



FONDAZIONE PIEMONTESE
PER LA RICERCA SUL CANCRO
ONLUS

Relazione Descrittiva

Candiolo, 25 gennaio 2019

PROGETTO: "APPROCCIO DI RICERCA DIAGNOSTICO E TERAPEUTICO AL PAZIENTE CON TUMORI DEL COLON RETTO E DEL DISTRETTO CERVICO-FACCIALE" (ARDITE)

CONTESTO

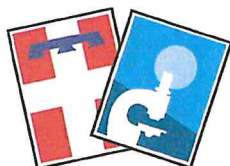
TASK 1 - BIOHENEC. La prognosi complessiva dei pazienti con carcinomi squamosi del distretto cervico facciale (HNSCC) rimane modesta, con tassi di sopravvivenza globale a 5 anni di circa il 50%. In contrasto con molti altri tipi di tumore, le metastasi a distanza sono raramente individuate alla diagnosi, ma in virtù di un migliore controllo terapeutico locale l'incidenza della diffusione sistemica è in rapido aumento. I pazienti con malattia ricorrente o metastatica hanno un'aspettativa di vita sfavorevole, con una sopravvivenza mediana di 6-10 mesi. La chemioterapia sistemica rimane l'unica opzione di trattamento efficace, ma è associata a tassi significativi di tossicità in pazienti che, tra l'altro, hanno un'alta prevalenza di comorbidità. Perciò, diventa necessario identificare e sperimentare opzioni di trattamento aggiuntive, da integrare con gli strumenti di trattamento attualmente disponibili, che siano potenzialmente in grado di migliorare l'aspettativa di vita dei pazienti e mostrare un profilo di tossicità diverso dagli agenti citotossici. Il bersaglio molecolare più validato in HNSCC è EGFR. L'anticorpo monoclonale cetuximab (Erbix®) riconosce il dominio extracellulare di EGFR ed è associato a una maggiore risposta e sopravvivenza dopo la chemioterapia con platino nella malattia metastatica o in recidiva e dopo radioterapia nella malattia localmente avanzata. L'EGFR è abbondantemente espresso nel carcinoma squamoso del distretto cervico facciale, e l'espressione è associata ad esiti peggiori nei pazienti che subiscono chirurgia potenzialmente curativa o che ricevono radiazioni. L'efficacia della terapia mirata contro EGFR è molto alta nei casi responsivi ma limitata a un sottogruppo di pazienti (circa il 15%), dei quali non sono note le caratteristiche molecolari. L'identificazione dei meccanismi di resistenza all'inibizione di EGFR potrebbe quindi portare a strategie per superare la stessa e rappresenterebbe un'importante fonte di nuovi bersagli per il trattamento dell'HNSCC.



Indirizzo Strada Provinciale 142, Km 3.95, 10060 Candiolo (TO) **T** 011.9933.380 - **F** 011.9933.389 **c/c Postale** 410100 - **C. F.** 97519070011 - **UniCredit**
IBAN IT 64 T 02008 01154 000008780163 - **Banca Prossima** **IBAN** IT 22 H 03359 01600 100000117256 - **web** www.fprconlus.it - **e-mail** fprc@fprconlus.it

CONSIGLIO DIRETTIVO: **Presidente** Allegra Agnelli. **Vice Presidenti** Carlo Acutis, Maria Vaccari Scassa. **Consiglieri** Claudio Artusi, Alberto Bardelli, Marco Boglione, Bruno Ceretto, Maria Ines Colnaghi, Paolo Maria Comoglio, Michele Coppola, Felicino Debernardi, Gianluca Ferrero, Giuseppe Gilardi, Maria Elena Giraudo Rayneri, Eugenio Lancellotta, Lodovico Passerin d'Entrèves, Silvio Saffirio, Piero Sierra. **Direttore Scientifico dell'Istituto di Candiolo** Anna Sapino. **REVISORI DEI CONTI:** **Presidente** Giacomo Zunino. **Componenti** Mario Boidi, Lionello Jona Celesia.

Riconoscimento della Regione Piemonte: D.G.R. 22/07/1986 n° 3-6673 - Iscrizione anagrafe Onlus prot. n. 9882440 del 19/06/1998



FONDAZIONE PIEMONTESE
PER LA RICERCA SUL CANCRO
ONLUS

TASK 2 – REDCLOUD. Il rilevamento del DNA tumorale circolante (ctDNA) nel plasma è emerso come strumento innovativo ed altamente efficace per la genotipizzazione ed il monitoraggio dei tumori del cancro coloretale. Studi preliminari hanno dimostrato che il ctDNA prelevato dopo il completamento delle terapie può identificare i pazienti CRC con evidenza di malattia residua. Negli studi diagnostici osservazionali “*proof-of-concept*”, l'identificazione del ctDNA si è dimostrata efficace nell'identificare i pazienti a rischio di ricaduta rispetto ai metodi diagnostici standard. Questi dati mostrano costantemente che il ctDNA ha un valore predittivo positivo notevolmente elevato (*i.e.*, quasi tutti i pazienti con test ctDNA positivo sviluppano infine recidive cliniche). Studi che valutano campioni seriali (raccolti a diversi tempi di diagnosi e follow up) suggeriscono inoltre che, sebbene i livelli di ctDNA pre-trattamento non siano prognostici, il campionamento seriale in fase adiuvante può migliorare la sensibilità complessiva. Sulla base di queste ipotesi, abbiamo disegnato un trial clinico osservazionale (denominato REDCLOUD) per stabilire se la malattia residua minima post-chirurgica (MRD) possa essere misurata nel plasma dopo chemioterapia neo-/adiuvante, chirurgia e/o durante il periodo di sorveglianza in pazienti con mCRC in stadio IV resecato. Il progetto sfrutterà le tecnologie chirurgiche e di analisi del ctDNA più avanzate (*i.e.* chirurgia robotica; tecniche di NGS, etc) che sono state implementate dall'Istituto di Candiolo-FPO.

TASK 3 – CLINROBOTIC. Per l'utilizzo delle piattaforme di chirurgia robotica è necessaria una formazione specifica al fine di acquisire la conoscenza sul corretto funzionamento dello strumento e di apprendimento delle tecniche chirurgiche. In un report dell'AGENAS 2017 gli autori evidenziano, l'opportunità di stabilire “criteri oggettivi e misurabili per valutare il livello di expertise raggiunto e la performance, che non siano limitati alla durata dell'intervento e all'assenza di errori, ma prevedano altri parametri quantitativi che permettano di monitorare e quantificare la curva di apprendimento oltre che di sancire l'acquisizione della completa autonomia chirurgica”. Altresì carenti sono i dati sull'uso della chirurgia robotica transorale dopo trattamenti neo-adiuvanti dei carcinomi dell'oro-faringe. In analogia non sono presenti studi che definiscano quali sono i parametri clinici e di imaging radiologico (pre-operatori) e le modalità di analisi anatomo-patologiche (post-operatorie) più idonee a garantire la migliore definizione della completezza della resezione chirurgica con robot. Inoltre, la chirurgia robotica con il sistema Da Vinci®, ha apportato diversi vantaggi in termini di precisione e ha reso più standardizzabili e riproducibili le tecniche di asportazione linfonodale. Una delle innovazioni di maggior impatto correlata al sistema Da Vinci è stata il Firefly Imaging System™, un sistema ottico innovativo che, per mezzo di una fonte luminosa con lunghezza d'onda vicina agli infrarossi, permette, grazie ad appositi filtri ed utilizzando il colorante verde d'indocianina (ICG), di eseguire una chirurgia sotto guida “a fluorescenza”. La peculiarità di tale colorante è di identificare i distretti linfatici, se iniettato il giorno prima in sede peritumorale.



FONDAZIONE PIEMONTESE
PER LA RICERCA SUL CANCRO
ONLUS

IPOTESI

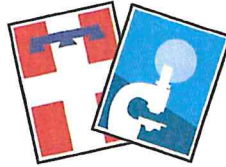
- BIOHENEC si fonda sull'ipotesi che la valutazione sistematica della sensibilità/resistenza al cetuximab in un'ampia popolazione di PDX, associata a una estesa caratterizzazione molecolare dei campioni impiantati, possa generare delle correlazioni genotipo-fenotipo-risposta con cui migliorare la stratificazione dei pazienti e, potenzialmente, offrire nuove opportunità terapeutiche per i soggetti cetuximab-resistenti.
- REDCLOUD si basa sull'ipotesi che in pazienti mCRC resecati, la malattia minima residua post-chirurgica (MRD) dopo chemioterapia neo-/adiuvante, chirurgia e/o durante il periodo di follow-up possa essere misurata nel plasma con la biopsia liquida.
- CLINROBOTIC tre ipotesi sono alla base di questo task: (i) solo utilizzando parametri misurabili e riproducibili è possibile valutare in modo accurato l'adeguatezza della formazione degli operatori per le procedure di chirurgia robotica. (ii) L'applicazione della chirurgia robotica transorale nella patologia del distretto cervico- facciale programmata sulla base di parametri clinici e morfo-funzionali potrebbe essere una frontiera della ricerca clinica, offrendo la possibilità di integrare le nuove tecniche chirurgiche a studi avanzati sulla terapia neo-adiuvante. (iii) La procedura di linfadenectomia con chirurgia robotica dei carcinomi coloretali associata a metodi di rivelamento ottico dei linfonodi potrebbe garantire una stadiazione più corretta dei pazienti.

FINALITÀ

TASK 1 - Il progetto BIOHENEC ha due scopi principali: (i) identificare e validare biomarcatori di sensibilità e resistenza al cetuximab negli HNSCC per migliorare la selezione molecolare dei pazienti, arricchendo i potenziali *responder* ed escludendo i soggetti con alta probabilità di resistenza; (ii) identificare nuovi bersagli terapeutici per i pazienti con resistenza al cetuximab, in modo da incrementare le opportunità di trattamento.

TASK 2 – REDCLOUD ha come obiettivo principale convalidare l'analisi ctDNA per la diagnosi precoce di recidive in pazienti mCRC trattati con chirurgia mediante la valutazione longitudinale di una firma molecolare personalizzata. Obiettivi secondari sono (i) la valutazione longitudinale della dinamica del carico tumorale mediante analisi quantitativa del ctDNA. (ii) La fattibilità clinica del monitoraggio in tempo reale dell'evoluzione clonale nei pazienti recidivanti con firma molecolare personalizzata. (iii) La valutazione della possibilità di rilevare la malattia minima residua (MRD) post-chirurgica utilizzando la firma molecolare individualizzata attraverso l'analisi del ctDNA.

TASK 3 – CLINROBOTIC ha 3 scopi: (i) la definizione di parametri misurabili per la formazione degli operatori nella chirurgia robotica, per successiva applicazione nella pratica clinica a garanzia dell'operatore e dei pazienti; (ii) la definizione dei parametri morfo-funzionali idonei all'approccio della chirurgia robotica transorale di carcinomi del distretto cervico-cefalico (anche nei casi di pazienti trattati con terapia neo-adiuvante pre- operatoria) per limitare gli esiti estetici legati alla chirurgia tradizionale e garantire una chirurgia completa ed efficace soprattutto in pazienti sottoposti a terapia neoadiuvante; (iii) Il miglioramento del *retrieval* chirurgico dei linfonodi drenati dai carcinomi del colon-retto per garantire una stadiazione precisa dei pazienti e guidare opportunamente la terapia adiuvante.



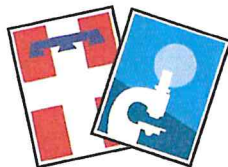
FONDAZIONE PIEMONTESE
PER LA RICERCA SUL CANCRO
ONLUS

STRUTTURA DEL PROGETTO

- BIOHENEC è un progetto di ricerca traslazionale monocentrico sui carcinomi squamosi del distretto cervico facciale. Il progetto ha come base sperimentale di partenza un'ampia collezione di PDX ($n = 74$), che negli ultimi anni sono stati annotati per risposta al cetuximab. In coerenza con la realtà clinica, abbiamo osservato una percentuale di regressioni di circa il 15%, un tasso di stabilizzazioni del 44%, e progressioni franche nel 41% dei casi. La struttura di BIOHENEC prevede i seguenti step: (i) stratificare sull'annotazione di risposta già disponibile una serie di profili molecolari multi-dimensionali (analisi mutazionale e genomica, espressione genica, metilomica), in modo da estrarre tratti biologici che associano con la sensibilità o la resistenza degli HNSCC al cetuximab. (ii) Identificati i correlati di resistenza, valuteremo una serie di opzioni terapeutiche per bersagliare farmacologicamente i determinanti di resistenza nel contesto dei PDX. Il *training set* attualmente a disposizione sarà integrato da un *validation set* prospettico, che sarà rappresentato da nuovi campioni chirurgici provenienti dall'Unità di Chirurgia ORL (vedi progetto CLINROBOTIC). (iii) La caratterizzazione clinico-patologica dei campioni (sia quelli esistenti sia quelli in arrivo) sarà effettuata dall'Anatomia Patologica. (iv) Esploreremo le caratteristiche molecolari della malattia residua nei modelli contraddistinti da alta sensibilità al cetuximab in modo da migliorare ulteriormente la risposta con terapie combinatoriali atte a eradicare la popolazione residuale di cellule cancerose persistenti. Il progetto si prefigge quindi: Analisi molecolare multi-dimensionale su campioni retrospettivi → Correlazioni genotipo-fenotipo-risposta. → Allestimento di "xenotrial" con nuove terapie. → validazione dei meccanismi putativi di resistenza, studiandone il potenziale quali bersagli terapeutici utili. Le tecnologie usate saranno: Immunocitochimica su TMA; Ibridizzazione in situ per ricerca HPV, analisi di NGS, analisi di espressione genica con Nanostring (documento esteso disponibile presso Direzione Scientifica FPO-IRCCS).

- REDCLOUD è uno studio osservazionale, prospettico, multicentrico di pazienti con CRC in stadio IV resecabile in cui si segue, longitudinalmente, attraverso la biopsia liquida una firma molecolare personalizzata del tumore nel sangue. A tale fine si eseguiranno analisi esomiche basate su NGS, o eseguendo pannelli NGS personalizzati che includono preferibilmente i geni elencati nel Candiolo Gene Signature Panel. Nel rispetto della pratica clinica, le procedure di partecipazione allo studio prevedono, dopo la firma del consenso informato, la raccolta di campioni di sangue sempre in occasione di prelievi di routine normalmente previsti dal follow-up del paziente. La raccolta dei dati clinici e la compilazione delle CRF non richiederà l'esecuzione di esami aggiuntivi. I pazienti con biopsia liquida (LB) positiva alla linea di base saranno divisi in due gruppi: MRD+ (quelli con LB positivo dopo l'intervento chirurgico) e MRD- (quelli con LB negativo dopo l'intervento). Sessantadue pazienti MRD+ e 79 pazienti MRD- (per un totale di 141) dovrebbero essere arruolati. Sono stati definiti i criteri di inclusione ed esclusione nel protocollo da presentare al comitato etico (documento esteso disponibile presso Direzione Scientifica FPO-IRCCS).

- CLINROBOTIC è uno studio multifunzionale che prevede:
(i) La formazione alla chirurgia robotica, attraverso diverse fasi: identificazione di partner competenti in corsi di formazione per la chirurgia robotica e istruzione di chirurghi e infermieri dell'istituto → definizione dei parametri attitudinali e di performance e dei modelli di



FONDAZIONE PIEMONTESE
PER LA RICERCA SUL CANCRO
ONLUS

misurazione degli stessi → valutazione dell'impatto delle tecniche di chirurgia robotica sugli operatori → definizione degli score minimi per una formazione ottimale → corsi peer to peer per divulgazione intra-istituzionale della formazione.

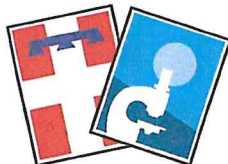
(ii) La costituzione di un gruppo multidisciplinare (chirurgo, radiologo, anatomo-patologo, oncologo e radioterapista) dedicato alla chirurgia transorale dei carcinomi del *distretto cervico-facciale* che dovrà definire i parametri morfo-funzionali idonei all'approccio a tale chirurgia robotica nei carcinomi del distretto cervico facciale.

(iii) Studi prospettici per l'applicazione della chirurgia robotica transorale in pazienti con tumori del distretto facciale sottoposti alla chemioterapia neo-adiuvante. I campioni derivati saranno la base per analisi del profilo immunitario combinato, su sangue e sul tumore, del paziente e i risultati saranno correlati alla risposta al trattamento. I campioni chirurgici saranno utilizzati per il progetto BIOHENEC di identificazione e validazione di nuovi biomarcatori di risposta terapeutica e bersagli molecolari alternativi nei tumori testa-collo. I risultati di questi test, integrati con i risultati di analisi ematologiche tradizionali e di analisi istopatologiche/immunofenotipiche su tessuti e i dati di imaging, potranno rappresentare un'importante banca dati dalla quale creare nuovi algoritmi applicabili nella diagnosi iniziale del tumore e nel follow up della malattia.

(iii) Uno studio prospettico osservazionale monocentrico nei pazienti affetti da *carcinomi coloretali* sull'impiego della chirurgia robotica associata a linfadenectomia guidata da fluorescenza tramite verde d'indocianina (Studio GREENLIGHT) (Codice Studio: 016-Fpo18). Sono previsti principalmente 3 tipi di intervento chirurgico: emicolectomia destra, emicolectomia sinistra e resezione anteriore di retto; ciascun intervento include la linfadenectomia. Verrà utilizzato il robot Da Vinci Xi®, Intuitive, Sunnyvale. Per la visualizzazione ad infrarossi (near infrared, NIR) verrà utilizzato il sistema per fluorescenza Firefly™ connesso al Da Vinci. Il giorno prima dell'intervento il paziente sarà sottoposto, come da pratica clinica, a retto/colonscopia in dipendenza dalla distanza della lesione dal margine anale, con iniezione peritumorale di (Indocianina). I linfonodi identificati con il colorante al di fuori dei reperi anatomici normalmente definiti saranno esaminati in Anatomia Patologica separatamente.

RISULTATI ATTESI

- BIOHENEC. Il valore aggiunto di questo progetto è di combinare il trattamento terapeutico e il monitoraggio dinamico della risposta "pseudoclinica" con la composizione molecolare dei singoli tumori. Comprendere l'adattamento alle terapie anti-EGFR negli HNSCC implica esaminare con tempistiche successive le conseguenze funzionali e genetiche dell'inibizione del bersaglio durante il trattamento. Noi useremo la nostra risorsa di PDX che ci potrà offrire i) il monitoraggio longitudinale degli effetti del cetuximab in diversi PDX di HNSCC sensibili all'anticorpo nel corso della terapia; ii) l'identificazione di tratti fenotipici, funzionali e genetici influenzati dal cetuximab durante la risposta al tumore; iii) l'esplorazione di tali tratti come determinanti dell'adattamento/resistenza alla terapia mediante intervento farmacologico *in vivo*; iv) la validazione meccanicistica dei risultati *in vivo* mediante studi di *gain of function* e *loss of function in vitro*.



FONDAZIONE PIEMONTESE
PER LA RICERCA SUL CANCRO
ONLUS

- REDCLOUD, stabilire la fattibilità di un'analisi del sangue universale altamente sensibile e specifica nella pratica clinica, migliorerà il monitoraggio della malattia, evitando la convalida dei dati radiologici e riducendo i costi e l'invasività per i pazienti. Questa tecnica innovativa e non invasiva permetterà anche aggiustamenti precoci del trattamento di MRD+. L'analisi combinata di marcatori genetici ed epigenetici in campioni di biopsia liquida post-chirurgica, così come la valutazione di profili "omici" multidimensionali in mCRC resecati, insieme alle note caratteristiche istopatologiche prognostiche potrebbero potenzialmente riprogettare un nomogramma per calcolare il rischio di recidiva dopo l'intervento.
- CLINROBOTIC, per ciascuno degli ambiti di questo task sulla chirurgia robotica si intende raggiungere: con *la formazione*, l'affidabilità delle procedure attraverso una modalità di ricerca clinica-gestionale che garantirà la creazione di parametri misurabili e riproducibili da applicare nella pratica clinica. Con *la messa a punto di nuovi approcci mini-invasivi di chirurgia robotica associati alla terapia neo-adiuvante* nella patologia oncologica del distretto cervico cefalico, si prevede di migliorare gli effetti estetici e funzionali dell'intervento con conseguente miglioramento della qualità di vita del paziente e nel contempo aprire nuovi filoni di ricerca sulla terapia neoadiuvante. *La linfadenectomia robotica guidata da marcatori fluorescenti* nel carcinoma del colon retto potrebbe fornire una più precisa stadiazione dei pazienti e quindi un miglioramento dell'inquadramento prognostico e della successiva terapia.

Il Direttore
(Gianmarco Sala)



Ministero della Salute – Direzione Generale della Ricerca Scientifica e Tecnologica

Rendiconto di assegnazione risorse 5 per mille ANNO 2016 Contributo percepito € 9.014.287,43

Enti della Ricerca Sanitaria

ENTE*: FONDAZIONE PIEMONTESE PER LA RICERCA SUL CANCRO ONLUS

Num. Prog.	Titolo del progetto	Fondi 5 per mille assegnati al progetto	Costo complessivo del progetto	Data indicativa di inizio progetto	Durata prevista
1	Approccio di Ricerca Diagnostico e TERAPEUTICO al paziente con tumori del colon retto e del distretto cervico-facciale (ARDITE)	€ 9.014.287,43	€ 9.014.287,43	01/02/2019	60 mesi
2					
3					
4					
5					
6					
.....					

Data 25 gennaio 2019

Il Legale Rappresentante

(Gianmarco Sala)

Si autorizza al trattamento dei dati ai sensi del d.lgs. 196/2003

Il Legale Rappresentante

(Gianmarco Sala)