

Ingrid Garajova': ASSEGNO DI RICERCA, Final Report: "Studio clinico e molecolare di pazienti con patologia neoplastica del colon e del retto e con patologia neoplastica epato-biliare". Tutor: prof. Guido Biasco

Centro Interdipartimentale di ricerche sul cancro "Giorgio Prodi" (CIRC), Bologna

Il carcinoma del colon retto (CRC) è il secondo tumore più frequente in Europa ed il quarto come causa di morte. L'approccio terapeutico per il CRC dipende, in generale, dallo stadio del tumore (classificazione TNM), dalla presenza o meno delle mutazioni di KRAS/NRAF/BRAF o di instabilità dei microsatelliti. Il trattamento del CRC di stadio II è molto complesso in quanto, in seguito all'intervento di asportazione radicale del tumore, l'indicazione ad un trattamento adiuvante è controverso (a differenza degli stadi III). Esiste pertanto l'esigenza di identificare marcatori di prognosi/resistenza al trattamento adiuvante. Scopo di questo progetto in corso è stato quello di valutare dal punto di vista clinico, genetico, epigenetico e trascrittomico (microRNA) un gruppo pilota di CRC, nello stadio II, radicalmente operati, recidivati o non recidivati nel follow-up, per identificare i pazienti che potrebbero beneficiare di terapia adiuvante.

Secondo le linee guida AIOM ed ESMO, la terapia adiuvante viene proposta ai pazienti con i tumori del colon radicalmente operati in stadio III. In questo stadio, la terapia adiuvante riduce il rischio di recidiva di 10-20 per cento. Controverso è l'uso della terapia adiuvante negli stadi II dove il beneficio della chemioterapia adiuvante è molto basso, dal 2 al 5 per cento. La terapia adiuvante infatti viene proposta ai pazienti con il adenocarcinoma colico, stadio II, solo in presenza di alcuni fattori di rischio che includono ostruzione o perforazione intestinale alla diagnosi, stadio T4, invasione linfatica/vascolare/perineurale, scarsa differenziazione del tumore ed analisi di pochi linfonodi (meno di 12). Inoltre, recenti studi hanno dimostrato che la chemioterapia adiuvante sia di beneficio solo nei CRC di stadio II che presentano stabilità dei microsatelliti (MSS) o bassa instabilità (MSI-low) dei microsatelliti. Gli attuali fattori prognostici in uso tuttavia sono poco efficaci nell'identificare i tumori del colon nello stadio II con cattiva prognosi che presentano la recidiva di malattia. Il

nostro approccio sarà quello di eseguire un'indagine molto approfondita con tecniche -omiche che vadano ad esaminare tutti i possibili biomarker prognostici in una "discovery cohort" di pazienti con CRC di stadio II (sottogruppo T3N0). Dalle nostre conoscenze attuali non ci risulta che questa indagine sia mai stata fatta.

Dal punto di vista clinico, visti gli studi recenti che hanno dimostrato le differenze nella prognosi e nella sensibilità di trattamento tra il cancro del colon sinistro (LCC) e destro (RCC), abbiamo indagato sulla correlazione tra la localizzazione del tumore primitivo (LCC vs RCC) nello stadio II e la sopravvivenza dei pazienti nei termini di disease-free survival (DFS) ed overall survival (OS). Abbiamo analizzato un totale di 125 pazienti CRC, stadio II. Le curve di DFS e OS sono state costruite utilizzando il metodo Kaplan-Meier e le differenze sono state analizzate usando il test log-rank (Mantel-Cox). È stata eseguita una analisi Cox per determinare l'associazione dei fattori clinico-patologici con DFS e OS. Il valore p è stato testato in modo bilaterale e valori inferiori a 0,05 sono stati considerati statisticamente significativi. I nostri risultati hanno dimostrato, che se la localizzazione del tumore a destra viene considerata tra i fattori di rischio, si osserva una differenza statisticamente significativa in OS tra i pazienti ad "rischio elevato" (gruppo con i fattori rischio come da definizione secondo le linee guida AIOM/ESMO oppure RCC) rispetto al gruppo a "basso rischio" (senza fattori di rischio, solo LCC) ($p = 0,02$). Questa tendenza è stata osservata indipendentemente dalla terapia adiuvante. L'analisi Cox ha dimostrato che la localizzazione del tumore primitivo è un fattore di rischio indipendente per OS (HR = 0.196; 95% CI = 0.048-0.795; $p = 0.023$). Quindi, la posizione del tumore primario potenzialmente possiede un valore prognostico nel CRC di fase II.

Inoltre abbiamo a disposizione dati preliminari derivanti da analisi di metilazione globale effettuata con Illumina 850K array su 10 pazienti CRC stadio II (in particolare sottogruppo T3N0) con buona prognosi (senza recidiva) e con cattiva prognosi (recidiva) dopo l'intervento chirurgico, con almeno 5 anni di follow-up. Abbiamo identificato numerosi siti di metilazione associati al rischio di metastatizzazione. Lo stato di metilazione dei siti CpG è in grado di modificare l'attività e l'espressione dei geni che regolano. I dati preliminari ci confermano una differenza significativa nel pattern di metilazione di diversi geni tra CRC stadio II con o senza recidiva. I dati

preliminari devono però essere validati sulla stessa casistica e su una casistica più ampia di pazienti con una metodica indipendente.

Inoltre, da integrare i dati di metilazione, saranno i dati di mutazione di un pannello di geni frequentemente mutati nei tumori del colon, analizzato mediante tecniche di sequenziamento parallelo massivo (NGS). Analizzeremo infine il profilo di espressione di microRNA dei campioni CRC stadio II (in particolare sottogruppo T3N0) con buona/cattiva prognosi per valutare se l'integrazione di tutte le tipologie di marcatori (genetici, epigenetici e di espressione) possa apportare un miglioramento nella nostra capacità di identificare i pazienti a rischio di metastasi. A questo scopo verranno applicati algoritmi matematici di predizione.

Bologna, 5 Giugno 2017

Ingrid Garajova.....

