



16 MAGGIO 2018

SECONDA GIORNATA DELLA RICERCA LILT

Abstract dei progetti di ricerca



INDICE

Sezioni LILT di Milano Specchio Riflesso. Un intervento multimodale di prevenzione primaria del tabagismo nella preadolescenza	PAG. 3
Sezione LILT di Catania Digital droplet PCR su biopsia liquida e modelli computazionali per l'ottimizzazione della diagnosi precoce del melanoma cutaneo	PAG. 7
Sezione LILT di Caserta Valutazione Comparata del rischio oncologico in aree ad alto impatto ambientale del sud Italia	PAG. 12
Sezione LILT di Reggio Emilia Il modello dei Luoghi di Prevenzione: implicazioni formative e educative del laboratorio di neuro psicobiologia denominato "Human Neuroscience Lab" negli interventi di Prevenzione degli stili di vita a rischio di applicazione del Modello Transteorico del cambiamento	PAG. 16
Sezione LILT di Mantova Correlazione tra risposta terapeutica e trascritti genici circolanti nei pazienti affetti da neoplasie neuroendocrine (NET) del distretto gastro-entero-pancreatico Progetto esplorativo (proof of principle) condotto presso l'Istituto Nazionale Tumori	PAG. 20
Sezione LILT di Treviso Valutazione dei risultati clinici e cosmetici delle pazienti sottoposte a IORT all'ospedale di Treviso	PAG. 27
Progetto Nazionale LILT - Università degli Studi di Roma Tor Vergata Fondazione PTV PREVENZIONE DONNA - Programmi di prevenzione del tumore endometriale	PAG. 31



Specchio Riflesso. Un intervento multimodale di prevenzione primaria del tabagismo nella preadolescenza

Sezioni LILT di Milano, Bergamo, Brescia, Lodi, Pavia, Varese.

Responsabili scientifici
dr. Alessio Gamba, LILT Milano,
prof.ssa Patrizia Steca, Università Bicocca

INTRODUZIONE

L'implementazione di efficaci strategie di prevenzione primaria del tabagismo a partire dalla preadolescenza è sempre più necessaria per un efficace intervento sulla promozione di una cultura della salute. La recente indagine Doxa (2016) ha evidenziato una presenza del comportamento di fumo pari al 27.1% della popolazione italiana nella fascia d'età compresa tra i 15 e i 24 anni, mentre il 13.8% dei fumatori dichiara di aver iniziato a fumare prima dei 15 anni. Come evidenziato dalle Linee Guida "Prevenzione primaria del fumo di tabacco" (NIEBP, 2013), la scuola rappresenta uno dei luoghi d'elezione per l'attuazione di efficaci interventi per la sensibilizzazione anti-fumo nei giovani. Infatti, questo contesto educativo garantisce una copertura universale grazie all'obbligatorietà dell'istruzione fino al sedicesimo anno d'età e può mobilitare e coinvolgere facilmente anche altre realtà, come le famiglie.

In quest'area i più comuni interventi per la prevenzione primaria del tabagismo nelle scuole italiane hanno scelto principalmente un approccio informativo in cui specialisti della salute spiegano ai ragazzi gli effetti dannosi del fumo per la salute e cercano di "smantellare" le false credenze legate ai comportamenti tabacco-correlati (es., controllo del peso, accettazione sociale). Tuttavia numerose rassegne (Bruvold, 1993; Turbin *et al.*, 2000; Thomas *et al.*, 2013) hanno dimostrato che i programmi informativi si dimostrano spesso meno efficaci, rispetto a quelli incentrati sulle competenze emotive e sulla capacità di gestire le influenze e le pressioni sociali, nel prevenire il tabagismo nei giovani non fumatori (Thomas *et al.*, 2013). A superamento di quest'approccio di tipo informativo-cognitivo, è stato sviluppato l'approccio basato sulle "Life Skills" (WHO, 1993) che ha trovato nel "The Life Skills Training" (cfr. Botvin e Griffin, 2015), il più continuativo e sistematico programma di interventi e di ricerche scientifiche, che approfondisce i rischi e i fattori protettivi riferiti a comportamenti di salute, sottolineando l'insegnamento delle abilità che promuovono la resistenza sociale e i fattori di rinforzo, sia personale che sociale. È necessario, quindi, un approccio più contemporaneo e innovativo all'educazione sanitaria non più solo di tipo informativo o didattico, ma che permetta di integrare contenuti, emozioni, ed esperienze in modo da aiutare preadolescenti ed adolescenti a fare scelte più consapevoli relative al comportamento di fumo. In questa linea si colloca il progetto **"SPECCHIO RIFLESSO"**, proposto dalla Sezione Milanese della Lega Italiana per la Lotta contro i Tumori, con le sezioni di Bergamo,

Brescia, Lodi, Pavia, Varese; si tratta di un intervento basato sulla tecnica del teatro sociale e finalizzato a facilitare un'esperienza in cui osservarsi, scoprirsi nella propria individualità e dentro un gruppo, avendo come punto di arrivo e confronto quello di una esplicitazione rispetto al tabagismo. Il paradigma di intervento implicava una teoria della mente, allargata in direzione di sostenere una capacità metacognitiva e riflessiva (cfr. ad es. Fonagy e Target, 2001), per fare scelte comportamentali più consapevoli e autonome. Sullo sfondo si delinea anche il costrutto di 'intelligenza emotiva' (Mayer, Salovey, e Caruso, 2004), con specifici contributi psicologici - ad es. il richiamo alla creatività personale e alla costruzione di Vero Sè identitario, di Winnicott (cfr. ad es. Winnicott, 1971) - e pedagogici (tra cui quelli di studiosi più attenti alla cooperatività, all'arricchimento e al protagonismo giovanile: Montessori, Dewey, Froebel, Kilpatrick, Pestalozzi, tra gli altri). Ovviamente, questo orizzonte colloca l'intervento di educazione sanitaria in un percorso di sostegno ai processi di individuazione e personalizzazione di ogni individuo, svolto primariamente dalla famiglia, dalla scuola e dai vari ambienti di vita. È un intervento **multimodale** nel momento in cui questo approccio prosegue su contenuti e metodologie proprie del percorso formativo, gestito non da specifici "esperti" ma da ogni persona che ricopre un ruolo educativo verso questi ragazzi, ma anche **multidimensionale**, dal momento che la capacità di scelta non si limita all'area della salute, ma comprende ogni dominio rilevante per la vita di ciascuno. Lo strumento di intervento è stato quello del **teatro sociale**, dove l'emergenza - nel contenitore gruppale - dei contributi creativi (che nascono su dimensioni corporee, emotive, cognitive e relazionali) di ciascuno trova uno spazio per una esplicitazione (individuale, focus del primo anno di intervento) e condivisione (nel gruppo, focus del secondo anno), sia dei vissuti che dei percorsi decisionali in merito ai comportamenti legati alla salute e al tabagismo. Gli strumenti operativi dell'azione teatrale erano rappresentati da varie possibilità e contesti di identificazione e scelta: con il gruppo "di chi non fuma", con "quelli che fumano", con "chi si nasconde", con "gli indifferenti/acquiescenti" o infine "con chi si confronta".

VERIFICA DI EFFICACIA

L'intervento è stato finalizzato a portare i preadolescenti a una maggior consapevolezza, a esplicitare e a sottoporre a una riflessione critica gli atteggiamenti, le rappresentazioni e le emozioni associate alle proprie scelte intorno al fumare, e le connotazioni positive e negative associate al fumare e alle persone fumatrici, per potenziarne le capacità di autonomia di giudizio, di decisione e di resistenza alle pressioni dei pari, con un approccio che valorizza la capacità di riflettere sulle esperienze e sui possibili comportamenti in una logica di empowerment personale. L'intervento è stato sottoposto a una verifica di efficacia, effettuata confrontando un gruppo sperimentale, che ha ricevuto l'intervento (191 alunni di 10 classi hanno partecipato al progetto, realizzato in due incontri in classe prima e due in classe seconda della scuola secondaria di primo grado), con un gruppo di controllo che non lo ha ricevuto (324 adolescenti di 10 classi).

Gli atteggiamenti e le emozioni, sia positive che negative, associate al fumo e le convinzioni d'efficacia nel resistere alle pressioni dei pari e di esprimere le proprie opinioni sono stati misurati tramite questionari: la Positive Affect and Negative Affect Schedule - Expanded Form (PANAS-X; Watson e Clark, 1999), per le emozioni associate al fumo; una versione adattata della Tobacco Attitude Scale (TAS; Meier, 1991), per gli atteggiamenti verso il fumo; la Scala di Autoefficacia Regolatoria Percepita (Caprara *et al.*, 1999) per la misurazione dell'autoefficacia regolatoria. Nelle classi del gruppo sperimentale sono state effettuate quattro valutazioni collocate, nei seguenti momenti: T0 - prima dell'intervento Specchio Riflesso nelle classi prime della scuola secondaria di primo grado; T1 - a circa 4/6 settimane dalla conclusione dell'intervento; T2 - nei

primi mesi dell'anno scolastico delle classi seconde e prima degli incontri previsti dall'intervento Specchio Riflesso; T3 - a circa 4/6 settimane dalla conclusione dell'intervento nelle classi seconde. L'analisi statistica ha puntato all'analisi della variazione degli indicatori nel corso dei vari momenti di valutazione e nel confronto tra i due gruppi. Nello specifico, il 4.7% degli alunni del gruppo sperimentale dichiara a T0 di aver provato a fumare almeno una volta, contro il 4.1% dei ragazzi del gruppo di controllo. Per quanto riguarda l'esposizione al comportamento del fumo, il 55.5% degli alunni del gruppo sperimentale e il 48.4% di quelli del gruppo di controllo dichiarano che almeno uno dei loro famigliari più stretti è fumatore.

RISULTATI E DISCUSSIONE

I risultati dimostrano l'efficacia di SPECCHIO RIFLESSO nel contrastare l'attrattività del fumo, ostacolando la formazione di emozioni e atteggiamenti positivi verso il fumo e favorendo una maggiore assertività e la capacità di esprimere le proprie opinioni. In generale, SR si dimostra un efficace intervento di prevenzione primaria del tabagismo facilmente integrabile nelle attività formative previste durante la scuola secondaria di primo grado. Nello specifico, i ragazzi che hanno partecipato a Specchio Riflesso riportano una rappresentazione, sia in termini cognitivi che emotivi, meno positiva nei confronti delle sigarette e dei fumatori e non vi è quell'aumento di "fascinazione della sigaretta" che si riscontra invece nei ragazzi del gruppo di controllo.

Specchio Riflesso si è inoltre dimostrato in grado di promuovere le convinzioni dei ragazzi di saper esprimere le proprie opinioni all'interno del gruppo. In particolare, gli alunni che hanno partecipato all'intervento dichiarano - nel tempo - di sentirsi più capaci di dire quello che pensano anche quando gli altri non sono d'accordo con loro, in misura maggiore rispetto a chi non ha preso parte a Specchio Riflesso. Su questo punto è legittimo immaginare che abbia inciso proprio la metodologia utilizzata, quella del **teatro sociale**, ovvero una modalità in cui ci si esprime, si prova, ci si inventa, con maggiori spazi di personalizzazione e di scoperta trasformativa.

Tuttavia, diversamente da quanto ipotizzato, questo intervento non ha portato a indurre una rappresentazione con elementi di giudizio negativo rispetto al fumare, sia su una dimensione cognitiva che più specificamente emotiva. Infatti, non si evidenzia un aumento né delle emozioni negative né degli atteggiamenti negativi a seguito dell'intervento; inoltre, i due gruppi (sperimentale e controllo) riportano livelli simili in questi due indicatori. Nello specifico, per quanto riguarda gli atteggiamenti negativi, essi veicolano sia un reale atteggiamento negativo verso le sigarette (ad esempio, "La vendita di tabacco dovrebbe essere vietata?") ma anche le conoscenze che i ragazzi hanno rispetto ai rischi e alla dannosità del fumo (ad esempio, "Fumare fa male al cuore?"). Possiamo quindi ipotizzare, considerando soprattutto i livelli molto elevati di atteggiamenti negativi in entrambi i gruppi, che i ragazzi abbiano già una rappresentazione molto negativa del fumo, sostenuta soprattutto da conoscenze e credenze - acquisite in precedenza - sulla dannosità di questo comportamento e che, per questo motivo, sia molto difficile promuovere un loro ulteriore aumento.

Infine, SPECCHIO RIFLESSO si è dimostrato parzialmente efficace nel promuovere le convinzioni dei ragazzi riguardo le loro capacità di resistere alle pressioni dei pari. Infatti, questo tipo di autoefficacia sembra aumentare nel tempo sia nel gruppo sperimentale che in chi non ha partecipato all'iniziativa, quale possibile risultato di processi maturativi attivi e paralleli nei due gruppi.

In conclusione, l'intervento sembra aver dato un proprio contributo alla promozione di un pensiero critico, meno convenzionale e più capace di un'autonomia di pensiero, anche attraverso il teatro sociale, e al contrastare la formazione di una rappresentazione positiva del fumo. Tuttavia, non è pensabile che questa metodologia possa essere sufficiente o risolutiva se non diventa parte di un approccio multimodale - in quanto applicabile in ogni aspetto del percorso formativo familiare e scolastico - e multidimensionale, in quanto il sostegno alla crescita personale non può ridursi a un singolo comportamento ma deve puntare a un arricchimento complessivo della personalità, nei suoi vari aspetti, e della comunità.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Botvin, G. J., & Griffin, K. W. (2015). Life skills training: A competence enhancement approach to tobacco, alcohol, and drug abuse prevention. In L. M. Scheier (Ed.), *Handbook of adolescent drug use prevention: Research, intervention strategies, and practice* (pp. 177-196, Chapter xxv, 575 Pages) American Psychological Association, Washington, DC.
- 2 Bruvold, W. H. (1993). A meta-analysis of adolescent smoking prevention programs. *American Journal of Public Health*, 83(6), 872. DOI: 10.2105/AJPH.83.6.872+
- 3 Caprara, G. V., Scabini, E., Barbaranelli, C., Pastorelli, C., Regalia, C., & Bandura, A. (1998). Impact of adolescents' perceived self-regulatory efficacy on familial communication and antisocial conduct. *European Psychologist*, 3(2), 125-132. DOI: 10.1027//1016-9040.3.2.125
- 4 DOXA (2016). *Rapporto Nazionale sul Fumo*. Istituto Superiore di Sanità.
- 5 Fonagy P., & Target M. (2001). *Attaccamento e funzione riflessiva*. Raffaello Cortina, Milano.
- 6 Mayer, J. D., Salovey, P., & Caruso, D. R. (2004). Emotional intelligence: Theory, findings, and implications. *Psychological Inquiry*, 15, 197-215. DOI: 10.1207/s15327965pli1503_02
- 7 NIEBP (2013). *Prevenzione Primaria del Fumo di Tabacco*. Network Italiano Evidence based Prevention.
- 8 Teatro Sociale Marche (2017). Cosa è il Teatro Sociale? Retrieved from <http://teatrosocialemarche.com/il-teatro-sociale/> il 17.10.2017.
- 9 Thomas, R. E., McLellan, J., & Perera, R. (2013). School-based programmes for preventing smoking. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, (4), 1.
- 10 Turbin, M. S., Jessor, R., & Costa, F. M. (2000). Adolescent cigarette smoking: Health-related behavior or normative transgression? *Prevention Science: The Official Journal of the Society for Prevention Research*, 1(3), 115-124. DOI: 10.1023/A:1010094221568
- 11 Watson, D., & Clark, L.A. (1994). THE PANAS-X. *Manual for the Positive and Negative Affect Schedule - Expanded Form*. The University of Iowa.
- 12 WHO (1993). Life skills education for children and adolescents in schools. In *Life skills education for children and adolescents in schools* (pp. 2pts-in).
- 13 Winnicott, D. W. (1971). *Playing and Reality*, Tavistock, Routledge, London (trad. it.: *Gioco e realtà*. Roma: Armando Ed.,2005)



Digital droplet PCR su biopsia liquida e modelli computazionali per l'ottimizzazione della diagnosi precoce del melanoma cutaneo

Sezione LILT di Catania
Altre Sezioni Lilt coinvolte: Caserta

Responsabile scientifico: Dr. Saverio Candido
Altri partecipanti: Prof. Francesco Pappalardo, Università di Catania;
Dr. Maurizio Montella, Istituto Nazionale Tumori Pascale, Napoli

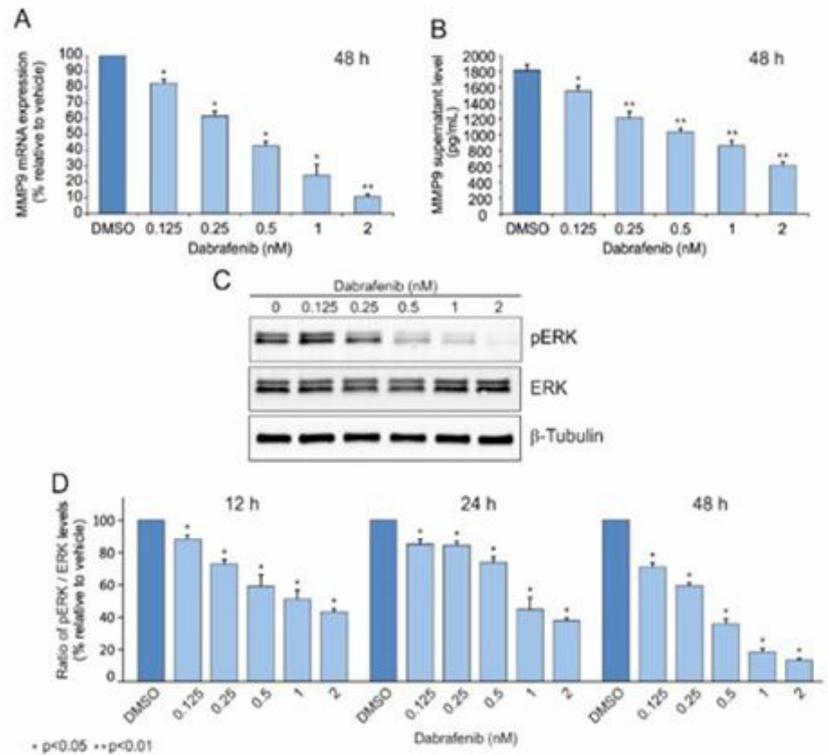
PREMESSA

Il melanoma cutaneo rappresenta una delle maggiori cause di morte per tumore nei paesi industrializzati. L'alto tasso di mortalità registrato per i pazienti affetti da melanoma cutaneo è principalmente dovuto all'indolenza delle lesioni primitive che pertanto vengono diagnosticate soltanto in una fase tardiva quando già la malattia ha dato vita alla formazione di metastasi a livello di organi vitali (Mathieu V et al, 2012; Topczewska JM et al, 2006, Aladowicz E et al, 2013).

Alla base dell'alto potere metastatico dei melanomi vi è l'attivazione costitutiva di diverse pathway molecolari (Ras-Raf-MEK-ERK, MAPK e PI3K/PTEN/AKT/mTOR) che determinano l'aumento della proliferazione cellulare, perdita dei meccanismi regolatori dell'apoptosi e la produzione di proteasi, tra cui MMP-9, in grado di degradare la matrice extracellulare e favorire così la migrazione delle cellule tumorali (Sandri S et al, 2016; Saladi SV et al, 2010; Hofmann UB et al, 2000; Guarneri C et al, 2017; Shi H et al, 2015; Dange MC et al, 2015; Falzone et al 2016). In particolare, numerose evidenze scientifiche hanno mostrato come la principale alterazione molecolare responsabile dell'attivazione costitutiva del pathway delle MAPK sia dovuta alla mutazione BRAFV600E.

Inoltre, studi precedenti condotti dal nostro gruppo di ricerca così come da altri, dimostrano che la presenza di tale mutazione si associa alla maggiore espressione di MMP-9 (Hayward NK et al, 2017; Guarneri C et al, 2017). A supporto di ciò studi in vitro su modelli cellulari di melanoma hanno mostrato che l'inibizione di BRAF mediante la somministrazione di inibitori selettivi determina una diminuzione dei livelli di espressione (mRNA) e proteici di MMP-9 già dopo 24 e 48 ore dall'inizio del trattamento (Guarneri C et al, 2017; Mesa C Jr et al, 2006) (*Figura 1*).

Figura 1. Trattamento delle cellule A375 con Dabrafenib. I livelli di espressione di MMP-9 sono stati valutati in qPCR (A) e mediante ELISA (B) nelle linee cellulari A375 trattate con dosi crescenti di Dabrafenib (0.125, 0.25, 0.5, 1 e 2 nM) per 48 ore. I livelli proteici di Phospho-Erk e ERK totale sono stati valutati tramite Western Blot dopo trattamento con Dabrafenib for 12h, 24h e 48h (C, D).



Infine nostre precedenti evidenze dimostrano che l'over-espressione di MMP-9 è inoltre associata, o addirittura causata, da fenomeni di metilazione intragenica che si traducono in un'aumentata produzione della proteina e conseguentemente a un fenotipo tumorale più aggressivo (Falzone L et al, 2016).

OBIETTIVI

Su queste basi, lo scopo del presente progetto è stato quello di stabilire il valore diagnostico e prognostico sia della mutazione BRAFV600E che di MMP-9 a livello periferico, analizzando rispettivamente i livelli di DNA tumorale circolante (ctDNA) e i livelli sierici di MMP-9. Per valutare la presenza della mutazione circolante BRAFV600E nel ctDNA è stata utilizzata la tecnologia della digital droplet PCR (ddPCR), usata per la sua alta sensibilità. Per l'analisi dei livelli sierici di MMP-9 sono stati eseguiti saggi ELISA ad alta sensibilità.

I dati di metilazione responsabili dell'over-espressione di MMP-9, precedentemente osservati, ci hanno indotto a selezionare gli hotspot di metilazione del DNA responsabili dell'over-espressione di proteine notoriamente coinvolte nei processi di sviluppo e progressione tumorale e utilizzare tali hotspot come marcatori precoci di suscettibilità al melanoma. A questo scopo è stato creato un tool bioinformatico basato sul linguaggio R (r-project.com) in grado di identificare in maniera computazionale i geni la cui de-regolazione è legata a processi di ipermetilazione o ipometilazione. L'identificazione in silico degli hotspot di metilazione genica consentirà di sviluppare dei saggi in ddPCR per l'analisi di metilazione in campioni ematici di un'ampia casistica di soggetti potenzialmente a rischio di sviluppare melanoma cutaneo.

FASI DELLA RICERCA

1. Determinazione dei livelli sierici di MMP-9 e della mutazione BRAFV600E.

Sono stati analizzati i livelli sierici di MMP-9 in 26 pazienti con diagnosi di melanoma cutaneo BRAF V600E mutato. Il test ELISA ha mostrato come i livelli di MMP-9 erano sensibilmente aumentati nei pazienti positivi alla mutazione BRAFV600E determinata in ddPCR, rispetto ai pazienti negativi.

Inoltre, la possibilità di ottenere i prelievi seriali dei 26 pazienti durante le visite periodiche di follow-up, ci ha indotto a valutare il valore prognostico di MMP-9 e della mutazione di BRAFV600E durante il trattamento con inibitori del RAF al fine di predirne l'efficacia terapeutica. L'analisi ha mostrato come i soggetti con valori non misurabili di BRAFV600E presentavano un intervallo libero da progressione (PFS) più lungo rispetto ai soggetti che presentavano la mutazione ($p=0.004$). Inoltre è stato osservato che i soggetti con livelli maggiori di MMP-9 presentavano una PFS ridotta rispetto ai pazienti con livelli di MMP-9 inferiori (*Figura 2*).

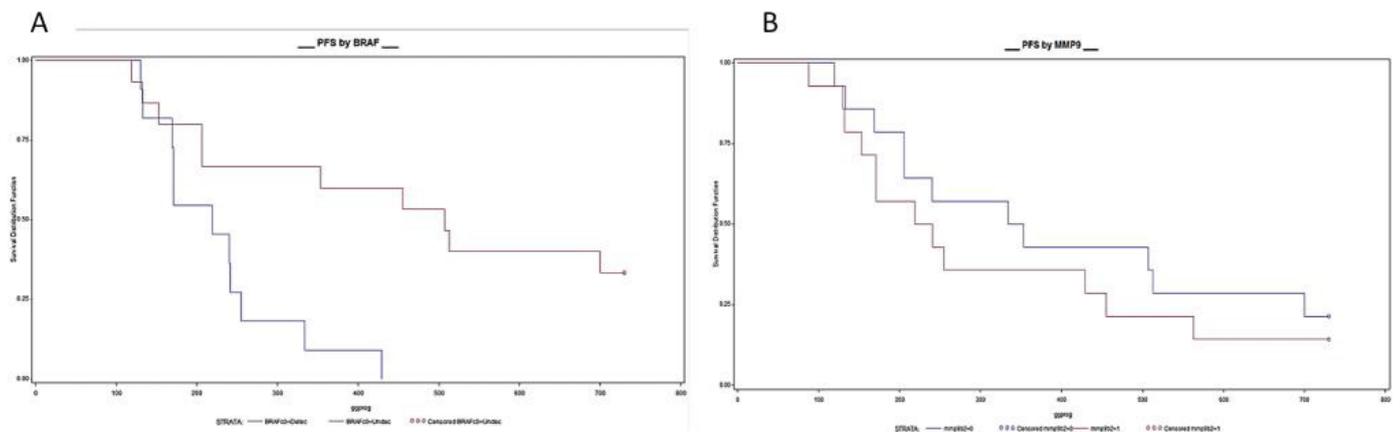


Figura 2. Stimatore Kaplan-Meier dell'intervallo libero da progressione (PFS) in pazienti con mutazione BRAFV600E determinabile (linea blu) e non determinabile (linea rossa) (log-rank test: $p=0.004$) (Panel A). Valutazione PFS dei pazienti basata sulle concentrazioni sieriche di MMP-9 al tempo zero (linea blu: <680 ng/mL, linea rossa: ≥ 680 ng/mL; log-rank test: $p=0.415$) (Panel B).

2. Analisi computazionale per l'identificazione di hotspot di metilazione da utilizzare come biomarcatori diagnostici

Per l'analisi di metilazione è stato utilizzato il dataset TCGA skin cancer contenente i dati di espressione e di metilazione di 473 casi di melanoma. Il tool effettua, per ogni gene, delle analisi cicliche di correlazione tra i livelli di espressione genica e di metilazione delle varie sequenze comprese nello stesso gene cumulando i livelli di metilazione dei probeset appartenenti a specifiche regioni geniche (promotore, 5'UTR, esone 1, corpo del gene, 3'UTR, isole di metilazione) (**Figura 3**). L'analisi così condotta ha permesso di individuare una lista dei 50 geni con la maggiore alterazione dell'espressione genica in conseguenza di fenomeni di ipo- o iper-metilazione.

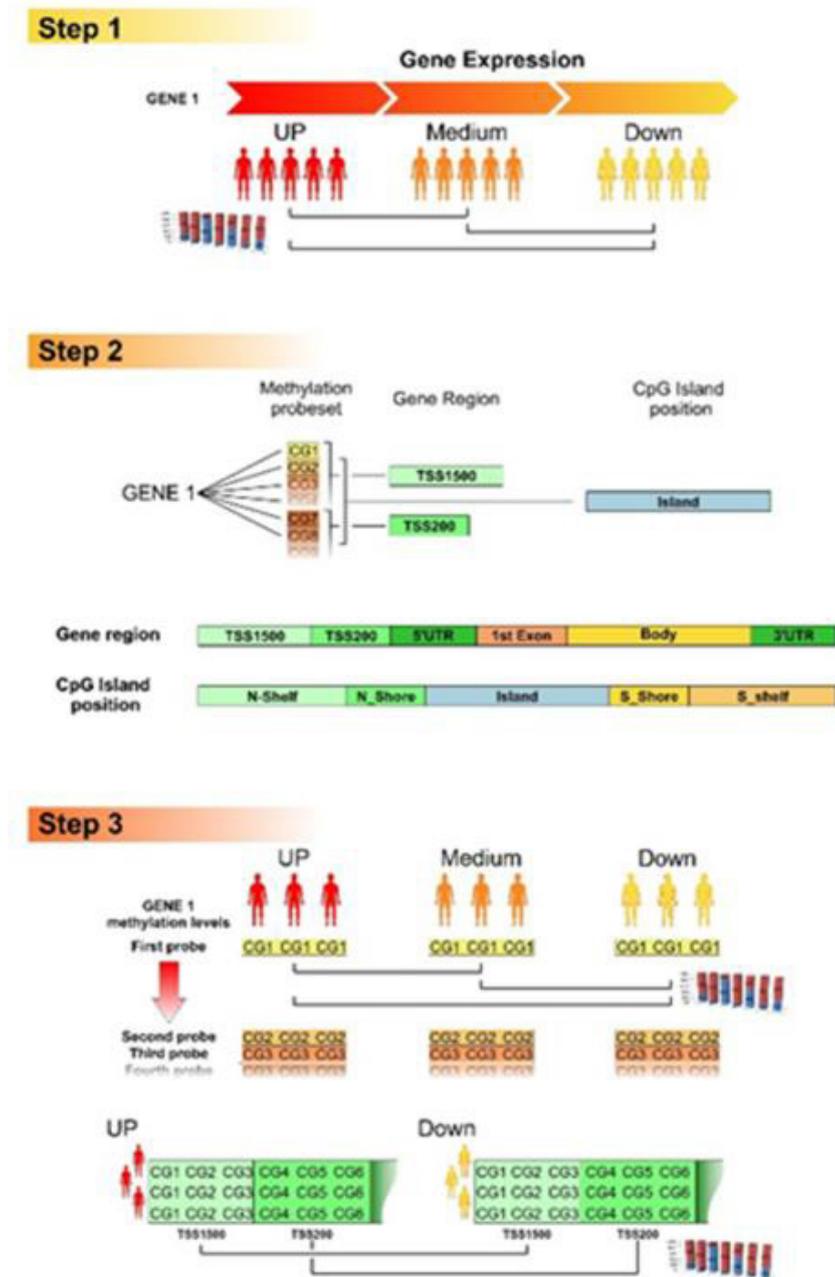


Figura 3. Flusso di lavoro dello script R.

Step 1:
analisi dell'espressione genica;

Step 2:
annotazione dei probeset di metilazione;

Step 3:
analisi di correlazione dei livelli di espressione e di metilazione di ogni gene.

CONCLUSIONI

I risultati finora ottenuti hanno mostrato che i pazienti con melanoma BRAFV600E determinati in ddPCR esprimono maggiori livelli di MMP-9. Ulteriori analisi in ddPCR saranno effettuate nel siero di soggetti con melanoma per validare il potenziale diagnostico degli hotspot di metilazione individuati in silico così come è stato suggerito dall'associazione tra l'ipermetilazione intragenica di MMP-9 e l'overespressione proteica. Il fine ultimo sarà quello di individuare un panel di geni che potranno essere utilizzati per la diagnosi precoce del melanoma cutaneo.

BIBLIOGRAFIA

- 1** Aladowicz E et al. *Future Oncol.* 9: 713-26, 2013.
- 2** Dange MC et al. *Mol Cell Biochem.* 404: 79-86, 2015.
- 3** Falzone L et al. *Aging (Albany NY).* 8: 933-44, 2016.
- 4** Ferlay J, et al. *Int J Cancer.* 136: E359-86, 2015.
- 5** Guarneri C et al. *Oncol Rep.* 37: 737-746, 2017.
- 6** Hofmann UB et al. *J Invest Dermatol.* 115: 337-44, 2000.
- 7** Mathieu V et al. *Oncotarget.* 3: 399-413, 2012.
- 8** Mesa C Jr et al. *Cancer Res.* 66: 6521-9, 2006.
- 9** Saladi SV et al. *Mol Cancer.* 9: 280, 2010.
- 10** Sandri S et al. *Pharmacol Res.* 111: 523-533, 2016.
- 11** Shi H et al. *Nutr Cancer.* 67: 761-70, 2015.
- 12** Topczewska JM et al. *Nat Med.* 12: 925-32, 2006.
- 13** Hayward NK et al. *Nature.* 545: 175-180, 2017.

Valutazione Comparata del rischio oncologico in aree ad alto impatto ambientale del sud Italia

Sezione LILT di Caserta

Responsabile scientifico: Maurizio Montella

PREMESSA

Negli anni passati vi è stato un disastro ambientale provocato dall'illeale gestione dei rifiuti tossici in molti comuni delle province di Caserta e Napoli.

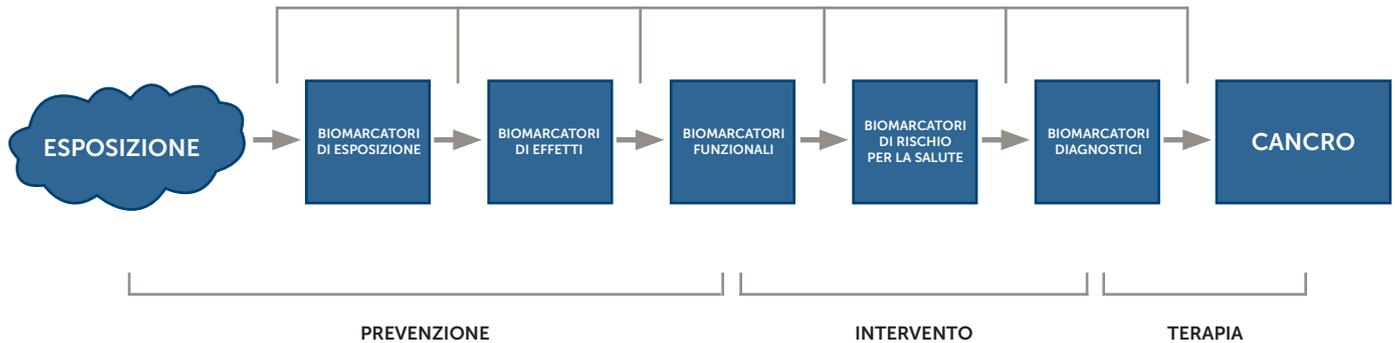
Il progetto "Campania Trasparente" dell'Istituto Zooprofilattico del Mezzogiorno nella Regione Campania ha monitorato le diverse matrici ambientali e biologiche quali acqua, suolo, aria, unitamente ai prodotti alimentari di origine animale e vegetale.

Tale studio ha reso possibile la caratterizzazione delle fonti di potenziale contaminazione ambientale e l'elaborazione di una mappa dettagliata della distribuzione spaziale dei contaminanti (cluster), base di partenza per il progetto approvato dal comitato Etico dell'Istituto Nazionale Tumori di Napoli SPES (studio di esposizione nella popolazione suscettibile) finalizzato a monitorare e valutare eventuali danni alla salute alla popolazione esposta residente in quei comuni.

Grazie anche al contributo della LILT lo studio è stato esteso a popolazioni del sud Italia residenti in comuni con inquinamento di tipo industriale quali quelle della Province di Catania e Messina.

OBIETTIVO

Valutare se il danno alla salute di origine ambientale possa essere misurato attraverso l'utilizzo di biomarcatori (esposizione e/o effetto) che permettano la valutazione precoce del rischio oncologico prima del manifestarsi clinico del tumore secondo lo schema seguente:



METODI

Il progetto SPES è uno studio sul biomonitoraggio condotto su un campione di 4200 cittadini della Campania nella fascia di età 20-49 anni + 200 cittadini con le stesse caratteristiche, residenti in Sicilia. Il disegno di campionamento adottato è stratificato con selezione delle unità a probabilità costanti.

L'obiettivo principale del progetto è verificare l'effetto dell'eventuale esposizione ambientale valutando biomarcatori di esposizione, di effetto e di suscettibilità individuale.

Lo studio pertanto ha definito 3 aree di impatto ambientale con inquinamento alto, medio, basso (<http://spes.campaniatrasparente.it/>).

Lo strumento di rilevazione dell'abitudine al fumo e dello stile di vita compresa l'alimentazione è stato il questionario sullo stile di vita dello studio EPIC.

RISULTATI

È stata ultimata la fase di raccolta dei dati dei 4200 soggetti della Regione Campania ed è ora in corso l'arruolamento dei cittadini della regione Sicilia e in altre regioni.

Sono stati elaborati i primi dati relativi all'abitudine al fumo: sul totale dei 4200 soggetti arruolati il 50.3% risulta non fumatore, il 17.8% ex fumatore, mentre il 31.3% è attualmente fumatore (35.1% sono uomini e 29.0% donne. Nei tre cluster (alto, medio e basso) non si osservano differenze di prevalenza nei fumatori (31.3%, 33.4% e 31.1%, rispettivamente) né negli ex fumatori (17.8%, 17.2% e 19.2%).

Riportiamo nella tabella le medie e la distribuzione al 95 % percentile dei principali metalli pesanti rilevati suddivisa per cluster.

Concentrazione media dei principali elementi in soggetti adulti (20-49 anni), maschi e femmine, stratificata per clusters (Basso, Medio, Alto impatto ambientale)							
Elementi	Unità	Basso N=1201		Medio N=600		Alto N=2404	
		Media	95°	Media	95°	Media	95°
As75	ug/L	3.85	13.03	2.64	9.21	2.97	9.98
Be9	ug/L	0.03	0.15	0.025	0.13	0.02	0.123
Cd111	ug/L	0.07	0.29	0.05	0.27	0.05	0.27
Co59	ug/L	1.05	1.92	1.01	1.87	0.96	1.67
Cr52	ug/L	0.76	2.61	0.85	3.54	0.73	2.63
Cu63	ug/L	1035.46	1623.10	1051.07	1652.15	1031.6	1632.4
Fe56	mg/L	1.22	2.18	1.36	2.47	1.27	2.25
Fe57	mg/L	1.36	2.37	1.33	2.37	1.26	2.22
Hg202	ug/L	4.12	15.83	1.37	4.58	1.38	4.94
Li7	ug/L	1.45	3.78	1.15	2.58	4.44	3.13
Mn55	ug/L	1.35	2.61	1.19	2.71	1.11	2.48
Mo98	ug/L	0.94	2.05	1.18	2.89	0.99	2.63
Ni60	ug/L	3.00	13.03	2.73	10.76	2.42	9.32
Pb208	ug/L	1.35	1.05	0.23	1.12	0.59	0.96
Sb121	ug/L	0.25	0.40	0.17	0.53	0.16	0.37
Se78	ug/L	204.33	306.82	204.21	313.71	197.31	305.95
Sr88	ug/L	32.12	58.82	30.75	52.35	30.61	53.20
Tl205	ug/L	0.036	0.11	0.029	0.098	0.043	0.14
V51	ug/L	0.51	1.34	0.55	1.51	0.51	1.51
Zn66	mg/L	1.52	2.28	1.49	2.14	1.40	2.04

I risultati della tabella evidenziano valori medi maggiori del range di riferimento per nickel, selenio, vanadio e zinco. Esaminando i valori delle medie nei tre cluster non si evidenziano differenze significative.

CONCLUSIONI

Nessun progetto in Italia ha valutato fin ora in modo esaustivo il rischio oncologico derivate dall' esposizione ambientale. Il nostro progetto potrà dare, una volta concluso, una stima affidabile di tale rischio poiché analizza e correla con l' esposizione ambientale anche le variabili legate allo stile di vita.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Ciliberto G. A toxic legacy. Nature p.431 Vol 508, 2014.
- 2 Openspes.campaniatrasparente.it; www.spes.campaniatrasparente.it
- 3 Comba, P.; Ricci, P.; Iavarone, I.; Pirastu, R.; Buzzoni, C.; Fusco, M.; Ferretti, S.; Fazzo, L.; Pasetto, R.; Zona, A.; et al. Cancer incidence in Italian contaminated sites. Ann. Ist. Super. Sanità 2014, 50, 186–191.
- 4 Crispo A., Barba m, Malvezzi m, Arpino G, Grimaldi M, Rosso T, Esposito E, Sergi D., Ciliberto G, Giordano A, Montella M. Cancer mortality trends between 1988 and 2009 in the metropolitan area of Naples and Caserta, southern Italy: results from a jointpoint analysis. Cancer Biol Ther 2013, 12:1113-22-
- 5 Jardine C, Hruddy S, Shortreed J, Craig L, Krewski D, Furgal C, McColl S. Risk management frameworks for human health and environmental risks. J Toxicol Environ Health B Crit Rev. 2003 Nov-Dec;6(6):569-720.
- 6 Fock HO, Kraus G. From Metaphors to Formalism: A Heuristic Approach to Holistic Assessments of Ecosystem Health. PLoS One. 2016 Aug 10;11(8):e0159481. doi: 10.1371/journal.pone.0159481. eCollection 2016.
- 7 Angerer J, Ewers U, Wilhelm M. Human biomonitoring: state of the art. Int J Hyg Environ Health. 2007 May;210(3-4):201-28. Epub 2007 Mar 21.
- 8 ARPAC. Annuario dei Dati Ambientali in Campania 2006. Available online: <http://www.arpacampania.it/documents/30626/51722/Siti+Contaminati.pdf> (accessed on 12 June 2015).



Il modello dei Luoghi di Prevenzione: implicazioni formative e educative del laboratorio di neuro psicobiologia denominato "Human Neuroscience Lab" negli interventi di Prevenzione degli stili di vita a rischio di applicazione del Modello Transteorico del cambiamento

Sezione LILT di Reggio Emilia

Responsabili scientifici: Cristiano Chiamulera,
Sandra Bosi, Ermanno Rondini

IL CONTESTO

Gli interventi di Prevenzione Primaria su stili di vita a rischio sono raramente progettati su procedure e metodologie basate sulle evidenze scientifiche.

La LILT di Reggio Emilia è capofila del progetto "Ricerca scientifica e miglioramento dell'efficacia degli interventi di Prevenzione Primaria: il modello metodologico di Luoghi di Prevenzione" basato su implicazioni formative e di ricerca del laboratorio di Neuropsicobiologia "Human Neuroscience Lab" e nell'applicazione del Modello Transteorico del Cambiamento.

Si tratta di una ricerca scientifica, applicata a due settori specifici: il settore preventivo e il settore della cura.

ENTI PARTNERS

Sezioni Provinciali delle LILT di Agrigento, Ascoli Piceno, Biella, Bologna, Campobasso, Ferrara, Firenze, Isernia, Roma, Oristano, Piacenza, Treviso.

IL PROGETTO

Promozione e sviluppo delle azioni finalizzate a costituire una Rete di coordinamento interregionale LILT. Il target di riferimento prioritario i giovani con programmi differenziati per cambiamento intenzionale di comportamenti a rischio relativi a fumo di sigaretta, consumo problematico di alcol, alimentazione scorretta e sedentarietà.

AREE DI INTERVENTO

1. Applicazione dei programmi preventivi validati da Luoghi di Prevenzione da parte di tutte le Sezioni LILT partners
2. Inserimento delle applicazioni del Modello Transteorico del Cambiamento nella formazione universitaria e post universitaria (supervisione scientifica del Laboratorio Habits Lab, Univ Maryland)
3. Contributo alla comprensione dei fattori protettivi e di rischio individuali nelle scelte comportamentali (coll. Univ Verona)
4. Estensione e diversificazione dei programmi preventivi in funzione di target selettivi

OBIETTIVO

Verifica della relazione fra cambiamento degli stili di vita a rischio e azioni di supporto strategico al cambiamento derivate da:

- ricerca di laboratorio
- valutazione della metodologia formativa
- diversificazione delle strategie adottate per promuovere la trasformazione personale intenzionale

PIANO DI LAVORO

Formazione operatori Rete interregionale LILT, in collaborazione con Referenti SSN

Attivazione del laboratorio di Neuropsicobiologia (*Human Neuroscience Lab*) di *Luoghi di Prevenzione*.

Il laboratorio di Neuropsicobiologia Human Neuroscience Lab:

A partire dal 2010 si è sviluppata una proficua collaborazione tra Univ. Verona e Sezione LILT di Reggio Emilia. Diversi progetti sono stati attivati in questi anni:

- "La comunicazione scientifica come strumento di educazione alla salute: stili di vita e dipendenze dal laboratorio alla formazione" (2010-2011)
- "Progettazione, monitoraggio e diffusione di attivazioni laboratoriali realizzate presso il Centro di didattica multimediale "Luoghi di Prevenzione" a Reggio Emilia" (2012-2014) (Test del Basket; Tunnel del Craving)
- "Sviluppo del Human Laboratory per la misurazione della cue reactivity nel soggetto dipendente da sostanze psicoattive"

Il razionale di scelta di questo approccio è basato sull'applicazione di metodologie della ricerca sperimentale come **simulazione (Modello) ed esperienza (Osservazione)** per controllare e misurare le variabili a livello neurofisiologico, psicologico e comportamentale, riproducendo la complessità della situazione in cui si trova la persona che agisce comportamenti a rischio e provare a modificarla intenzionalmente con il supporto di un intervento strutturato.

Sono stati scelti un paradigma alla base dei comportamenti a rischio (la **Cue Reactivity**) e una tecnologia emergente (la **Virtual Reality**).

Cue Reactivity

Un fenomeno importante per prevenzione del rischio, è il riconoscimento della ipersensibilità a stimoli e situazioni con valenza motivazionale oppure a comportamenti pericolosi.

Ad esempio, i soggetti con una storia di dipendenza da bevande alcoliche o da sigaretta sono particolarmente reattivi agli stimoli precedentemente associati all'alcol o al fumo che innescano il bisogno psicologico (craving) e li rendono più vulnerabili alle ricadute e ai conseguenti comportamenti a rischio.

Progetto "Virtual Reality"

Metodologie di simulazione attraverso la realtà virtuale.

Il percorso Laboratoriale si utilizza nelle ultime sedute dei gruppi di disassuefazione al fumo di sigaretta, quando i pazienti hanno raggiunto l'astinenza. Permette di lavorare su due aspetti fondamentali per la prevenzione della ricaduta:

- L'esposizione a stimoli attivanti;
- L'elaborazione di strategie di coping.
- Tecniche di rilassamento (desensibilizzazione e controcondizionamento)

L'esposizione agli stimoli attivanti avviene durante il laboratorio nell'immersione Virtuale, a seguito del quale l'operatore potrà guidare la persona nell'elaborazione del proprio vissuto e attraverso l'utilizzo del training di autoregolazione del comportamento, in cui la persona definisce i propri obiettivi e comportamenti per fronteggiare le situazioni ad alto rischio che incontrerà, e prevenire pertanto la ricaduta.

RISULTATI OTTENUTI

1. Uno studio pilota ha prodotto dati attesi significativi nei confronti delle situazioni di controllo, e in pieno accordo con la letteratura scientifica internazionale di riferimento.
2. Un primo studio è in corso di completamento con 66 soggetti su riattivazione e 'cancellazione' di memorie legate al fumo.
3. Lo sviluppo completo di scenari 'normali' di interni ed esterni per misura valenza fumo, cibo, alcol, ansia/stress.
4. Un secondo studio è stato concluso con scenari di interni in coorti di fumatori e non (totale di 70 soggetti).

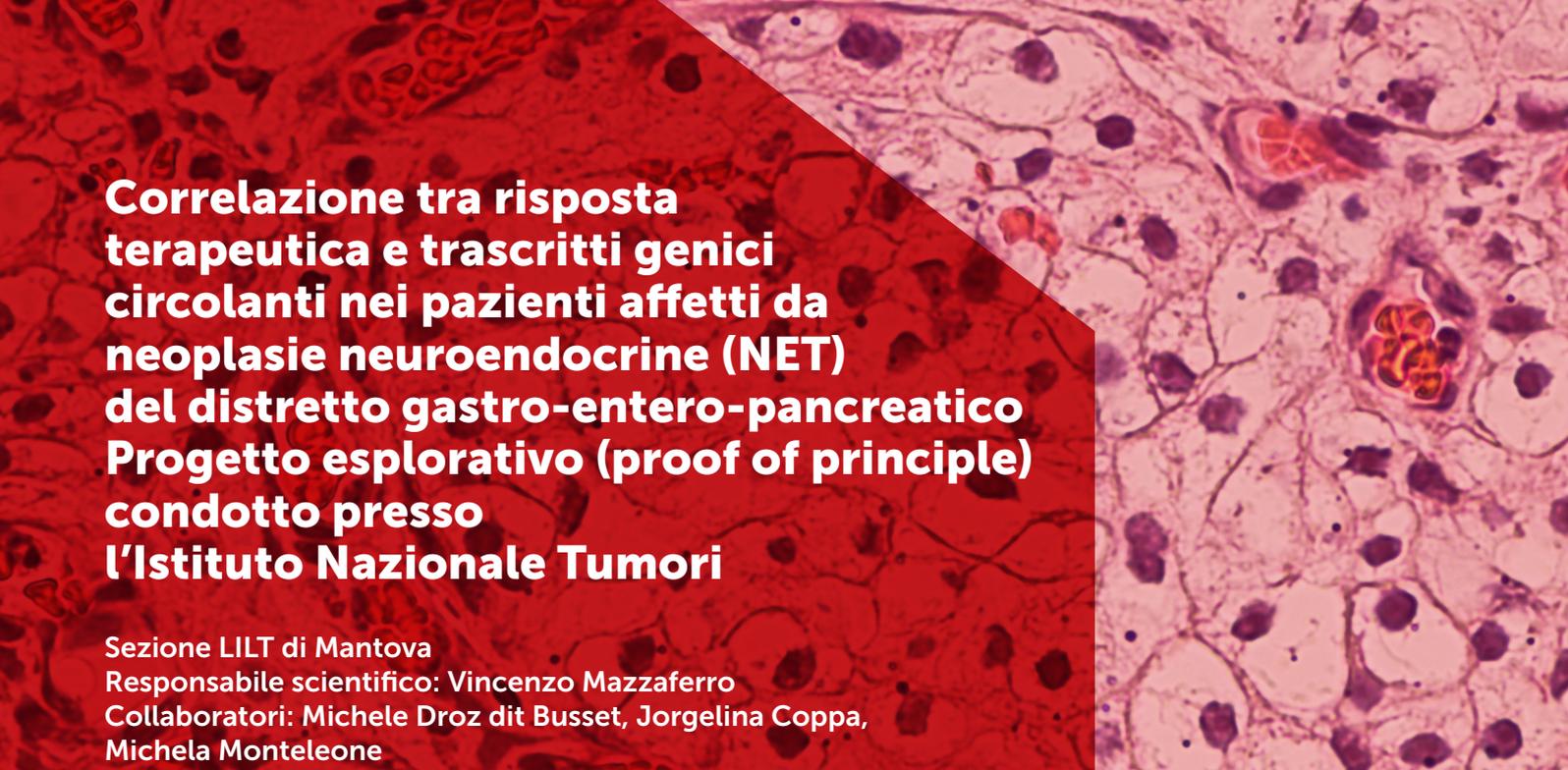
OUTCOMES

- Conoscenza delle risposte soggettive alle situazioni di dipendenza e di craving
- Trasferimento nella metodologia utilizzata nei gruppi di disassuefazione al fumo, nei gruppi info educativi sull'alcol, nei gruppi info-educativi sul cambiamento del rapporto con il cibo attraverso il Training di regolazione del comportamento
- Inserimento in molte Scuole Universitarie del Corso FAD "Promozione della salute e processi di sostegno al cambiamento degli stili di vita a rischio
- Apertura e messa a punto del protocollo di intervento del Laboratorio di Neuropsicobiologia sperimentale Human Lab presso LdP

- Predisposizione supporti didattici per rinforzo di comportamenti salutari con linea di assistenza telefonica, social network, gruppo di disassuefazione al fumo on line (coll. Istituto di Prevenzione Oncologica di Firenze)

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- 1 Bordnick PS, Traylor A, Copp HL, Graap KM, Carter B, Ferrer M, et al. (2008). Assessing reactivity to virtual reality alcohol based cues. *Addictive Behaviors*. 33:743–756
- 2 Chiamulera C. Research is needed on the use of cognitive enhancer drugs in sport. *J Sci Med Sport*. 14(1):2-3, 2010.
- 3 Chiamulera C., Hinnenthal I., Auber A., Cibin M., Reconsolidation of maladaptive memories as a therapeutic target: preclinical data and clinical approaches. *Frontiers in Psychiatry, section Addictive Disorders and Behavioral Dyscontrol*, published: 19 August 2014 doi: 10.3389/fpsy.2014.00107.
- 4 Chiamulera, C. (2005). Cue reactivity in nicotine and tobacco dependence: a "multiple-action" model of nicotine as a primary reinforcement and as an enhancer of the effects of smoking-associated stimuli. *Brain Research Reviews*, 48(1): 74-97.
- 5 *** Chiamulera C, Ferrandi E, Benvegnù G, Ferraro S, Tommasi F, Maris B, Zandonai T, Bosi S. Virtual Reality for Neuroarchitecture: Cue Reactivity in Built Spaces. *Front Psychol*. 2017 Feb 13;8:185.
- 6 Grassi MC, Baraldo M, Chiamulera C, Culasso F, Raupach T, Ferketich AK, Patrono C, Nencini P. Knowledge about health effects of cigarette smoking and quitting among Italian University students: the importance of teaching nicotine dependence and treatment in the medical curriculum. *Biomed Res Int*. 2014:321657. doi: 10.1155/2014/321657.
- 7 Grassi MC, Chiamulera C, Baraldo M, Culasso F, Ferketich AK, Raupach T, Patrono C, Nencini P. Cigarette smoking knowledge and perceptions among students in four Italian medical schools. *Nicotine Tob Res*. 2012 Sep;14(9):1065-72.
- 8 Hone-Blanchet A, Wensing T and Fecteau S. (2014). The use of virtual reality in craving assessment and cue-exposure therapy in substance use disorders. *Frontiers in Human Neuroscience*. 17 October 2014. doi: 10.3389/fnhum.2014.00844
- 9 Ledoux T, Nguyen AS, Bakos-Block C and Bordnick P. (2013). Using virtual reality to study food cravings. *Appetite*. 71: 396-402 doi: 10.1016/i.appet.2013.09.006
- 10 Paris, M.M., Carter, B.L., Traylor, A.C., Bordnick, P.S., Day, S.X., Armsworth, M. W., et al. (2011). Cue reactivity in virtual reality: the role of context. *Addict. Behav*. 36, 696–699. doi:10.1016/j.addbeh.2011.01.029
- 11 Pericot-Valverde I, Germeroth LJ, Tiffany ST. The Use of Virtual Reality in the Production of Cue-Specific Craving for Cigarettes: A Meta-Analysis. *Nicotine Tob Res*. 2015 Oct 8. pii: ntv216.



Correlazione tra risposta terapeutica e trascritti genici circolanti nei pazienti affetti da neoplasie neuroendocrine (NET) del distretto gastro-entero-pancreatico **Progetto esplorativo (proof of principle) condotto presso l'Istituto Nazionale Tumori**

Sezione LILT di Mantova
Responsabile scientifico: Vincenzo Mazzaferro
Collaboratori: Michele Droz dit Busset, Jorgelina Coppa, Michela Monteleone

INTRODUZIONE

I tumori neuroendocrini (NET) a origine dal tratto digerente sono tumori rari che si presentano frequentemente, già alla prima diagnosi, in fase metastatica (65-95%) [1] e il fegato è la più frequente sede elettiva di metastasi. L'importanza della metastatizzazione epatica nella storia naturale è molto rilevante, in particolare per i NET la cui primitività è riscontrabile nel tratto gastroenterico. Le metastasi epatiche peggiorano notevolmente la prognosi, indipendentemente dall'origine del tumore primitivo e rappresentano la principale causa di morte nei paziente affetti da NET: circa l'80% dei pazienti deceduti ha infatti nel fegato l'unica sede di diffusione metastatica del tumore.

Sul trattamento dei pazienti con NET a rischio di metastasi epatiche o con metastasi epatiche alla diagnosi si concentra la gran parte dello sforzo clinico-terapeutico del Gruppo Multidisciplinare dedicato a questa neoplasia attivo presso l'Istituto Nazionale dei Tumori Fondazione IRCCS di Milano.

Nello specifico, il programma di ricerca clinica in implementazione in INTY anche grazie al supporto di LILT si propone di organizzare la valutazione di nuovi marcatori di prognosi nei pazienti con NET, di testarne l'efficacia e di conseguenza di ottimizzare le diverse strategie di trattamento e follow-up nei pazienti affetti da questa grave condizione di malattia.

BASI CLINICO-TEORICHE DEL PROGETTO

La storia naturale di malattia nei pazienti con metastasi epatiche è in genere lenta (sopravvivenza mediana intorno a 38 mesi) e ogni valutazione sulle terapie mediche e chirurgiche deve considerare il dato acquisito di sopravvivenze molto lunghe, osservabili spesso anche senza trattamenti specifici. La resezione chirurgica con intento curativo resta il "gold standard" nel trattamento delle metastasi epatiche, indipendentemente dal sito d'origine (foregut, midgut, hindgut) e il vantaggio della chirurgia resettiva nei pazienti con tumore primitivo nel distretto gastro-entero-pancreatico (NEN-GEP) è stato dimostrato sia in termini di sopravvivenza che di qualità di vita [2]. I requisiti minimi per ipotizzare un intervento di resezione epatica con "intento curativo" sono: la presenza di malattia G1-G2, un rischio operatorio con accettabile morbilità e rischio di mortalità <5%, l'assenza di insufficienza cardiaca destra, l'assenza di metastasi linfonodali e/o extra-addominali o carcinosi

peritoneale. [3-5].

La chirurgia resettiva epatica nei NET rimane tuttavia una procedura raramente curativa, ovvero non frequentemente in grado di rimuovere tutte le sedi di malattia presenti nel fegato. In alternativa, in pochi Centri si è implementato un programma di trattamenti loco-regionali interventistici come l'ablazione termica mediante radiofrequenza (RFA), l'embolizzazione arteriosa selettiva epatica (TAE), la chemioembolizzazione (TACE) o la radioembolizzazione (TARE o SIRT). È noto che la RFA nei tumori con dimensioni <4-5 cm di diametro in pazienti sintomatici è in grado di controllare la sintomatologia nel 70-80% dei casi e che la chemioembolizzazione epatica selettiva (TACE) ottiene una risposta strumentale completa o parziale nel 30-50% dei pazienti. Infine, la "Selective Internal Radiotherapy" (SIRT) è ancora in fase di sperimentazione ma in recenti studi si è dimostrata in grado di ottenere un tasso di risposta obiettiva del 50-60% nei pazienti con metastasi epatiche. [7-9].

Come forma estrema di trattamento loco-regionale il nostro Centro ha anche implementato la ulteriore opzione del trapianto ortotopico di fegato (liver transplantation: LT) ed è utile ricordare che le metastasi da NET rappresentano a tutt'oggi l'unica indicazione oncologica condivisa al trapianto di fegato per una malattia neoplastica in fase metastatica. Con LT applicato a casi selezionati secondo criteri restrittivi, l'aspettativa di vita e il guadagno di sopravvivenza ottenibile è superiore a qualsiasi altra procedura oggi disponibile per questa patologia. I criteri di selezione per trapianto, noti anche come "Criteri di Milano NET" sono stati identificati dall'analisi della casistica dell'Istituto Tumori di Milano e permettono di poter proporre una procedura complessa e costosa quale il trapianto di fegato ai pazienti che hanno ragionevoli possibilità di guarigione, evitando la sostituzione del fegato metastatico a solo scopo palliativo.[15].

Il complesso delle strategie di trattamento proponibile per ogni paziente affetto da una neoplasia neuroendocrina, viene periodicamente discussa nell'ambito di riunioni multidisciplinari dedicate (Tumor Board NET) in ottemperanza alle linee di lavoro che ci qualificano dal 2010 come 'Centro di Eccellenza' ENETS (European Neuroendocrine Tumor Society).

Qualunque sia la strategia terapeutica prescelta per il trattamento delle metastasi da NET, l'efficacia dei cari trattamenti è sempre difficile da quantizzare sulla sola base dell'imaging radiologico o sull'analisi dei biomarcatori ad oggi disponibili.

Recenti dati della letteratura hanno dimostrato che la determinazione del "51-marker peripheral blood signature" (NETest) mediante la tecnica PCR o l'analisi di frammenti circolanti di DNA ed RNA può offrire informazioni più precise e sensibili sullo stato reale della malattia residua, anticipando la valutazione di efficacia delle diverse strategie terapeutiche [10-11]. Nello specifico, il NETest ha dimostrato di essere efficace nel definire l'outcome di diversi trattamenti medici o chirurgici, eseguiti nei pazienti affetti da NET [12]. I dati confermano con largo anticipo che il NETest è in grado di valutare distinti stadi della malattia e le risposte ai trattamenti eseguiti: sensibilità e specificità sono 85-96% e inoltre tale metodica sarebbe in grado di determinare la presenza di malattia residua, la stabilità della stessa con efficacia 90-95%, ovvero la progressione o la non risposta alla terapia. (75% - 85%) [13]. Analisi comparative hanno inoltre dimostrato la superiorità del NETest rispetto al tradizionale dosaggio della cromogranina (CgA) [14].

SCOPI DEL PROGETTO

Scopo principale del progetto è di valutare l'efficacia (sensibilità, specificità, valore predittivo positivo e negativo) del NET test o di altri test di determinazione quali/quantitativa dei marcatori circolanti (liquid biopsy) in relazione alle risposte ai trattamenti effettuati su pazienti affetti da metastasi epatiche da tumori neuroendocrini, associate o meno al tumore primitivo. Il progetto si svolge interamente sulla casistica di pazienti afferenti all'Istituto Nazionale dei Tumori in cui l'intero spettro delle terapie disponibili (vedi sopra) è correntemente applicato.

Il parametro di comparazione del risultato dei test di liquid biopsy è la risposta radiologica e quella scintigrafica di octreoscan e Galio 68PET.

Gli obiettivi secondari del progetto attengono alla valutazione di efficacia del NETest o di altri test di determinazione genica di frammenti di DNA tumorale circolante nel predire grado di risposta e durata della risposta terapeutica ai vari trattamenti, nonché alla presenza di sintomi invalidanti (qualità di vita).

METODOLOGIA

La gran parte del lavoro svolto sinora è costituita dalla implementazione di una metodica sistematica di raccolta dei pazienti eleggibili e delle aliquote di siero/plasma e tessuto necessari a valutare i nuovi marcatori prima e dopo l'esecuzione delle varie terapie.

Sono quindi stati allestite banche di prelievi di sangue intero raccolti in EDTA e sottoposti a congelamento rapido a diversi tempi: basale, alla dimissione ospedaliera dopo la procedura terapeutica radiologica o chirurgica e a 1, 3, 6, 12 mesi durante il follow-up. Le indagini radiologiche (TAC/RMN) per la valutazione della risposta valutate secondo RECIST 1.1 sono anch'esse state effettuate ai tempi basale e successivamente a 1, 3, 6, 12 mesi durante il follow-up.

I pazienti sono stati divisi in quattro gruppi, in accordo con la terapia somministrata: A) resezione del tumore primitivo B) resezione delle metastasi epatiche; C) trapianto di fegato; D) terapie loco-regionali intra-arteriose (embolizzazione transarteriosa: TAE o chemioembolizzazione: TACE); E) radioembolizzazione con Yttrio-90 (TARE). Tutti gli interventi chirurgici e le biopsie eseguite hanno permesso di implementare una parallela banche di tessuti dei pazienti inclusi nello studio, i quali hanno espresso il loro consenso informato – redatto su modulistica preparata ad hoc – alla donazione del loro materiale biologico a scopo di ricerca.

Le variabili demografiche (età, sesso, ecc) e le caratteristiche tumorali dei pazienti inclusi nello studio sono state raccolte in uno specifico database impostato allo scopo. I tassi di risposta ai vari trattamenti sono stati progressivamente archiviati sulla base delle valutazioni radiologiche e di medicina nucleare indipendenti, raccolte durante il follow-up.

CASISTICA RACCOLTA NEL PRIMO ANNO DI ATTIVITÀ

Sono stati ad oggi arruolati 46 pazienti in totale (21 femmine e 25 maschi), candidati a trattamento sul tumore primitivo o sulle metastasi epatiche. L'età mediana è stata di 56.7 anni (IQR 47.1-68.7).

In tabella 1 vengono riassunti i gruppi di pazienti per stadio di malattia e il trattamento a cui sono stati sottoposti.

Tabella 1

Caratteristiche dei 46 pazienti				
Pazienti n. (%)	Trattamento	N	PD n.18 (39.1%)	Stable / non PD n. 29 (63.0%)
Primary T alone 20 (43.5%)	Resection of T	20	3 (15.0%)	17 (85.0%) NED pure ¹
T and M 18 (39.1%)	Resection of T	17	8 (44.4%)	9 (50.0%) LTP ²
	Resection of T and M	1	-	1 (5.6%) NED composito ³
M alone 8 (17.4%)	Resection of M	7	6 (75%)	1 (12.5%) NED composito ³
	LRT	1	-	1 (12.5%) LTP ²

T: tumore primitivo; M: metastasi epatiche; LRT: trattamento locoregionale; PD: progressione di malattia; NED: non evidenza di malattia
¹NED pure= non evidenza di malattia dopo trattamento radicale di malattia non metastatica;
²LTP: liver tumor persistence= persistenza di malattia in sede epatica;
³NED composite= non evidenza di malattia dopo trattamento radicale del tumore primitivo e delle metastasi epatiche.

Nel dettaglio, 20 pazienti (43.5%) si presentavano liberi da metastasi epatiche, mentre in 26 casi (56.5%) pazienti erano presenti secondarismi al fegato. Di questi, 15 (57.6%) pazienti avevano una primitività ileale, in 3 (20%) casi associata a carcinosi peritoneale, 11 (42.3%) una primitività pancreatica, di cui 3 (27.3%) della testa e 8 (72.7%) del corpo-coda.

Il T primitivo è stato asportato complessivamente in 37 casi. Di questi, 20 (43.5% del totale) si presentavano liberi da metastasi mentre 17 (36.9% del totale) avevano metastasi epatiche in sede. I pazienti con tumore primitivo non metastatico erano localizzati all'ileo (6 casi: 30.0%), al pancreas (6 casi: 30.0%), di cui 3 al corpo-coda e 3 alla testa, al retto (2 casi: 10.0%), allo stomaco (2 casi: 10.0%), al surrene (2 casi: 10.0%), al retroperitoneo (1 caso: 5.0%) e all'appendice (1 caso: 5.0%). I pazienti con metastasi avevano una primitività ileale in 10 casi (58.8%), 3 dei quali associati a carcinosi peritoneale, mentre in 7 casi (41.2%) la primitività era pancreatica, di cui 4 localizzati nel corpo-coda e 3 nella testa.

Il complesso delle procedure chirurgiche nei pazienti in studio è consistito in 14 resezioni pancreatiche (7 splenopancreasectomie distali, 1 splenopancreasectomia distale + surrenalectomia e 6 duodenocefalopancreasectomie) 10 resezioni ileali, 3 resezioni ileali + peritonectomia, 2 emicolectomie destre, 2 resezioni anteriori di retto, 2 gastrectomie, 2 asportazioni di masse retroperitoneali e 1 appendicectomia. Otto pazienti sono infine stati ricoverati per essere sottoposti a trattamento delle metastasi epatiche, dopo la rimozione del tumore primitivo. In questi pazienti sono state eseguite 7 resezioni epatiche e una radioembolizzazione (TARE).

Il Ki67 mediano dei pazienti dell'intera serie è 2 (IQR 0.93-5) senza evidenti differenze tra i 20 pazienti senza metastasi (Ki67 mediano: 1.65 (IQR 0.92-5) e i 26 pazienti con metastasi (Ki67 mediano: 2.1 (IQR 0.06-2.25)). La CgA mediana dei pazienti prima del trattamento è stata di 66.5 ng/mL (IQR 28.0-289.0) con variazioni tra i 74.4 ng/mL (IQR 38.0-382.2) nei pazienti liberi da metastasi e i 66.0 ng/mL (IQR 29.7-357.2) nei pazienti con secondarismi epatici. Il follow-up mediano è sino a oggi di 9 mesi (IQR 4.3-14.3), ovvero troppo breve per iniziare ad analizzare i dati di follow-up.

Sulla base della stadiazione iniziale e del trattamento eseguito, sono comunque stati stratificati 3 diversi gruppi a differente prognosi su cui testare il valore predittivo della liquid biopsy:

1. Gruppo 1, a miglior prognosi = pazienti sottoposti a trattamento radicale di neoplasia non metastatica;
2. Gruppo 2, a prognosi intermedia = pazienti sottoposti a trattamento chirurgico radicale di un NET in fase metastatica;
3. Gruppo 3, a prognosi più severa = pazienti caratterizzati da persistenza di neoplasia in sede epatica (pazienti con metastasi sottoposti a resezione del primitivo e delle sedi extraepatiche di malattia o pazienti con metastasi epatiche trattate in modo non radicale con terapia loco regionale).

Al momento (aprile 2018) 18 pazienti (39.1%) dello studio hanno presentato recidiva o progressione di malattia a un tempo mediano di 7.5 mesi (IQR 4.1-18.1). L'evento recidiva è corrisposto in genere alla decisione su altri trattamenti di seconda linea anch'essi monitorati secondo lo stesso schema di prelievi e valutazioni seriali archiviate nel medesimo database. Le analisi del NETest e dei trascritti genici sui prelievi raccolti al tempo basale, alla dimissione, ai vari intervalli di follow-up verranno effettuate una volta che il numero di eventi (recidiva o progressione) supererà il previsto numero di 30. Il dato sulle biopsie liquide raccolte sino ad oggi ai diversi intervalli di follow-up sulla base della stadiazione iniziale del tumore è riassunto in tabella 2. Quello in base al e gruppo prognostico di appartenenza in tabella 3.

Tabella 2

Liquid Biopsy sample		Prelievi N (%)			
Status PD	N (%)	Tempo 0 N (%)	1 mese N (%)	3 mesi N (%)	6 mesi N (%)
T alone	3 (16.6%)	3 (100.0%)	3 (100.0%)	1 (33.3%)	1 (33.3%)
T + M	8 (44.5%)	8 (100.0%)	5 (62.5%)	3 (37.5%)	5 (62.5%)
M alone	7 (38.9%)	7 (100.0%)	5 (62.5%)	4 (57.1%)	4 (57.1%)

T: tumore primitivo; M: metastasi epatiche; PD: progressione di malattia

Tabella 3

Liquid Biopsy sample		Prelievi N (%)			
Status NED	N (%)	Tempo 0 N (%)	1 mese N (%)	3 mesi N (%)	6 mesi N (%)
NED pure	17 (85.0%)	17 (100.0%)	6 (35.3%)	5 (29.4%)	5 (29.4%)
NED composite	10 (55.6%)	10 (100.0%)	6 (60.6%)	4 (40.0%)	3 (30.0%)
LTP	1 (12.5%)	1 (100.0%)	1 (100.0%)	1 (100.0%)	1 (100.0%)

NED: non evidenza di malattia; M: metastasi epatiche; LTP: persistenza di malattia in sede epatica

Lo studio si propone di raggiungere i 30 eventi di progressione/recidiva lungo il follow-up previsti prima di analizzare nel dettaglio il set raccolto nel frattempo di campioni ematici e tissutali. Prosegue quindi con particolare meticolosità la raccolta del set di campioni necessario a portare il volume di attività a valori sufficienti a testare in forma di valutazione-pilota la predittività dei trascritti ematici nei pazienti con NET avanzato sottoposto a trattamenti potenzialmente curativi o di citoriduzione sub-totale. Un'analisi preliminare esplorativa è prevista ragionevolmente nell'arco dei prossimi 12 mesi.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- 1 Lawrence B, Gustafsson BI, Chan A, Svejda B, Kidd M, Modlin IM. The epidemiology of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2011; 40: 1– 18.
- 2 Frilling A, Modlin IM, Kidd M, Russell C, Breitenstein S, Salem R, Kwekkeboom D, Lau WY, Klersy C, Vilgrain V, Davidson B, Siegler M, Caplin M, Solcia E, Schilsky R; Working Group on Neuroendocrine Liver Metastases. Recommendations for management of patients with neuroendocrine liver metastases. *Lancet Oncol*. 2014 Jan;15(1):e8-21. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70362-0. Review. PubMed PMID:24384494.
- 3 Mayo SC, de Jong MC, Pulitano C, Clary BM, Reddy SK, Gamblin TC, Celinski SA, Kooby DA, Staley CA, Stokes JB, Chu CK, Ferrero A, Schulick RD, Choti MA, Mentha G, Strub J, Bauer TW, Adams RB, Aldrighetti L, Capussotti L, Pawlik TM. Surgical management of hepatic neuroendocrine tumor metastasis: results from an international multi-institutional analysis. *Ann Surg Oncol*. 2010 Dec;17(12):3129-36. doi: 10.1245/s10434-010-1154-5. Epub 2010 Jun 29. PubMed PMID: 20585879.
- 4 Partelli S, Maurizi A, Tamburrino D, Baldoni A, Polenta V, Crippa S, Falconi M. GEP-NETS update: a review on surgery of gastro-entero-pancreatic neuroendocrine tumors. *Eur J Endocrinol*. 2014 Oct;171(4):R153-62. doi:10.1530/EJE-14-0173. Epub 2014 Jun 11. Review. PubMed PMID: 24920289.
- 5 Bacchetti S, Bertozzi S, Londero AP, Uzzau A, Pasqual EM. Surgical treatment and survival in patients with liver metastases from neuroendocrine tumors: a meta-analysis of observational studies. *Int J Hepatol*. 2013;2013:235040. doi:10.1155/2013/235040. Epub 2013 Feb 20. PubMed PMID: 23509630; PubMed Central PMCID: PMC3590743.
- 6 Fan ST, Le Treut YP, Mazzaferro V, Burroughs AK, Olausson M, Breitenstein S, Frilling A. Liver transplantation for neuroendocrine tumour liver metastases. *HPB (Oxford)*. 2014 Jul 3. doi: 10.1111/hpb.12308. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 24992381.
- 7 Vogl TJ, Naguib NN, Zangos S, Eichler K, Hedayati A, Nour-Eldin NE. Liver metastases of neuroendocrine carcinomas: interventional treatment via transarterial embolization, chemoembolization and thermal ablation. *Eur J Radiol*. 2009 Dec;72(3):517-28. doi: 10.1016/j.ejrad.2008.08.008. Epub 2008 Oct 1. Review. PubMed PMID: 18829195.
- 8 Gupta S. Intra-arterial liver-directed therapies for neuroendocrine hepatic metastases. *Semin Intervent Radiol*. 2013 Mar;30(1):28-38. doi: 10.1055/s-0033-1333651. Review. PubMed PMID: 24436515; PubMed Central PMCID: PMC3700796.
- 9 Devcic Z, Rosenberg J, Braat AJ, Techasith T, Banerjee A, Sze DY, Lam MG. The efficacy of hepatic 90Y resin radioembolization for metastatic neuroendocrine tumors: a meta-analysis. *J Nucl Med*. 2014 Sep;55(9):1404-10. doi:10.2967/jnumed.113.135855. Epub 2014 Jul 10. PubMed PMID: 25012459.

- 10** Modlin IM, Drozdov I, Kidd M. The identification of gut neuroendocrine tumor disease by multiple synchronous transcript analysis in blood. PLoS One. 2013 May 15;8(5):e63364. doi: 10.1371/journal.pone.0063364. Print 2013. PubMed PMID:23691035; PubMed Central PMCID: PMC3655166.
- 11** Modlin IM, Drozdov I, Kidd M. Gut neuroendocrine tumor blood qPCR fingerprint assay: characteristics and reproducibility. Clin Chem Lab Med. 2014 Mar;52(3):419-29. doi: 10.1515/cclm-2013-0496. PubMed PMID: 24127543.
- 12** Modlin IM, Drozdov I, Alaimo D, Callahan S, Teixeira N, Bodei L, Kidd M. A multianalyte PCR blood test outperforms single analyte ELISAs (chromogranin A, pancreastatin, neurokinin A) for neuroendocrine tumor detection. Endocr Relat Cancer. 2014 Aug;21(4):615-28. doi: 10.1530/ERC-14-0190. PubMed PMID: 25015994.
- 13** Modlin IM, Drozdov I, Bodei L, Kidd M. Blood transcript analysis and metastatic recurrent small bowel carcinoid management. BMC Cancer. 2014 Aug 5;14:564. doi: 10.1186/1471-2407-14-564. PubMed PMID: 25095873; PubMed Central PMCID: PMC4148943.
- 14** Modlin IM, Aslanian H, Bodei L, Drozdov I, Kidd M. A PCR blood test outperforms chromogranin A in carcinoid detection and is unaffected by proton pump inhibitors. Endocr Connect. 2014 Dec;3(4):215-23. doi: 10.1530/EC-14-0100. Epub 2014 Oct 14. PubMed PMID: 25316294.
- 15** Mazzaferro V, Sposito C, Coppa J, Miceli R, Bhoori S, Bongini M, Camerini T, Milione M, Regalia E, Spreafico C, Gangeri L, Buzzoni R, de Braud F, De Feo T, Mariani L The long-term benefit of liver transplantation for hepatic metastases from neuroendocrine tumors. American Journal of Transplantation 2016; 16: 2892–2902.



Valutazione dei risultati clinici e cosmetici delle pazienti sottoposte a IORT all'ospedale di Treviso

Sezione LILT di Treviso
Responsabile scientifico: Dottor Alessandro Gava

INTRODUZIONE

L'approccio terapeutico al cancro della mammella in stadio iniziale è cambiato radicalmente con l'introduzione della chirurgia conservativa seguita da radioterapia. La combinazione di questi trattamenti consente di raggiungere il controllo loco regionale senza ricorrere ad interventi mutilanti per la donna.

In Italia nel 2017 sono attesi 50.500 nuovi casi di carcinoma mammario, di cui circa 800 in provincia di Treviso. Dal momento che nella nostra provincia vi è una alta adesione allo screening mammografico, la gran parte dei tumori mammari viene diagnosticata in fase iniziale e la chirurgia conservativa, seguita da radioterapia, rappresenta il trattamento standard di queste neoplasie.

Il trattamento radiante viene generalmente eseguito con acceleratore lineare, con una irradiazione frazionata dell'intera mammella, seguita da un sovradosaggio sul letto operatorio.

Poiché nell'85% dei casi le recidive compaiono proprio nell'area dell'escissione della neoplasia, sono stati compiuti degli studi per valutare l'efficacia della irradiazione parziale della mammella nei tumori a basso rischio. Una delle tecniche impiegate per l'irradiazione parziale della mammella è la IORT (IntraOperative Radiation Therapy), che può essere effettuata con l'impiego di apparecchiature dedicate, quali acceleratori di elettroni o generatori di Raggi X, utilizzati direttamente in sala operatoria durante l'intervento chirurgico.

La IORT comporta notevoli vantaggi per le pazienti in termini logistici, estetici, psicologici ed economici, ai quali si aggiungono vantaggi da un punto di vista radiobiologico perché, azzerando l'intervallo tra la rimozione della neoplasia e la somministrazione della radiazione, si impedisce ad eventuali focolai neoplastici residui di replicare ed estendersi.

In secondo luogo la IORT consente di focalizzare il fascio radiante con estrema precisione nell'area desiderata, identificata congiuntamente da chirurgo e radioterapista, e consente la riduzione della dose di radiazione ai tessuti sani circostanti, in particolare alla cute che non viene irradiata e agli organi profondi (parete toracica, cuore e polmone) che vengono opportunamente schermati; ciò consente di erogare dosi elevate su volumi limitati.

SCOPO DELLO STUDIO

L'obiettivo dello studio è la valutazione dei risultati clinici, in termini di controllo locale e sopravvivenza e cosmetici, delle pazienti affette da early breast cancer, trattate con quadrantectomia e IORT con elettroni nell'Ospedale di Treviso dal 2004 al 2014.

Lo studio è nato dalla collaborazione tra l'unità operativa di Radioterapia Oncologica e la Terza Divisione Chirurgica (seguita poi dalla Chirurgia Senologica della Breast Unit), avviata al momento dell'introduzione del sistema Novac 7 per IORT all'Ospedale Ca' Foncello di Treviso.

Sono state inoltre analizzate le complicanze immediate e tardive, rilevando tutti gli eventi insorti in corso di follow up e classificandoli in termini di gravità in base ai Common Toxicity Criteria versione 3.0.

Per quanto riguarda i risultati cosmetici sono stati valutati in base a riscontro clinico oggettivo, eseguito in corso di follow up.

I risultati sono stati infine messi a confronto con quelli di una casistica analogica di pazienti con le stesse caratteristiche cliniche, sottoposte a radioterapia nello stesso centro, negli stessi anni, con irradiazione mammaria totale.

MATERIALI E METODI

Dal 2004 al 2014 presso l'Ospedale di Treviso abbiamo sottoposto a chirurgia conservativa associata a radioterapia intraoperatoria con elettroni, con dosi di 21 Gy, 212 pazienti affette da cancro della mammella in fase precoce selezionate in base a rigidi criteri di inclusione:

- diagnosi istologica di carcinoma infiltrante;
- diagnosi radiologica di neoplasia unifocale, con diametro ecografico non superiore a 2,5 cm.;
- stato menopausale;
- assenza di metastasi loco-regionali e/o a distanza;
- assenza di secondi tumori;
- disponibilità della paziente a sottoporsi ad un rigoroso follow-up.

Le pazienti sono state sottoposte a centraggio ecografico preoperatorio con posizionamento di filo guida in caso di lesioni clinicamente non palpabili.

Tutte le pazienti hanno ricevuto una corretta ed esauriente informazione con acquisizione di un duplice consenso informato, per trattamento chirurgico e radioterapico intraoperatorio.

RISULTATI

Le pazienti avevano un'età media di 62 anni (range 45-86 anni) con un follow up mediano di 47 mesi. Nella nostra casistica abbiamo registrato 8 casi di recidiva loco-regionale, 3 casi di progressione loco-regionale e 4 casi di progressione a distanza (in 4 pazienti vi è stata progressione sia locale che regionale e/o a distanza). Solo 2 pazienti sono finora decedute per progressione sistemica di malattia. Questi risultati sono del tutto sovrapponibili a quelli ottenuti nel nostro Centro in un gruppo di pazienti con caratteristiche cliniche simili, sottoposte a radioterapia esterna negli stessi anni, provenienti da altre chirurgie della provincia.

RICADUTE DI MALATTIA 212 PAZIENTI	
LOCALI	8
LINFONOIDI LOGO-REGIONALI	3
METASTASI A DISTANZA	4

RISULTATI ESTETICI 212 PAZIENTI	
ECCELLENTI-BUONI	189 (89%)
DISCRETI	17 (8%)
SCARSI	6 (3%)

La valutazione dei risultati estetici è stata effettuata prendendo in considerazione alcuni parametri oggettivi, quali la simmetria e la forma mammaria, lo stato della cicatrice e la pigmentazione cutanea trascorsi almeno 12 mesi dall'intervento. Naturalmente tali risultati sono legati anche alla tecnica chirurgica oltre che alla IORT. Abbiamo riportato risultati buoni - eccellenti in 189 pazienti, discreti in 17 pazienti scarsi in soli 6 pazienti. Per quanto riguarda le complicanze tardive, la più frequente è stata la fibrosi (in genere sottocicatrizzale) che è risultata marcata solo in 5 pazienti. Abbiamo riscontrato un nodulo in corrispondenza del letto operatorio nel 6.6% delle pazienti.

TOSSICITÀ TARDIVA		
Evento	Numero Pazienti	Percentuale
Fibrosi	45	21,2 %
Nodulo sottocicatrizzante	14	6,6 %
Algie	5	3,2 %

La complicanza tardiva più frequente riscontrata è stata la fibrosi a livello del tessuto irradiato la cui entità viene così classificata:

Grado 1: minimo aumento di consistenza limitato alla cicatrice chirurgica.

Grado 2: addensamento parenchimale localizzato in sede di trattamento in assenza di alterazioni cutanee e di sintomi.

Grado 3: fibrosi marcata con importante addensamento sottocicatrizzante e retrazione cutanea.

Grado 3: 5 pz (2,3%) - Grado 2: 32 pz (15%) - Grado 1: 8 pz (3,7%)

CONCLUSIONI

La IORT non rappresenta a oggi uno standard terapeutico, ma sta trovando sempre più ampi consensi, sia come trattamento esclusivo, in gruppi selezionati di pazienti, sia come boost iniziale che prevede poi un completamento con un ciclo di sedute di radioterapia esterna. I risultati degli studi in corso o da poco conclusi consentiranno di validare e confrontare le attuali esperienze cliniche. Sono attualmente disponibili le raccomandazioni di consenso ASTRO e GEC/ESTRO che definiscono i criteri di inclusione al di fuori di trial clinici a cui è opportuno attenersi in attesa dei risultati di trials clinici controllati.

BIBLIOGRAFIA

- 1 AIRTUM i numeri del cancro in Italia 2017.
- 2 Veronesi U, Saccozzi R, Del Vecchio M. Comparing radical mastectomy with quadrantectomy, axillary dissection and radiotherapy in patients with small cancer of the breast. *New Engl J Med* 1981; vol 305, n° 1: 665-673.
- 3 Trotti A, Colevas D, Setser A et al. CTCAE v3.0: Development of a Comprehensive Grading System for the Adverse Effects of Cancer Treatment. *Seminars in Radiation Oncology*, 2003;Vol 13, No 3 (July),: 176-181.
- 4 Orecchia R1, Ciocca M, Lazzari R, Intraoperative radiation therapy with electrons (ELIOT) in early-stage breast cancer. *Breast*. 2003 Dec;12(6):483-90.
- 5 Veronesi U, Orecchia R, Maisonneuve P et al. Intraoperative radiotherapy versus external radiotherapy for early breast cancer (ELIOT): a randomized controlled equivalence trial. *Lancet Oncol* 2013, 13:1269–77.
- 6 Vaidya JS, Joseph DJ, Tobias JS, et al. Targeted intraoperative radiotherapy versus whole breast radiotherapy for breast cancer (TARGIT-A trial) : an international, prospective, randomised, non-inferiority phase 3 trial. *Lancet* 2010; 376: 91-102.
- 7 Smith BD, Douglas WA, Buchholz TA, et al. Accelerated partial breast irradiation Consensus Statement from the American Society for Radiation Oncology (ASTRO). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 74: 987-1001
- 8 Polgár C, Van Limbergen E, Pötter R, et al. Patient selection for accelerated partial-breast irradiation (APBI) after breast-conserving surgery: recommendations of the Groupe Européen de Curiethérapie-European Society for Therapeutic Radiology and Oncology (GEC-ESTRO) breast cancer working group based on clinical evidence. *Radiother Oncol* 2010; 94: 264–273.

PREVENZIONE DONNA

Programmi di prevenzione del tumore endometriale

Progetto Nazionale LILT - Università degli Studi di Roma Tor Vergata
Fondazione PTV

Direttore: Prof. Leonardo Palombi

A cura di: Prof. Leonardo Palombi *; Prof. Domenico Arduini ° §

Dott. Emanuele Caredda *

* Dipartimento di Biomedicina Prevenzione – Sezione di Sanità Pubblica ed Epidemiologia

° Dipartimento di Biomedicina Prevenzione – Sezione di Ostetricia e Ginecologia

§ Polo Assistenziale Santa Famiglia

Il carcinoma endometriale dopo quello della mammella e della cervice uterina, associato all'iperestrogenismo, è molto frequente, ma di difficile definizione epidemiologica nel mondo per la quota di donne isterectomizzate per patologie non tumorali. La stima dei casi attesi in Italia prevede un incremento stabile annuale dello 0.7%. I dati Aiom-Airtum¹ hanno considerato per il 2016 circa 10.500 nuovi casi di tumore dell'utero di cui 8200 a carico del corpo dell'utero e 2500 della cervice. Attualmente in Italia ci sono circa 100.000 donne viventi con questa diagnosi. Il tumore del corpo uterino colpisce prevalentemente l'epoca post menopausale, nella fascia di età 50-70 anni, e può essere asintomatico nelle prime fasi.

Il segno prognostico più diffuso è un anomalo sanguinamento vaginale richiedendo l'approfondimento diagnostico con l'ecografia transvaginale^{2,3}. Il **tumore endometriale**, la cui forma istologica più prevalente (circa il 75% dei casi) è l'adenocarcinoma, è **suddivisibile in due tipi**. Il **tipo 1, estrogeno-dipendente**, bene o moderatamente differenziato, associato a una migliore prognosi; esso è più frequente in menopausa e ha come maggior fattore di rischio l'obesità, in quanto la produzione ormonale in menopausa è legata alla conversione degli androgeni, prevalentemente surrenalici, in estrogeni da parte del tessuto adiposo.

L'iperestrogenismo in obesità può provocare una abnorme stimolazione dell'endometrio che attraverso l'iperplasia semplice, adenomatosa e atipica può condurre al tumore endometriale. Il **tipo 2, non estrogeno-dipendente**, più indifferenziato e raro, è la forma più grave. L'attesa di sopravvivenza a 5 anni è mediamente del 76,1%. A seconda dello stadio tale sopravvivenza cambia: in quello più iniziale l'attesa di vita è del 98%, mentre nello stadio più avanzato non supera il 10%.

La prevenzione svolge un ruolo fondamentale per il cancro della cervice, fin da quando spontaneamente si è diffusa la pratica del Pap-test negli anni '60 del secolo scorso, invece **per il cancro del corpo uterino essa è meno indicata**. Uno screening per il tumore endometriale in donne asintomatiche, infatti, non è raccomandato dalle linee guida internazionali, **poiché non sono stati osservati reali benefici in termini di riduzione di mortalità**⁴.

Tuttavia, le categorie di donne ad alto rischio^a di tumore endometriale hanno raccomandazioni di screening basate sui benefici della diagnosi precoce, anche se non esistono studi che dimostrano una riduzione della mortalità associata alla patologia. Lo screening proposto per le donne a rischio elevato è l'ecografia ginecologica trans-vaginale con la misurazione della rima endometriale (primo livello) e successivo eventuale campionamento endometriale (secondo livello)⁵. **Lo screening pertanto non trova ragione di sanità pubblica, ma l'aumentata conoscenza della malattia può fornire numerosi spunti di approfondimento diagnostico.**

ESTROGENI

L'iperestrogenismo è la causa della maggior parte dei tumori a carico dell'endometrio. Un'approfondita anamnesi personale può individuare abitudini e terapie (pillola contraccettiva estrogenica, tamoxifene e terapia ormonale sostitutiva) che evidenzino una maggiore esposizione al rischio.

OBESITÀ

In postmenopausa l'obesità, causa di iperestrogenismo, è il primo fattore di rischio di sviluppare la malattia per via del tessuto adiposo viscerale. Infine, essa ha uno stretto collegamento con l'infiammazione (vedi dopo). Il rapporto obesità-cancro endometriale è mediato da tre fattori fondamentali: l'**infiammazione**, l'**insulino-resistenza** (e la sindrome metabolica) e l'innalzamento degli **estrogeni**.

RUOLO DELL'INFIAMMAZIONE

I dati epidemiologici attribuiscono all'infiammazione un ruolo sempre maggiore nello sviluppo del tessuto tumorale: la proteina C reattiva (*C-reactive protein*, CRP) è il più comune marcatore della fase acuta dell'infiammazione. In letteratura, numerosi studi mettono in correlazione i fattori dell'infiammazione (CRP, e IL-6 e TNF- α e altri) al rischio di carcinoma dell'endometrio. In particolare CRP viene associata al rischio di carcinoma dell'endometrio (HR q4-q1 = 2,29; IC 95% = 1,13-4,65; p = 0,012); obesità, insulino-resistenza ed estradiolo modificano questo rapporto di rischio⁶. In ultimo, l'infiammazione è strettamente connessa con il marcatore principale delle neoplasie genitali femminili, il CA125⁷ che assume un ruolo prognostico nel follow-up (vedi dopo).

a) Uso di **Tamoxifene**: farmaco antitumorale assunto via orale e appartenente alla famiglia dei modulatori selettivi del recettore degli estrogeni; numerosi studi hanno dimostrato che esso, a causa dell'effetto pro-estrogenico sull'endometrio, aumenta l'incidenza di tumori uterini (0.5-1% delle donne che assumono tamoxifene per cinque anni, OR=3). Il rischio di induzione di carcinomi endometriali è più pronunciato nelle donne in post-menopausa, nelle obese e in quelle precedentemente sottoposte a HRT (terapia ormonale sostitutiva).

Sindrome di Lynch (*Hereditary Non-Polyposis Colon Cancer* - HNPCC), autosomica dominante. Le donne con HNPCC hanno un rischio del 40-60% di sviluppare un tumore endometriale e di circa 10-15% di tumore ovarico. Molte strategie di screening sono state studiate ma l'efficacia reale dello screening endometriale rimane incerta. Sicuramente lo screening svolge un ruolo fondamentale nel gruppo di donne ad alto rischio che vogliono evitare una chirurgia profilattica. Le principali linee guida consigliano uno screening dai 30-35 anni con ecografia ginecologica TV e campionamento endometriale annuale.

[Fonte: IEO, Milano]

CA125

Ha un ruolo prognostico consolidato nel follow up del tumore endometriale (e di altri tumori genitali femminili, come l'ovarico), ma non ha alcun significato diagnostico, tantomeno di diagnostica precoce poiché presente in gravidanza e numerose patologie infiammatorie della zona pelvica o dei quadranti inferiori dell'addome. Anche la ricerca di altri marcatori tumorali, per esempio HE4 (*Human epididymis protein 4*), non ha portato un miglioramento della specificità e sensibilità di tale approccio⁸.

BIOMARCATORI DELL'ED (ENDOCRINE DISRUPTORS)

Altro importante capitolo di estremo interesse è quello degli *Endocrine Disruptors*. Essi sono correlati con molti aspetti della salute, in particolare degli organismi in crescita. È molto complesso impostare degli studi epidemiologici che provino tale correlazione causale. Tra gli EDCs, alcuni sono stati individuati particolarmente correlati al carcinoma endometriale: bisfenolo A (*bisphenol A*); bisfenile policlorinato (*polychlorinated biphenyls*); diossina (*dioxin*) e cadmio (*cadmium*)⁹.

HAND2

Negli ultimi anni la ricerca si è concentrata sulle modificazioni epigenetiche che governano la carcinogenesi endometriale. Tali meccanismi sono legati a quattro geni in particolare: hMLH1, PTEN, RASSF1 e HAND2¹⁰. Maggiori ricerche sono necessarie per comprendere se un tampone vaginale, identificando tale mutazione epigenetica, potrebbe individuare le donne a più alto rischio di carcinoma endometriale¹¹.

ECOGRAFIA TRANSVAGINALE E SPESSORE DELL'ENDOMETRIO

L'esame ha una buona sensibilità (85-90%), mentre la specificità non è alta per le lesioni endometriali avendo una percentuale di circa 30% di falsi positivi. L'esame può nei casi dubbi essere integrato da una sonoisterografia iniettando soluzione fisiologica con un catetere in cavità uterina^b.

b) Peraltro lo step diagnostico successivo per il tumore endometriale e i suoi precursori è rappresentato da una isteroscopia che, nei casi dubbi, deve essere confermata da una biopsia con relativo esame istologico.

La biopsia può essere eseguita contestualmente e può anche definire il grado del tumore che è espressione della sua aggressività istologica (Grading). L'isteroscopia è però un esame invasivo e non deve essere utilizzata nelle pazienti asintomatiche. Inoltre, nelle pazienti con sanguinamento uterino anomalo in postmenopausa (PEAM= perdite ematiche atipiche in menopausa = AUB Abnormal uterine bleeding) il tumore endometriale è presente nel 5-6% dei casi, la restante percentuale è rappresentata da patologia benigna (50%) polipi, miomi o iperplasia endometriale.

L'iperplasia è attualmente considerata una lesione precancerosa se sono presenti atipie cellulari perché ha un tasso di progressione verso la malignità del 20-30%. L'esame ecografico transvaginale può e deve precedere l'isteroscopia e selezionare le pazienti che vi devono essere sottoposte.

PROGETTO DI RICERCA

Should we screen for endometrial cancer? Recitava un articolo¹² su Lancet oncology. Sicuramente non esistono evidenze che giustifichino l'approccio di screening costo-efficacia tramite l'ecografia transvaginale. Eppure, da quanto esposto finora, gli spunti per un'integrazione diagnostica sono molteplici. L'approccio multistep alla diagnosi precoce e/o alla valutazione del rischio di ammalarsi di tumore dell'endometrio potrebbe permettere dei passi avanti nella comprensione della malattia, nella sua gestione terapeutica e – si spera – nella riduzione della mortalità.

FASI DEL PROGETTO

- 1 Costruzione e calibrazione dell'algoritmo attraverso uno studio retrospettivo.
- 2 Validazione dell'algoritmo (sensibilità, specificità, PPP e PPN, accuratezza) mediante un approccio prospettico.

Fase uno

Si imposta uno studio caso-controllo nidificato. L'approccio retrospettivo consentirà di avvalersi di una popolazione composta da donne malate e controlli sani. La numerosità prevista del campione è di 300 donne totali (100 casi e 200 controlli per un 1:2 ratio).

- a- I casi (**donne che hanno sviluppato il tumore**), in numero di 100, verranno selezionate nei centri di riferimento.
- b- I controlli (**donne che non hanno sviluppato tumore**), saranno in numero di 200, con appaiamento di 1:2 ai casi.

Criteri di eleggibilità: età peri-postmenopausale (a non più di un anno dalla menopausa), spotting recente, invio a struttura assistenziale per sospetta presenza di lesione endometriale

Appaiamento: i criteri di eleggibilità soddisfano ogni requisito di appaiamento.

Organizzazione ed Etica dello studio

Capofila scientifico del progetto è l'Università degli Studi di Roma Tor Vergata.

Il coordinamento clinico, acquisito il parere del Comitato Scientifico LILT, sarà affidato al Prof. Domenico Arduini, il coordinamento scientifico-epidemiologico al Prof. Leonardo Palombi.

Si individueranno tre Sedi principali per questa prima fase del progetto (Nord, Centro e Sud), indicate dalla LILT. L'arruolamento delle pazienti avverrà dopo esplicita approvazione dei comitati etici di sede nonché dell'Università di Tor Vergata come ente promotore, tramite proposta e firma del consenso informato al progetto scientifico, previa chiarificazione di ogni parte del progetto, delle sue finalità e degli Enti coinvolti^c. Il **tempo previsto per l'arruolamento** del campione necessario allo studio è di un anno. In tal senso si tratta di uno studio nidificato, cioè con arruolamento prospettico su casi di malattia, però già in atto.

Al momento dell'arruolamento, previa firma del consenso informato, sia i casi che i controlli eseguiranno differenti esami/valutazioni: Anamnesi, Ecografia transvaginale. Tampone vaginale. Antropometria. Esame del sangue. Prelievo di capelli. Tutte le variabili raccolte da questa batteria di esami comporranno il database per

^c La documentazione di riferimento, comprensiva di descrizione del progetto e delle sue finalità, di scheda informativa del progetto, di modulo di sottoscrizione del consenso informato, verrà sottoposta alla futura convocazione del Comitato Etico Indipendente dell'Università degli Studi di Roma Tor Vergata, presso il Policlinico di Tor Vergata, per l'approvazione definitiva.

l'analisi statistica alla base dello studio di fase uno. Verrà utilizzato per lo studio il **software SPSS** (IBM SPSS Statistics, Chicago, Illinois USA) sia per la realizzazione del database che per l'analisi ed elaborazione dei dati. L'associazione di ogni composto con l'esito (tumore endometriale) consentirà di valutare l'implicazione nel processo etiologico e il peso relativo di ogni variabile rispetto alle altre. Questo permetterà la costruzione di un **algoritmo di indagine** del rischio di sviluppare tumore, nella popolazione suscettibile, e di pesare tale rischio con un'previsione di maggiore o minore gravità della patologia. La prima fase impegnerà tutto il 2019.

Fase due

A partire dai risultati dello studio preliminare effettuato nella prima fase del progetto, si costruirà un protocollo di indagine da applicare alla più vasta popolazione suscettibile per il tumore endometriale. L'arruolamento, che vedrebbe coinvolte tutte le sedi provinciali della LILT, dovrebbe interessare circa 10000 donne asintomatiche (tasso di incidenza europeo 20-23 donne/100000 per anno^d). Il protocollo, a regime, prevedrebbe le stesse fasi descritte per lo studio caso-controllo, ma pesate sulla base dell'algoritmo. Non è possibile prevedere ulteriori anticipazioni.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Associazione Italiana di Oncologia Medica (Aiom) e Associazione Italiana Registro Tumori (Airtum): "I numeri del cancro in Italia 2016".
- 2 Linee guida – Neoplasie dell'utero: endometrio e cervice (Aiom, 2017)
- 3 Savelli et al. Preoperative local staging of endometrial cancer: transvaginal sonography vs. magnetic resonance imaging. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008 May; 31 (5): 560-6
- 4 Vergote et al. Should we screen for endometrial cancer? *The Lancet Oncology*, January 2011. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(10\)70280-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(10)70280-1)
- 5 Lu KH, Dinh M, Kohlmann W, et al. Gynecologic cancer as a "sentinel cancer" for women with hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. *Gynecol Oncol*. 2005;105:569–574
- 6 Wang et al. A Prospective Study of Inflammation Markers and Endometrial Cancer Risk in Postmenopausal Hormone Non-Users. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-10-1222 Published May 2011
- 7 Halila et al. Ovarian Cancer Antigen CA 125 Levels in Pelvic Inflammatory Disease and Pregnancy. *Cancer* 57:1327-1329, 1986
- 8 Medscape. Gynecologic Tumor Markers Tumor Marker Overview Updated: Jan 13, 2015 Author: Fazal Hussain, MD, MPH; Chief Editor: Warner K Huh, MD
- 9 Mallozzi et al. Endocrine Disrupting Chemicals and Endometrial Cancer: An Overview of Recent Laboratory Evidence and Epidemiological Studies. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2017, 14, 334; doi:10.3390/ijerph14030334
- 10 Stampoliou. Epigenetic mechanisms in endometrial cancer. *JBUON* 2016; 21(2): 301-306 ISSN: 1107-0625
- 11 Bagcchi. HAND2 methylation linked to endometrial cancer. www.thelancet.com/oncology December 2013
- 12 Vergote. Should we screen for endometrial cancer? www.thelancet.com/oncology January 2011

d) Dati elaborati Aiom 2016.