

Sommario

Il Programma Oncotecnologico mira a sviluppare nuove ed efficaci terapie anti-tumorali, sulla base delle più recenti acquisizioni della tecnologia biomedica. Il programma prevede di affrontare diverse aree scientifico-strategiche in cinque sottoprogetti multipolari, ai quali afferiscono laboratori afferenti all'ISS, agli IRCCS ed i centri di ricerca universitari ed extra-universitari. Un aspetto fondamentale dell'intero programma è rappresentato dalla sinergia tra i diversi gruppi di ricerca, sia nell'ambito di uno stesso sottoprogetto, sia tra sottoprogetti diversi. Questi ultimi, infatti, sono focalizzati su aree limitrofe ed interconnesse, e prevedono spesso una stretta interazione operativa.

I sottoprogetti sui diversi aspetti genetici, molecolari e cellulari delle neoplasie si svolgono in parallelo ad un sottoprogetto clinico (sottoprogetto I), focalizzato sullo sviluppo del test in vitro di resistenza delle cellule tumorali ai chemioterapici antiblastici a dosaggi assai elevati (test "extreme drug resistance", EDR). Lo studio mira a determinare in maniera conclusiva la capacità del test EDR di predire la combinazione ottimale di farmaci da adottare in ciascun paziente. Questo sottoprogetto, inizialmente focalizzato sui tumori ovarici, verrà esteso a quelli della mammella e ad altre neoplasie solide, avvalendosi di nuove procedure di saggio automatizzato. L'applicazione estensiva di questo approccio di chemioterapia "mirata" condurrebbe ad evidenti benefici sul piano clinico-terapeutico e a una rilevante riduzione di spesa per il SSN.

Gli altri sottoprogetti prevedono:

Strategie basate sull'analisi della struttura ed espressione genica nelle cellule tumorali, anche mediante l'uso dei "gene arrays", che consentiranno di (a) identificare i meccanismi molecolari della farmacoresistenza e (b) di sviluppare farmaci capaci di interferire specificamente a livello dei processi molecolari oncogenetici, limitando gli effetti secondari sulle cellule normali (sottoprogetto II).

Studi di biologia cellulare e molecolare che mirano ad ottimizzare le terapie anti-tumorali in modelli preclinici, sia attraverso l'impiego di cellule staminali neoplastiche (sottoprogetto III), sia interferendo con la neangiogenesi e il microambiente tumorale (sottoprogetto IVA).

L'allestimento di una serie di modelli sperimentali che permettano di ottimizzare l'impiego di molecole antiflogistiche nella terapia delle neoplasie della mammella, della prostata e del colon-retto (sottoprogetto IVB).

L'utilizzo di sequenze antisense per la modulazione dell'espressione di Bcl2 nei linfomi follicolari a cellule B: questa proposta si colloca nel quadro generale delle terapie con sequenze antisense, potenzialmente assai rilevanti sia a livello sperimentale, sia anche per l'applicazione clinica (sottoprogetto V).

Un approccio innovativo di terapia antitumorale, basata sull'uso di farmaci anti-retrovirali inibitori della proteasi di HIV e della trascrittasi inversa, da impiegare da soli o in combinazione in una serie di studi in vitro e in vivo (sottoprogetto VI).

Durante il periodo 2004-2005, i diversi sottoprogetti hanno affrontato le diverse tematiche con notevole successo.

Nel **sottoprogetto I** è stato messo a punto il test EDR sul carcinoma dell'ovaio, che è stato eseguito con successo in più di 200 pazienti. Ciò ha permesso l'attivazione di uno studio clinico multicentrico, che ha come obiettivo la comparazione tra la chemioterapia standard e quella basata sui risultati del test EDR in una casistica randomizzata di carcinomi dell'ovaio. La presenza di un platino-derivato insieme al farmaco selezionato sulla base del test è considerata obbligatoria, per assicurare il trattamento antineoplastico migliore ad ogni paziente reclutato.

Nel **sottoprogetto II** è stata indagata la farmacoresistenza mediata dalla perdita di espressione di nuovi fattori di soppressione tumorale (FEZ1, WWOX, Fhit) nei carcinomi renali e mammari, nonché i relativi meccanismi di azione. E' stato inoltre documentato l'aumento di espressione di recettori (claudina 3, 4) della enterotossina di clostridium perfringens in carcinomi ovarici, particolarmente in quelli chemioresistenti. Questi risultati

appaiono importanti per lo sviluppo di nuove terapie nei carcinomi renali, mammari e ovarici, basati sull'impiego di terapie molecolari e di enterotossine ingegnerizzate.

Il **sottoprogetto III** è stato focalizzato sulle cellule primitive ("staminali") neoplastiche che sono a bassa frequenza (< 1-2%) nella popolazione tumorale, ma costituiscono la sorgente cellulare delle neoplasie e l'unica popolazione tumorigenica. Inoltre, sono spesso resistenti alla radio-chemioterapia convenzionale, e sono quindi alla base delle recidive e ricorrenze tumorali.

I risultati ottenuti nel I anno sono di grande rilievo sia per la patogenesi che per la terapia oncologica. Sono state infatti isolate e caratterizzate dai tumori del colon, del cervello, della tiroide, dello stomaco, della mammella e dell'ovaio le cellule "staminali" neoplastiche. Queste cellule possono essere coltivate in vitro indefinitivamente sotto forma di sfere tumorali, che sono in grado di riprodurre nell'animale da esperimento la neoplasia del paziente di origine. Con analoga metodologia possono essere generate le sfere staminali dei corrispondenti tessuti normali (seppure le difficoltà tecnologiche sono in questo caso maggiori). In definitiva, le sfere delle cellule staminali tumorali forniscono degli eccellenti modelli in vitro e in vivo, sia per lo studio dei meccanismi oncogenetici staminali, sia per lo sviluppo e la validazione di terapie tumorali innovative, a carattere eradicante.

Il **sottoprogetto IVA** ha fornito delle informazioni di rilievo sull'inibizione della angiogenesi tumorale, tramite l'impiego di modelli sperimentali sofisticati basati sull'analisi di 12.000 geni effettuata in cellule microvascolari di tessuti diversi, stimulate o meno con FGF2. Queste analisi hanno permesso di identificare una serie di geni che costituiscono potenziali bersagli terapeutici per bloccare l'angiogenesi e la metastatizzazione tumorale (fattori di crescita e loro recettori, proteine coinvolte nel segnale intracellulare, proteasi e proteine della matrice extracellulare). Inoltre è stato studiato il meccanismo responsabile dell'azione anti-angiogenetica degli inibitori delle proteasi dell'HIV (indinavir e saquinavir), che si sono dimostrati in grado di far regredire le lesioni angioproliferative in modelli di sarcoma di Kaposi. Infine, sono stati sviluppati dei modelli murini di "knock-out condizionale" per geni-chiave nella angiogenesi, quali i recettori dei fattori di crescita vasculoendoteliali, ovverosia delle isoforme del VEGF (Flt1, Flk1, Flt4), e i fattori "downstream" a tali recettori (ad esempio, Akt2). Questi modelli potranno fornire informazioni importanti sui meccanismi della neangiogenesi tumorale e dei relativi "targets" terapeutici.

Il **sottoprogetto IVB** ha fornito una serie di dati sperimentali che dimostrano come i principali componenti della risposta infiammatoria (specificamente iNOS e COX2, che attivano NF-KB) siano attivi nelle cellule dei tumori della prostata e del colon in progressione. Sono state quindi poste le basi per una terapia farmacologia antinfiammatoria mirata in queste neoplasie, specificamente in modelli sperimentali tumorali di tipo transgenico o da carcinogeni chimici.

Il **sottoprogetto V** ha fornito una serie di dati sperimentali che permetteranno di ottimizzare la terapia dei linfomi B follicolari attraverso la creazione di trascritti antisense per Bcl2 e la regolazione dell'attività trascrizionale di questo gene. In particolare sono stati individuati una serie di trascritti antisense nel database delle sequenze EST non ancora identificate. Inoltre è stata individuata una nuova proteina umana (TINO) che svolge un'azione regolatoria negativa sui livelli post-trascrizionali di Bcl2. La modulazione di Bcl2 verrà valutata terapeuticamente sui linfomi follicolari chemoresistenti, anche in combinazione con farmaci convenzionali.

I dati ottenuti nel **sottoprogetto VI** hanno validato l'effetto anti-angiogenico ed anti-tumorale degli inibitori delle proteasi dell'HIV ed hanno dimostrato l'effetto antitumorale degli inibitori della trascrittasi inversa (nevinaprina, efavirenz). Questi ultimi hanno determinato in vitro ed in vivo un rallentamento della proliferazione e un marcato processo differenziativo nelle cellule tumorali, con regressione neoplastica in modelli sperimentali di microcitoma, melanoma, carcinoma del colon e della prostata.

**(I) LE BASI METODOLOGICHE PER UNA CHEMIOTERAPIA ANTI-TUMORALE
MIRATA: IL SAGGIO DELL' "EXTREME DRUG RESISTANCE" (EDR) NEL
CARCINOMA OVARICO ED IN ALTRE NEOPLASIE**

Responsabile Scientifico: C. Peschle, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Centri partecipanti

Ugo Testa

Dipartimento di Ematologia, Oncologia e Medicina Molecolare
Istituto Superiore di Sanità – Roma

Sergio Pecorelli, Alessandro Santin
Dipartimento di Ostetricia e Ginecologia
Università di Brescia, Brescia

Francesco Cognetti, Carlo Sbiroli, Gianluigi Ferretti
Istituto Regina Elena, Roma

Giovanni Scambia
Dipartimento di Ostetricia e Ginecologia
Università Cattolica, Roma

Pierluigi Benedetti Panici, Roberto Angioli
Università La Sapienza, Roma

Sandro Pignata, Stefano Greggi
Dipartimento di Ostetricia e Ginecologia
Istituto per lo Studio e la Cura dei Tumori "Fondazione G. Pascale", Napoli

Emilio Piccione
Dipartimento di Ostetricia e Ginecologia
Università Tor Vergata, Roma

(I) Il “trial” clinico dell’EDRA nel carcinoma ovarico

Durante questo anno di attività sono state raccolte numerose biopsie da pazienti provenienti dai centri partecipanti al protocollo: Istituto Regina Elena, Università degli studi di Brescia, Università Cattolica del Sacro Cuore, Policlinico Universitario Campus Biomedico, Fondazione Pascale di Napoli che hanno permesso di meglio definire la metodologia di prelievo del campione ed i profili di chemioresistenza. L’analisi collegiale di questi dati e l’ulteriore approfondimento del protocollo di studio ha provocato la modifica del protocollo stesso e la stesura di alcune raccomandazioni relative ai campioni prelevati e la formulazione di due emendamenti.

Sono state eseguite diverse modifiche rispetto al protocollo iniziale:

La presenza di un platino-derivato insieme al farmaco selezionato sulla base del test è considerata obbligatoria, per assicurare il trattamento antineoplastico migliore ad ogni paziente reclutato. Sono stati aggiunti due farmaci supplementari nel braccio sperimentale: ciclofosfamide ed etoposide. Il dosaggio e i tempi di somministrazione di ogni doppietta (platino + farmaco test-selezionato) saranno come segue:

Cisplatino 75 mg/m² d 1 q 21 plus Paclitaxel 175 mg/m² d 1 q 21
Carboplatino AUC 6 d 1 q 21 plus Paclitaxel 175 mg/m² d 1 q 21
(du Bois A, JNCI 2003; GOG0182-ICON5)

Cisplatino 75 mg/m² d 1 q 21 plus Gemcitabina 1250 mg/m² d 1,8 q 21
Carboplatino AUC 6 d 8 q 21 plus Gemcitabina 1000mg/m² d 1,8 q 21
(Belpomme D, Gynecol Oncol 2003; GOG0182-ICON5)

Cisplatino 75 mg/m² d 1 q 21 plus Docetaxel 75 mg/m² d 1 q 21
Carboplatino AUC 5-6 d 1 q 21 plus Docetaxel 75 mg/m² d 1 q 21
(Dieras V, Cancer Chemother Pharmacol 2004; Pfisterer J, Gynecol Oncol 2004, Vasey PA, BJC 2001)

Cisplatino 60 mg/m² d 1 q 28 plus Doxorubicina Liposomiale 50 mg/m² d 2 q 28
Carboplatino AUC 5 d 1 q 21 plus Doxorubicina Liposomiale 30 mg/m² d 1 q 21
(Lyass O, Clin Cancer Res 2001; GOG0182-ICON5; MITO-2)

Cisplatino 75 mg/m² d 1 q 21 plus Cyclophosphamide 750 mg/m² d 1 q 21
Carboplatino AUC 5 d 1 q 21 plus Cyclophosphamide 750 mg/m² d 1 q 21
(Piccart MJ, JNCI 2000; Willemse PHB, Int J Gynecol Oncol 1992)

Cisplatino 100 mg/m² d 1 q 21 plus Etoposide 100 mg/m² d 1-3 q 21
Carboplatino AUC 5 (300 mg/m²) plus Etoposide 100 mg/m² d 1-3 q 21
(Pujol JL, JNCI 2001; Kosmidis PA, Semin Oncol 1994)

Cisplatino 50 mg/m² d 5 q 21 plus Topotecan 0.75 mg/m² d 1-5 q 21
Carboplatino AUC 5 d 3 q 21 plus Topotecan 1.25 mg/m² d 1-3 q 21
(Rowinsky EK, JCO 1996; GOG0182-ICON5)

Se il tumore risulterà estremamente resistente al platino, sarà scelto un singolo farmaco al quale il tumore mostrerà bassa resistenza. Se più di un farmaco mostrerà la stessa bassa resistenza, sarà selezionato il farmaco con il più alto tasso di risposta segnalato in letteratura.

L’aggiustamento statistico per interval debulking surgery è già menzionato nel protocollo (“...The sample size will be increased according to the number of patients who

eventually will undergo interval debulking surgery”, pagina 22). Il criterio di correzione statistica sarà applicato per tutte le altre variabili discusse:

a) malattia residua misurabile vs non misurabile (minimal vs gross residual disease), essendo l'enpoint principale dello studio il PFS a 24 mesi

b) inizio della chemioterapia precoce vs tardivo: nel vecchio protocollo è scritto tra le 2 e le 8 settimane e si è proposto di correggere utilizzando la dicitura “patients will have to undergo radical debulking surgery within 6 weeks of random assignment (6 settimane è riportato nello studio di du Bois ed Ozols; nello studio ICON3 è scritto “as soon as possibile after surgery”)

L'utilità del second-look laparoscopico è maggiormente stressata (leggi “will be strongly recommended at the end of chemotherapy”)

Se un paziente reclutato nel braccio sperimentale subirà la chirurgia d'intervallo, l'analisi del test di estrema resistenza sarà ripetuta ed il tumore cimentato nuovamente con un'altra doppietta di farmaci che comprendono un platino-derivato ed un farmaco test-selezionato.

Nei criteri di inclusione è stato aggiunto: “peritoneal carcinomatosis with epithelial cancer histology without the evidence of any other possible primary malignancy”

La parte statistica è stata cambiata in virtù di alcuni suggerimenti e delle modifiche nel disegno dello studio: il TTP a 12 mesi è stato modificato a 24 mesi. Il PFS calcolato a 12 mesi per Carboplatino-Taxolo varia dal 70% (ICON3, stadio I-IV, ma preponderante III, Carbo AUC 6 con GFR secondo Cockcroft) all' 80% (stadio IIB-IV, Ozols con Carbo AUC 7.5 e GFR secondo Jelliffe, du Bois con Carbo AUC 6 e GFR secondo Jelliffe e Paclitaxel 185 mg/m²). Tuttavia, nei tre studi lo stesso PFS a 24 mesi diventa 40% (International Collaborative Ovarian Neoplasm Group Paclitaxel plus carboplatin versus standard chemotherapy with either single-agent carboplatin or cyclophosphamide, doxorubicin, and cisplatin in women with ovarian cancer: the ICON3 randomised trial. *Lancet*. 2002 Aug 17;360(9332):505-15; du Bois A, Luck HJ, Meier W, Adams HP, Mobus V, Costa S, Bauknecht T, Richter B, Warm M, Schroder W, Olbricht S, Nitz U, Jackisch C, Emons G, Wagner U, Kuhn W, Pfisterer J; Arbeitsgemeinschaft Gynakologische Onkologie Ovarian Cancer Study Group. A randomized clinical trial of cisplatin/paclitaxel versus carboplatin/paclitaxel as first-line treatment of ovarian cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2003 Sep 3;95(17):1320-9; Ozols RF, Bundy BN, Greer BE, Fowler JM, Clarke-Pearson D, Burger RA, Mannel RS, DeGeest K, Hartenbach EM, Baergen R; Gynecologic Oncology Group. Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study. *J Clin Oncol*. 2003 Sep 1;21(17):3194-200).

D'altronde, nello studio di Loizzi et al recentemente pubblicato (Loizzi V, Chan JK, Osann K, Cappuccini F, Di Saia PJ, Berman ML. Survival outcomes in patients with recurrent ovarian cancer who were treated with chemoresistance assay-guided chemotherapy. *Am J Obstet Gynecol*. 2003 Nov;189(5):1301-7) in pazienti con carcinoma ovarico ricorrente platino-sensibile “...the 1-year progression-free survival was 68% for patients treated by EDRA-based therapy compared with 16% for patients chosen as control (0.0002 respectively). Tale differenza, nel setting di malattia in ripresa, risulta essere molto più ampia di quello scelto come significativa nel nostro disegno statistico.

Foglio informativo, consenso informato e schede raccolta dati sono state modificate in accordo al protocollo.

External Review Board of Pathologists: è stata proposta l'istituzione di un collegio dei patologi dei vari centri partecipanti, e l'aggiunta di un consulente esterno (Prof. Pratt, Barcellona) con il compito di effettuare un'ulteriore revisione istopatologica a campione

E' stata rilevata da tutti i partecipanti la necessità di un monitoraggio dei dati raccolti dai vari centri partecipanti. Il centro dati studi clinici dell'IRE che gestisce la

randomizzazione dei pazienti e la raccolta delle CRF offre la sua disponibilità ad effettuare tale attività.

E' in via di definizione una ulteriore stesura del protocollo che affronta la problematica della farmacovigilanza secondo la normativa vigente. In tale contesto è da incorporare anche il decreto ministeriale del 17.12.2004 che regola le sperimentazioni cliniche con sponsor no profit.

La partecipazione al protocollo è stata allargata a numerosi centri (vedi elenco allegato) alcuni dei quali hanno già ottenuto l'approvazione del proprio CE di riferimento e per altri dei quali siamo ancora in attesa.

In data 4 maggio 2005 è stata arruolata la prima paziente.

(II) Attività delle U.O.: rendiconto esemplificativo della U.O. di Brescia

Il carboplatino ed il paclitaxel sono i due farmaci dimostratisi più attivi in associazione nella chemioterapia di prima linea del carcinoma epiteliale dell'ovaio e in Italia sono registrati per tale indicazione.

La chemioterapia antitumorale con tali farmaci rappresenta lo standard per il trattamento medico del carcinoma ovarico. Tuttavia è stato dimostrato che circa il 25% delle pazienti sono resistenti a questa chemioterapia (resistenza ai farmaci immediata o sviluppata entro 6 mesi dalla fine del trattamento). Il test Extreme Drug Resistance (EDR) ha dimostrato di essere in grado di predire in vitro tale resistenza con il 99% di accuratezza.

L'obiettivo del presente studio è di dimostrare che il tempo alla progressione della malattia potrà essere migliorato utilizzando un trattamento antitumorale individualizzato in base ai risultati del test EDR rispetto alla chemioterapia standard. Inoltre l'impiego di questo test nella pratica clinica potrebbe in futuro evitare l'utilizzo di farmaci inefficaci, ottimizzando la terapia di salvataggio.

STATO DI AVANZAMENTO DELLO STUDIO

Tale protocollo di studio è stato approvato dal Dipartimento Materno Infantile e Tecnologie Biomediche dell'Università degli Studi di Brescia in data 28/04/04 e dal Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliera Spedali Civili di Brescia in data 17/06/04.

Dalla data dell'approvazione sono stati eseguiti prelievi di campioni di tessuto di carcinoma ovarico primitivo che sono stati analizzati presso il Laboratorio di riferimento dello Studio per la stima della percentuale di successo del test e dei profili di chemioresistenza al platino e al taxolo*. Tessuto neoplastico ovarico, oltre a tessuto ovarico prelevato da controlli sani in corso di intervento per altra patologia benigna, è stato inoltre conservato ed analizzato al fine di identificare nuovi marcatori diagnostici e prognostici del carcinoma ovarico mediante studio dei profili di espressione genica utilizzando la tecnologia dei microarrays. Da questo studio sono stati evidenziati geni che differenziano in modo significativo le neoplasie ovariche sierose papillifere (la variante più comune) dai tessuti epiteliali ovarici sani. Alcuni di essi, grazie alla loro elevata sensibilità e specificità, potrebbero rappresentare nuovi biomarcatori dotati di grande potenziale diagnostico per lo screening precoce e la terapia delle pazienti con cancro dell'ovaio sieroso papillifero. I geni di maggior interesse sono stati validati dal punto di vista trascrizionale tramite la Quantitative Real Time PCR e dal punto di vista proteico con colorazione immunostochimica. Sono ora in corso studi che, sulla base di questi promettenti risultati, estenderanno la casistica anche agli altri istotipi tumorali ovarici e valuteranno l'eventuale secrezione dei suddetti antigeni tumorali nel siero delle pazienti, per verificarne la validità come biomarcatori diagnostici e prognostici.

Nel corso dell'anno 2004 il nostro Centro ha inoltre partecipato a Riunioni Operative tenutesi presso l'Istituto Superiore di Sanità per l'aggiornamento scientifico del protocollo e dell'assetto organizzativo dello studio:

Durante tali incontri sono state apportate modifiche al braccio sperimentale (da chemioterapia "single agent" sulla base dei risultati EDR a chemioterapia "multi agent" con platino + chemioterapico selezionato sulla base del test EDR) sulla base dell'evidenza che l'impiego del platino in pazienti affette da carcinoma ovarico è oggi mandatorio, ad eccezione dei casi in cui la neoplasia risulti "estremamente resistente" al platino sulla base dell'EDR; sono stati aggiunti due farmaci nel braccio sperimentale: ciclofosfamide e etoposide; è stato inoltre definito il timing dell'esecuzione del test EDR, identificando nella chirurgia d'intervallo un momento indispensabile nell'iter terapeutico di pazienti non ottimamente citoridotte in corso di intervento primario durante il quale è stata posta indicazione ad un eventuale secondo prelievo di tessuto per test EDR. E' infine stata inclusa la categoria IDR (Intermediate Drug Resistance) in quella LDR (Low Drug Resistance), per cui la resistenza ai farmaci verrà definita in 2 gruppi anzichè nei 3 precedentemente stabiliti: EDR e non-EDR (IDR + LDR)

*I dati clinici dei casi inviati sono di seguito riportati:

1. Data di nascita: 13/07/20
Età alla diagnosi: 83
22/07/04 ricovero per tumescenza pelvica + k renale
CA 125 preoperatorio = neg
17/02/04 chirurgia primaria TR=?
diagnosi: k ovaio stadio IIIA G3 + k rene cell chiare G2-3
07/04/04-19/08/04 Chemioterapia di prima linea: Carboplatino 6 cicli
risposta a terapia primaria: progressione
27/09/04: DID
2. Data di nascita: 07/09/59
Età alla diagnosi: 44
03-03-2004 ricovero per algie pelviche, riscontro ecografico di tumescenza pelvica in paziente già isterectomizzata per patologia benigna
CA 125 preoperatorio =94, CA19.9 preoperat =57, CA 15.3 preoperat =91
05-03-2004 chirurgia primaria TR<0,5 cm
diagnosi: adenocarcinoma a cellule chiare stadio IIIC
CA 125 postoperatorio =64, CA19.9 postoperat=19 CA 15.3 postoperat=32
Chemioterapia adiuvante in corso (completati 4 cicli): Taxolo 175 mg/mq - Carboplatino AUC 5
3. Data di nascita: 19/04/43
Età alla diagnosi: 66
05-03-2004 ricovero per riscontro ecografica di tumescenza abdomino-pelvica
CA125 preoperatorio = 288, CA15.3 preoperatorio= 33
08-03-2004 chirurgia primaria, TR=0
diagnosi: tumore sierosopapillare borderline stadio IIIA per citologia positiva
CA125 postoperatorio = 93
Follow up
4. Data di nascita: 25/12/1965
Età alla diagnosi: 34
25-09-2000 ricovero per algie addominali, riscontro ecografico di tumescenza pelvica
CA 125 preoperatorio =2326 CA19.9 preoperatorio =1134
03-10-2000 chirurgia primaria TR<0,5 cm

diagnosi: tumore epiteliale ovarico borderline a componente mista mucinosa e a cellule chiare stadio III

CA 125 postoperatorio =87, CA19.9 postoperatorio =53

Chemioterapia adiuvante 5 cicli: Taxolo 175 mg/mq - Carboplatino AUC 5

01-02-2001 Second Look LPT

Riposta patologica: completa

04-07-2002 recidiva pelvica (CA 125=2329)

trattamento recidiva: Chemioterapia 9 cicli: Taxolo 175 mg/mq - Carboplatino AUC 5

Ottobre 2003 rialzo CA125 (73) 379

Dicembre 2003: seconda recidiva: pelvica e lomboaortica

terapia seconda recidiva: Chemioterapia 3 cicli: Carboplatino-Gemzar

risposta: malattia stabile

15/03/04 intervento per EDRA

Chemioterapia successiva a EDR: Caelix - Gemzar

5. Data di nascita: 09/11/48

Età alla diagnosi: 55

11/03/04 ricovero per carcinoma ovarico

CA 125 preoperatorio >10.000

16/03/04 chirurgia primaria (TAHBSO), TR<1 cm

diagnosi: k ovaio sieroso papillare G3

31/01/04-15/10/04 Chemioterapia di prima linea: Taxolo Carboplatino 9 cicli (8 pre, 1 post-second-look)

28/09/04 second look LPS

risposta patologica: completa

6. Data di nascita: 12/05/67

Età alla diagnosi: 32

06-12-2002 chirurgia primaria (presso altra sede): enucleazione cisti ovarica

Diagnosi: riscontro occasionale di adenocarcinoma ovarico a cellule chiare, staging incompleto

CA 125 preoperatorio = 38

Chemioterapia adiuvante: Carboplatino 6 cicli

CA 125 a fine chemioterapia= negativo

07-2002 LPT (presso altra sede): annessiectomia sinistra, omentectomia infracolica, linfadenectomia pelvica sinistra e lomboaortica, appendicectomia, biopsie peritoneali multiple

(Esame istologico: carcinoma a cellule chiare associata a cisti endometriosica G3)

diagnosi: carcinoma a cellule chiare Stadio IIIA TR=0

Chemioterapia adiuvante: Taxolo 6 cicli

12-2003 Second Look LPS

risposta patologica: progressione

30-01-2004 chemioterapia di seconda linea: doxorubicina + ET743 (1 ciclo), interrotta per tossicità epatica

17-03-2004 open-LPS per EDR (Spedali Civili)

Chemioterapia terza linea:: Taxolo - Carboplatino 2 cicli

Risposta: progressione

27-05-04 dimissione in condizioni preterminali

7. Data di nascita: 21/02/59

Età alla diagnosi: 45

13-03-2004 (Spedali Civili) ricovero per algie addominali, distensione addominale e riscontro di ascite di ndd + massa intraepatica ipervascolarizzata di 3,5 cm all'eco addome

CA 125 preoperatorio =450 CA15.3 preoperatorio =264

23-03-2004 chirurgia primaria TR=5-10 cm

Diagnosi: cistoadenocarcinoma sieroso-papillifero Stadio VI (epatico) G3

CA 125 postoperatorio =175 CA15.3 postoperatorio =135

Chemioterapia adiuvante: Taxolo Carboplatino

Negativizzazione del CA125 dopo il 2° ciclo di terapia

8. Data di nascita: 08/11/41

Età alla diagnosi: 59

04/2000 diagnosi di k ovaio

04/2000 chirurgia primaria (TAHBSO), TR?

diagnosi: k ovaio sieroso G3

poi Chemioterapia di prima linea: TAxolo Platino 6 cicli

10/2000 second look LPT, TR=0,5 cm

poi Chemioterapia di seconda linea: PAC

07/2002 LPT esplorativa TR<1 cm

poi Chemioterapia di terza linea: ciclofosfamide

17/12/03 LPT TR macro

poi Chemioterapia di quarta linea: vinorelbina

06/04/04 LPS prelievo per EDR

03/05/04-11/02/05 carbo gem 7 cicli: regressione completa alla TC

14/01/05-20/05/05 gem 5 cicli (20/05/05: 1° gg 5° ciclo)

9. Data di nascita: 31/10/58

Età alla diagnosi: 45

05-04-2004 (Spedali Civili) ricovero per riscontro ecografico di tumescenza pelvica e localizzazioni secondarie epatiche in paziente con pregressa ovariectomia destra per patologia benigna

CA 125 preoperatorio =2843, CA15.3 preoperatorio=169

14-04-2004 chirurgia primaria TR<1 cm

Diagnosi: carcinoma sieroso-papillare Stadio IV (epatico) G3

CA 125 postoperatorio =1137

Chemioterapia adiuvante: Taxolo Carboplatino

10. Data di nascita: 04/03/48

Età alla diagnosi: 56

08-06-2004 ricovero per tumescenza pelvica

CA 125 preoperatorio = 1537

16/06/04 chirurgia primaria, TR=5-10 cm

08/07/04-07/12/04 Chemioterapia di prima linea: Taxolo Carboplatino 6 cicli

negativizzazione ca125: dopo 2° ciclo

29/09/04 chirurgia d'intervallo, TR=0

risposta a terapia primaria: parziale macroscopica

30/12/04: dimissione dopo ultimo ciclo CT

11. Data di nascita: 25/03/31

Età alla diagnosi: 72

22/01/04 ricovero per tumescenza pelvica

CA 125 preoperatorio = 1094

02/02/04 chirurgia primaria, TR=5-10 cm
diagnosi: k ovaio sieroso papillifero stadio IIIC G3
13/02/04-28/05/04 Chemioterapia di prima linea: Taxolo Carboplatino 6 cicli
negativizzazione ca125: dopo 3° ciclo
05/07/04 second look TR=0 (invio x EDR)
risposta a terapia primaria: no change
25/08/04-21/02/05 chemioterapia seconda linea topotecan 9 cicli
risposta a chemioterapia seconda linea: progressione
da 21/03/05 chemioterapia terza linea VP16 per os
16/05/05 dimissione dopo 3° ciclo VP16, in lenta progressione

(III) Il saggio in vitro dell'EDR tumorale: studi biologici

Durante l'anno 2004 e l'inizio del 2005 sono state processate 211 neoplasie ginecologiche femminili (148 carcinomi dell'ovaio, 44 carcinomi della cervice uterina, 10 carcinomi endometriali e 9 carcinomi della vulva) al fine di allestire un test in vitro di chemioresistenza/chemiosensibilità. Il test di chemioresistenza in vitro è stato realizzato secondo la metodologia dell'Extreme Drug Resistance Assay (EDRA).

Prendendo in considerazione l'intera casistica di carcinomi dell'ovaio e della cervice uterina è stato possibile allestire un test EDRA utilizzabile a fini clinici nel 54% dei casi di carcinoma dell'ovaio e nel 35% dei casi di carcinoma della cervice uterina. L'insuccesso nella realizzazione del test EDRA è stata dovuta in larga misura alla scarsa disponibilità di materiale biotico tumorale (< 1 gr di tessuto tumorale). Infatti, se vengono analizzati solo i casi per i quali era disponibile almeno 1 gr di tessuto biotico tumorale le percentuali di successo salgono ad oltre l'80% sia per il carcinoma ovarico che per quello della cervice uterina.

Pertanto, nell'ambito del protocollo clinico che è stato intrapreso a partire dall'01/05/2005 è stato inserito fra i criteri clinici di eleggibilità, la disponibilità di materiale biotico tumorale uguale o superiore ad 1 gr.

L'analisi del profilo di chemioresistenza in vitro ha mostrato che nel carcinoma dell'ovaio viene riscontrata EDR (Extreme Drug Resistance) ai derivati del platino nel 4 ed 8% dei casi (rispettivamente per il cisplatino ed il carboplatino) ed ai derivati del taxolo nel 20-33% dei casi (rispettivamente per il taxotere e per il paclitaxolo). Nel carcinoma della cervice uterina viene riscontrata EDR per il cisplatino nel 3% dei casi e per il taxolo nel 20% dei casi. Queste osservazioni hanno avuto delle importanti ricadute per quanto ha riguardato le opzioni terapeutiche prescelte nell'ambito del protocollo clinico di fase III che è basato sull'apporto laboratoristico fornito dal test EDRA.

In parallelo sono state intraprese delle attività di ricerca aventi come obiettivo precipuo di valutare la sensibilità di cellule di carcinoma ovarico ad un inibitore del proteosoma, il VELCADE, di recente introdotto in terapia oncologica. Questo inibitore, in particolare quando aggiunto insieme al ligando di morte cellulare TRAIL, è in grado di indurre morte cellulare, anche in cellule che presentano un elevato profilo di chemioresistenza.

E' stato inoltre intrapreso uno screening di analisi del profilo di attivazione dei recettori tirosinchinasici nel carcinoma ovarico. L'assay utilizzato consente di studiare lo stato di fosforilazione dei vari recettori tirosinchinasici. I casi finora studiati hanno indicato un profilo di attivazione riproducibile che implica costantemente la presenza del recettore del fattore di crescita epidermico e dell'insulina costitutivamente attivati in tutti i casi sinora analizzati. Inoltre risultano frequentemente attivati in maniera costitutiva anche i recettori beta del PDGF e il recettore ERB4.

Pubblicazioni

Testa U., Pasquini L., Petrucci E. In vitro assays of tumor chemo-sensitivity and chemoresistance. *Drugs of the Future*, 29: 1035-1042, 2004

Budget**I° anno**

Finanziamento Totale	€ 700.000 *
-----------------------------	--------------------

Questo budget è stato utilizzato per l'arruolamento di personale (ricercatori e tecnici), per l'acquisto di materiale di consumo (in particolare per il test EDR), per le apparecchiature (potenziamento delle attrezzature per il test EDR), per le missioni (incluse le missioni da e per gli USA) ed altre spese (convegni, assistenza ed analisi computeristica, ecc.).

Il budget è stato suddiviso tra le diverse U.O. partecipanti, indicate a pag. 5.

II° anno

Finanziamento totale	€ 810.000 **
-----------------------------	---------------------

Questo budget verrà utilizzato per l'arruolamento di personale (ricercatori e tecnici), per l'acquisto di materiale di consumo (in particolare per il test EDR), per le apparecchiature, per le missioni (incluse le missioni da e per gli USA) ed altre spese (convegni, assistenza ed analisi computeristica, ecc.).

Il budget verrà suddiviso tra le diverse U.O. indicate a pag. 5, coerentemente al primo anno di attività

III° anno

Il budget del III° anno verrà eventualmente confermato, dopo valutazione ed approvazione del "Progress Report" sui risultati ottenuti nei due anni precedenti.

* € 800.000 - € 100.000 (slittati al II° anno)

** € 710.000 + € 100.000 (residuo del I° anno)

**(II) GENETICA MOLECOLARE DELLA FARMACORESISTENZA NEOPLASTICA E
DELL'ONCOGENESI**

Responsabili Scientifici: C.M. Croce, Ohio University, Columbus, USA
C. Peschle, G. Marziali, F. Facchiano, Istituto
Superiore di Sanità

U.O. Associate: A.D. Santin, Università di Brescia/University of
Arkansas, Little Rock, USA
A. Vecchione, Università La Sapienza, Roma