perché un gruppo di pazienti riceve la sola chemioterapia, mentre all'altro gruppo viene aggiunto goserelin. In realtà, un notevole numero di mancate valutazioni

Risultati

Un totale di 257 pazienti fu randomizzato tra febbraio 2004 e maggio 2011. Di queste pazienti, 24 risultarono inleggibili e 15 non valutabili, lasciando 218 pazienti nello studio, 105 nel gruppo sperimentale (GOS) e 113 in quello di controllo (S, solo chemioterapia). Ma per impossibilità di valutare la perdita della funzione ovarica per morte, per perdita al follow up, e per altre ragioni, le pazienti realmente considerate ai fini dell'endpoint primario furono 69 nel gruppo di controllo (S) e 66 in quello sperimentale (GOS). Il follow up mediano fu di 4,1 anni. Le caratteristiche delle pazienti furono trovate ben bilanciate tra i due gruppi, sia considerando le 218 pazienti eleggibili che le 135 valutate.

Endpoint primario: perdita della funzione ovarica. In 15/69 pazienti del gruppo di controllo (22%) e in 5/66 pazienti del gruppo sperimentale (8%) fu riscontrata la perdita della funzione ovarica. Il modello logistico mostrò che questa differenza era significativa, sia rispetto ad un test unidirezionale ($P = 0,02$) che a quello bidirezionale ($P = 0,04$); l'odds ratio fu pari a 0,30, con un intervallo di confidenza da 0,09 a 0,97. La significatività della differenza si mantenne anche considerando il solo fattore

"trattamento" [ossia, senza aggiustare per i fattori considerati nella randomizzazione stratificata]. Analogamente, anche considerando come variabile risposta l'amenorrea o i livelli di FSH postmenopausale a 2 anni, la significatività della differenza tra i due gruppi fu raggiunta.

Endpoint secondari.

- La **disfunzione ovarica** fu valutata a 1 anno e a 2 anni, considerando le pazienti in stato mestruale che avessero avuto almeno due valutazioni di laboratorio, cioè due o più misure di FSH o di estradiolo o di inibina B. A un anno erano disponibili dati per 153 pazienti. La disfunzione ovarica fu presente in 28 delle 75 pazienti (37%) del gruppo di controllo (S) e in 18/78 pazienti (23%) del gruppo sperimentale (GOS), differenza non significativa. A 2 anni i dati furono disponibili per 130 pazienti. La disfunzione ovarica era evidenziata in 22/67 pazienti (33%) nel braccio di controllo e in 9/63 pazienti (14%) nel braccio sperimentale ($P < 0,03$).
- **Gravidanze.** Tra le 238 pazienti che potevano essere valutate, 34 (12%) ebbero almeno una gravidanza: 12/113 (11%) nel gruppo S e 22/105 (21%) nel gruppo GOS; tale differenza risultò significativa ($P = 0,03$).

Sopravvivenza libera da malattia e sopravvivenza globale.

Le stime di Kaplan-Meier a 4 anni mostrano un leggero vantaggio per il gruppo sperimentale, sia per quanto riguarda la sopravvivenza libera da malattia (con aggiunte le morti) 89% nel gruppo GOS e 78% nel gruppo S ($P = 0,04$), sia per la sopravvivenza globale: 92% nel braccio GOS e 82% nel braccio S ($P = 0,05$).

Tollerabilità dei trattamenti.

Le pazienti valutate per tossicità furono 214, 111 nel gruppo di controllo (S) e 103 nel gruppo sperimentale (GOS). Gli effetti tossici di grado 3 o 4 furono pochi sia nel gruppo S (6/111, 5,4%) che nel gruppo GOS (8/103, 7,8%). Tuttavia, alcuni effetti tossici di grado 2 furono più frequenti nel braccio GOS che nel braccio S, in particolare vampate di calore (29 vs 14) e mal di testa (12 vs 1). Sia nella sezione discussione, sia nel riassunto sono stati sempre evidenziati i maggiori punti critici del lavoro: l'incompleto arruolamento rispetto a quanto previsto dal protocollo e l'elevato numero di *missing data*. Tuttavia gli autori concludono sostenendo che i risultati confermano quanto provato in altri studi circa la protezione della funzione ovarica indotta da agonisti dell'ormone gonadotropo somministrati nel corso della chemioterapia. •

| **Casi clinici** | La protezione della funzione ovarica nelle donne sottoposte a chemioterapia

potrebbe essere prevenuto e, quando molti pazienti non sono valutati il dubbio della presenza di una distorsione da selezione fa cadere i presupposti per l'uso di un test unidirezionale (di ciò si parlerà in dettaglio nella rubrica Statistica per concetti).

Incompletezza dell'arruolamento

Come sottolineato più volte dagli autori (persino nel summary), il più importante limite del lavoro deriva dalla chiusura precoce dello studio e dalla possibile distorsione da selezione dovuta all'elevata frazione di pazienti per cui non fu valutato l'endpoint primario. Gli autori hanno reiteratamente avvertito dell'esistenza di tali problemi, e, quindi, della necessaria cautela con cui vanno interpretati i risultati, ma ciò, se attesta la loro onestà intellettuale, non rimuove certo il difetto.

Delle 416 pazienti che, in base al protocollo, si sarebbero dovute arruolare, ne furono randomizzate 233, ma di 15 non fu possibile la valutazione (9 avevano ritirato il consenso, 5 avevano subito un intervento di isterectomia, 1 di ooforectomia).

Delle restanti 218 pazienti che furono randomizzate e valutabili, solo per 135 fu valutata la perdita della funzione ovarica a 2 anni (endpoint principale). In conclusione, la preventivata dimensione del campione si è ridotta ad 1/3.

Conclusioni

Lo studio è randomizzato e appare meticolosamente condotto. Desti qualche sorpresa il fatto che un simile studio, che non ha prodotto rilevanti novità in materia, data l'esistenza di studi pubblicati in precedenza sullo stesso argomento, e con tutti i difetti che ha, sia stato pubblicato dal NEJM.

Malgrado tutto, si può ritenere che goserelin abbia una sua efficacia. Infatti, la perdita della funzione ovarica si è osservata in 5/66 (8%) nel gruppo GOS e in 15/69 (22%) pazienti nel gruppo S (differenza significativa), valori assai vicini a quelli ottenuti circa 4 anni prima dallo studio di Lucia Del Mastro et al., sopra citato, con triptorelin (8,9% nel gruppo delle pazienti trattate, 25,9% nel gruppo di sola chemioterapia). Va osservato che poco meno del 10% delle giovani donne sottoposte a chemioterapia e trattate con un farmaco che protegge la funzione ovarica, comunque la perdono. Pertanto andrebbe raccomandato alle pazienti che tengono particolarmente alla loro capacità riproduttiva di seguire, se possono, anche la strada della crioconservazione degli embrioni. •

Statistica per concetti

Test bidirezionali e test unidirezionali

Riassunto

Vengono anzitutto sintetizzate la logica e la costruzione di test statistici per l'analisi dei risultati di esperimenti comparativi, precedentemente trattate nei numeri 5 e 6 di CASCO, con lo scopo di procedere alla definizione dei test unidirezionali, più potenti di quelli bidirezionali, illustrando le ragioni del loro scarso utilizzo nella ricerca clinica.

Parole chiave. Test unidirezionale, test bidirezionale, livello di significatività, valori critici del test.

Summary

Two-sided and one-sided statistical tests

Methodological aspects of statistical tests used in comparative studies, previously described in CASCO 5 and 6, were synthesized to introduce the one-sided tests, more powerful than two-sided tests, highlighting the reasons of their not frequent use in clinical research.

Key words. One-sided test, two-sided test, significance level, critical values of a statistical test.

L'argomento riguarda tutti i tipi di test statistici che man mano sono stati descritti dal n. 5 al n. 11 di CASCO. Per facilitarne la comprensione, si consiglia di riguardare la costruzione dei test statistici esposta nel n. 6 di CASCO (estate 2013) e la logica del test statistico esposta nel n. 5 di CASCO. Comunque, per comodità del Lettore, riepiloghiamo i punti salienti della costruzione di un test statistico in modo tale che il contenuto della rubrica resti, come al solito, autosufficiente, nel senso che non richieda conoscenze pregresse.

Costruzione di un test statistico (sintesi)

1. Formulazione dell'ipotesi nulla, H_0 . Negli esperimenti comparativi, l'ipotesi nulla è quella di uguale efficacia dei trattamenti. Siano A e B due trattamenti e P_A e P_B (parametri sconosciuti) le frequenze relative dei successi terapeutici nelle popolazioni target (cioè nelle popolazioni cui va riferito il risultato del test). Se i due trattamenti hanno la stessa efficacia, le percentuali di successi nelle due popolazioni sono uguali:

$$H_0 : P_A = P_B \text{ o anche } H_0 : P_A - P_B = 0.$$

2. Formulazione dell'ipotesi alternativa, H_1 . L'ipotesi alternativa sia quella di differente efficacia; pertanto, se i