



RIASSUNTO PROGETTO DI RICERCA

I. INFORMAZIONI GENERALI

1. Titolo: IDENTIFICAZIONE E POSSIBILE SIGNIFICATO PROGNOSTICO DI CELLULE TUMORALI CIRCOLANTI (CTC) NEL SANGUE VENOSO PERIFERICO DI PAZIENTI AFFETTI DA CARCINOMA DEL RETTO LOCALMENTE AVANZATO DIAGNOSTICATO ATTRAVERSO INDAGINI CLINICHE TRADIZIONALI E SOTTOPOSTI AD INTERVENTO CHIRURGICO ONCOLOGICAMENTE RADICALE (CHIRURGIA APERTA O LAPAROSCOPICA-MINI INVASIVA)		
2. Sperimentatore Principale IEO: Maria Teresa Sandri	3. Co-sperimentatore/i IEO: Bruno Andreoni, Antonio Chiappa	
4. Divisione/i: Medicina di Laboratorio, Chirurgia Generale e Laparoscopica, Epidemiologia e Biostatistica	5. Sponsor: IEO	
6. <input type="checkbox"/> Unico Centro sperimentale IEO <input checked="" type="checkbox"/> Multicentrico Coordinato da IEO <input type="checkbox"/> Multicentrico IEO Satellite: sede e responsabile del centro coordinatore:		
7. Durata: 5 anni	8. Data prevista inizio: Luglio 2007	9. Data prevista fine: Giugno 2012

II. CARATTERISTICHE PRINCIPALI

1. <input type="checkbox"/> STUDIO CON MEDICINALI		
1.1 Principio attivo e formula:		
1.2 Meccanismo d'azione:		
1.3 Indicazione proposta per lo studio:		
1.4 Indicazione approvata e nome commerciale (se il medicinale è già in commercio):		
1.5 Fase sperimentale:		
1.6 E' previsto l'uso di placebo: <input type="checkbox"/> No - <input type="checkbox"/> Si orale parenterale		
2. <input type="checkbox"/> STUDIO CON DISPOSITIVI MEDICI	3. <input type="checkbox"/> STUDIO CON RADIAZIONI IONIZZANTI	
4. <input checked="" type="checkbox"/> STUDIO OSSERVAZIONALE	5. <input type="checkbox"/> ALTRO	

III. ASPETTI METODOLOGICI

1. Razionale: Il processo biologico di disseminazione delle cellule neoplastiche per via ematogena ed il loro successivo impianto a costituire il clone metastatico, è stato sino ad ora poco studiato, così sono pochi gli studi che riportano incoraggianti risultati per l' identificazione delle cellule tumorali circolanti (CTC) nel sangue periferico di pazienti affetti da carcinoma del colon. Le neoplasie epiteliali hanno una precoce tendenza a metastatizzare, ed il sangue periferico rappresenta una delle vie principali di possibile metastatizzazione. Gli studi clinici attualmente in corso sono rivolti soprattutto ad identificare le CTC nel sangue periferico correlandone la presenza con la presenza/assenza di metastasi linfonodali e con eventuale risposta a trattamenti chemioterapici.
2. Obiettivo principale: Valutare l'andamento delle CTC nel sangue venoso periferico in pazienti affetti da carcinoma del retto localmente avanzato e sottoposti, dopo trattamento neo adiuvante (Radioterapia-Chemioterapia) (RT+CT), a chirurgia onco logicamente radicale. Valutare, negli stessi pazienti, se il monitoraggio seriale delle CTC nel sangue venoso periferico, prima, durante e dopo il trattamento sistemico e locale, sia utile a predire la ripresa della malattia (locale e/o a distanza).
3. Disegno: Trial clinico multicentrico, osservazionale.
4. Trattamento/i (sperimentale e di controllo):

IV. DESCRIZIONE DELLA POPOLAZIONE

1. Caratteristiche dei soggetti/pazienti: Pazienti con diagnosi istopatologica di adenocarcinoma del retto localmente avanzato (T1-2/N+; T3-4/N0,N+) diagnosticati nella comune pratica clinica della Divisione di Chirurgia Generale-Laparoscopica - Istituto Europeo di Oncologia, e sottoposti a intervento chirurgico onco logicamente radicale dopo trattamento neo-adiuvante RT-CT		
2. N. totale soggetti/pazienti: 120	3. N. soggetti/pazienti per centro: 60	
4. Giustificazione della dimensione del campione: Con la numerosità campionaria prevista di 120 pz., ed assumendo che in circa il 50% dei pz. verrà rilevata nel sangue venoso periferico la presenza di CTC al tempo T0, sarà possibile identificare tra due tempi una riduzione del 20% di pazienti con presenza di CTC, con una potenza dell'80% e accettando un errore del primo tipo dell'1% ($\alpha=0.01$, test a due code).		
5. Criteri di inclusione: - Pazienti con diagnosi istopatologica di adenocarcinoma del retto localmente		



avanzato (T1-2 N+; T3-4 N0,N+) candidati ad un programma di trattamento neo-adiuvante RT-CT ed a chirurgia con intento radicale; Età minima anni 18; Stadiazione clinica (cTNM) con rettopancoloscopia; Tc torace-addome-pelvi mdc/Tc torace mdc-RM addome completo mdc;Ecoendoscopia rettale; Rischio anestesilogico ASA 1-3; Consenso informato
6. Criteri di esclusione: Presenza e/o sospetto clinico di metastasi a distanza; Pregressa neoplasia maligna; Controindicazioni all' anestesia generale e/o a trattamenti RT-CT; Presenza di patologia concomitante che controindichi un trattamento RT-CT; Patologie psichiche e/o psichiatriche che impediscano una consapevole partecipazione del paziente ad uno studio clinico.
7. Criteri generali di valutazione dell'efficacia: Verrà utilizzato il sistema semi-automatizzato CellSearch (Veridex) composto da un preparatore (AutoPrep) e da un sistema di lettura (CellSpotter). Dieci ml di sangue intero verranno processati per la ricerca delle CTC. Dopo una prima fase di arricchimento e separazione immunomagnetica delle cellule EpCAM positive, le cellule verranno marcate in fluorescenza con anticorpi anti-citocheratina marcati con ficoeritrina (CK-PE) e con anticorpi anti-CD45 coniugati con allofococianina (CD45-APC), oltre che con il colorante specifico per gli acidi nucleici DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindolo). Il campione sarà quindi dispensato entro una apposita cartuccia, nella quale un dispositivo magnetico sospinge tutte le cellule marcate magneticamente verso la superficie. Sul campione verrà poi eseguita un'analisi con quattro colori fluorescenti tramite il sistema CellSpotter, che identifica gli oggetti potenzialmente classificabili come cellule tumorali tramite la colorazione positiva del nucleo e delle citocheratine citoplasmatiche e la colorazione negativa di superficie per il CD45.
8. Criteri generali di valutazione della tollerabilità:
9. Metodologia statistica: <i>Endpoint primario.</i> Per verificare se la proporzione di pazienti con presenza di CTC nel sangue venoso periferico si modifica nei tempi T0, T1, T2 e T3 verrà utilizzato il test Q di Cochran. Il confronto tra le proporzioni osservate in due diversi tempi sarà effettuato utilizzando il test di McNemar. Con la numerosità campionaria prevista di 120 pz., ed assumendo che in circa il 50% dei pz. verrà rilevata nel sangue venoso periferico la presenza di CTC al tempo T0, sarà possibile identificare tra due tempi una riduzione del 20% di pazienti con presenza di CTC, con una potenza dell'80% e accettando un errore del primo tipo dell'1% ($\alpha=0.01$, test a due code). L'analisi della varianza per misure ripetute verrà utilizzata per valutare l'andamento nei pazienti del numero di CTC nei tempi considerati. L'associazione tra i fattori clinici e patologici noti e l'andamento delle CTC nel tempo verrà valutata con modelli di regressione logistica e lineare per misure ripetute. <i>Endpoint secondari:</i> La Disease Free Survival e l'Overall Survival saranno valutate a partire dalla data di chirurgia. L'associazione tra l'andamento delle CTC, misurate sia in T0-T4 sia durante il follow-up, i fattori clinici e patologici noti e la sopravvivenza sarà valutata utilizzando modelli dei rischi proporzionali di Cox per covariate tempo-dipendenti.

V. VALUTAZIONE DEL RAPPORTO RISCHIO/BENEFICIO

1. Possibili vantaggi: il presente studio consentirà, senza alcun pericolo o aggravio, di contribuire al miglioramento dell'assistenza.
2. Possibili svantaggi e rischi: Non ci sono svantaggi per i pazienti che intendano partecipare allo studio.
3. Alternative diagnostico-terapeutiche:
4. Procedure dello studio: Verrà utilizzato il sistema semi-automatizzato CellSearch (Veridex) composto da un preparatore (AutoPrep) e da un sistema di lettura (CellSpotter). Dieci ml di sangue intero verranno processati per la ricerca delle CTC. Dopo una prima fase di arricchimento e separazione immunomagnetica delle cellule EpCAM positive, le cellule verranno marcate in fluorescenza con anticorpi anti-citocheratina marcati con ficoeritrina (CK-PE) e con anticorpi anti-CD45 coniugati con allofococianina (CD45-APC), oltre che con il colorante specifico per gli acidi nucleici DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindolo). Il campione sarà quindi dispensato entro una apposita cartuccia, nella quale un dispositivo magnetico sospinge tutte le cellule marcate magneticamente verso la superficie. Sul campione verrà poi eseguita un'analisi con quattro colori fluorescenti tramite il sistema CellSpotter, che identifica gli oggetti potenzialmente classificabili come cellule tumorali tramite la colorazione positiva del nucleo e delle citocheratine citoplasmatiche e la colorazione negativa di superficie per il CD45.
5. Misure precauzionali a salvaguardia dei soggetti/pazienti:
6. Valutazione complessiva del rapporto rischio beneficio:

VI. OSSERVAZIONI

I Centri interessati a partecipare allo Studio devono contattare <antonio.chiappa@ieo.it>
