

S.C. Anatomia e Citoistologia Patologica

Identificazione di fattori predittivi della sopravvivenza e della risposta terapeutica in pazienti con leucemia linfatica cronica

Linea di ricerca: 1 - Oncologia Predittiva

Programma: c - Basi genetiche e molecolari della trasformazione neoplastica (proto-oncogeni, geni oncosoppressori, meccanismi di instabilità genomica, virus oncogeni)

Responsabile: Laura Ottaggio

Partecipanti: Silvia Viaggi, Annalisa Zunino

Durata: 2006-2008

Parole chiave: B-CLL; citogenetica molecolare; aberrazioni cromosomiche; p53; ATM; FISH

Altre strutture IST: S.S. Mutagenesi Molecolare e Riparazione del DNA (P. Menichini)

Altri Enti coinvolti: Divisione Ematologia, A.O. S. Martino, Genova (E. Rossi, M. Spriano); Università di Genova, Dipartimento di Scienze Farmaceutiche (M. Miele)

Tipologia progetto: clinico-epidemiologica osservazionale

Area di interesse: descrittiva a fini conoscitivi

Soggetti cofinanziatori: Compagnia San Paolo

Background

La leucemia linfatica cronica di tipo B (B-CLL) è una malattia a decorso prevalentemente indolente ma caratterizzata da una grande eterogeneità nel decorso clinico. La disponibilità di fattori prognostici indicativi del rischio individuale di progressione, di responsività alle terapie e di sopravvivenza sarebbe quindi di enorme importanza. Le aberrazioni cromosomiche, presenti in oltre il 50% dei casi di B-CLL, sono considerate utili marcatori prognostici. Studi recenti hanno correlato la presenza di aberrazioni specifiche con l'andamento clinico e la risposta terapeutica: la delezione sul cromosoma 17p risulta il fattore prognostico peggiore, indicativo di tempo minore di sopravvivenza. Sul cromosoma 17p mappa il gene oncosoppressore p53 che, seppur non coinvolto nella patogenesi di questa malattia, sembra rivestire un ruolo importante nella progressione e nella risposta alla terapia. Il gene p53 risulta mutato solo nel 5-10% delle B-CLL, ma la frequenza di mutazione aumenta al 30% nei pazienti che non rispondono alla terapia con analoghi dei nucleosidi o agenti alchilanti. La seconda aberrazione cromosomica più frequentemente riscontrata nelle B-CLL è la delezione in 11q e coinvolge il gene ATM, l'inattivazione del quale porta alla mancata attivazione di p53 in risposta al danno al DNA. Ulteriori meccanismi di inattivazione di p53 diversi dalla mutazione, quali il sequestro citoplasmatico di p53, sono stati in precedenza descritti in altre patologie neoplastiche quali il neuroblastoma. Il pathway di p53 potrebbe quindi essere alterato con una frequenza maggiore rispetto a quella della mutazione/delezione. Un nostro studio precedente, basato sulla CGH, una tecnica di citogenetica molecolare che permette, in un unico esperimento di ibridazione in situ, l'individuazione di perdite o acquisti di cromosomi o di parte di essi, ha individuato, all'interno di un gruppo di pazienti a prognosi sfavorevole, la presenza simultanea di due specifiche aberrazioni cromosomiche (trisomia 12 e trisomia 18), il cui significato prognostico è incerto. Inoltre, poiché le aberrazioni trovate nei pazienti B-CLL coinvolgono geni che partecipano alla regolazione della duplicazione dei centrosomi, è possibile inoltre che aberrazioni a carico di questi organelli cellulari possano costituire un marcatore prognostico.

Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari

Analisi di pazienti affetti da B-CLL con metodologie di citogenetica molecolare (CGH, FISH) per la ricerca di correlazioni tra la presenza di aberrazioni cromosomiche specifiche e parametri clinici e biologici a carattere prognostico.

Ci si propone inoltre di:

- studiare il comportamento di linee cellulari di hamster cinese che presentano sequestro citoplasmatico di p53 in risposta al danno al DNA dopo trattamento con agenti fisici o diversi chemioterapici
- verificare l'espressione e la localizzazione di p53 in pazienti B-CLL al fine di identificare pazienti potenzialmente resistenti alla terapia con farmaci che inducono arresto del ciclo cellulare o apoptosi attraverso attivazione di p53, quali agenti alchilanti, nucleosidi purinici o inibitori delle topoisomerasi
- studiare la localizzazione cellulare di p53 in modelli sperimentali costituiti da cellule umane (tumore polmonare) sensibili o resistenti a chemioterapici in relazione al trattamento con farmaci antitumorali o agenti fisici. Le stesse cellule tumorali saranno usate per testare nuovi farmaci antimitotici
- continuare l'analisi citogenetica dei pazienti B-CLL che perverranno al laboratorio, proseguendone il follow up.

Beneficiari

Possibili applicazioni clinico-sanitarie: l'identificazione e validazione di marcatori predittivi della sopravvivenza permetterà l'individuazione in fase di diagnosi dei pazienti da indirizzare ad un protocollo terapeutico. L'identificazione e la validazione di marcatori predittivi della della risposta terapeutica potrà indirizzare la scelta del farmaco o consigliare l'utilizzo di terapie alternative (anticorpi monoclonali, trapianto allogenico non mieloablativo).

Consuntivo progetti RC 2006-2008

Consuntivo attività e risultati del progetto a fine 2008

Nel corso del triennio circa 200 pazienti con B-CLL sono stati studiati mediante FISH utilizzando sonde specifiche per l'identificazione della trisomia 12, e per le delezioni nei cromosomi 11q e 17p, che rappresentano le aberrazioni cromosomiche più frequentemente riscontrate in questa patologia. L'incidenza di tali aberrazioni cromosomiche in questo pannello di pazienti non si discosta da quella rilevata in un pannello studiato in precedenza con tecnica CGH, indicando che le due tecniche di citogenetica molecolare hanno simile sensibilità per quanto riguarda le aberrazioni considerate. Lo studio basato sulla CGH aveva individuato all'interno di un gruppo di pazienti a prognosi sfavorevole la presenza simultanea di due specifiche aberrazioni cromosomiche (trisomia 12 e trisomia 18), il cui significato prognostico non è noto. Tutti i pazienti in cui è stata evidenziata la trisomia 12 sono stati monitorati per la presenza della trisomia 18, ed il follow up dei pazienti è tuttora in corso per valutare il valore prognostico di questa associazione di aberrazioni cromosomiche.

In un pannello selezionato di 64 pazienti affetti da B-CLL è stata inoltre valutata la presenza di aberrazioni (numeriche o strutturali) a carico dei centrosomi. I centrosomi, infatti, risultano amplificati in presenza di alterazioni del pathway di ATM o, più in generale, nelle cellule tumorali. I pazienti di B-CLL differiscono dai controlli per quanto riguarda la presenza di cellule con centrosomi amplificati, mentre non è stata rilevata nessuna associazione con la presenza di specifiche aberrazioni cromosomiche. Questo dato indica che, sebbene l'amplificazione dei centrosomi sia una caratteristica comune nella B-CLL, questa non può venire considerata un fattore prognostico affidabile.

In modelli sperimentali costituiti da cellule di hamster cinese (V79) o cellule umane (Non Small Cell Lung, NSCLC), sensibili o resistenti a chemioterapici, è stata inoltre studiata la localizzazione cellulare di p53 in relazione al trattamento con agenti danneggianti il DNA. Abbiamo dimostrato che cellule resistenti al farmaco Metotrexato per amplificazione del gene DHFR presentano sequestro citoplasmatico di p53. Questa anomala localizzazione cellulare di p53, già descritta in altri tipi tumorali, ma dovuta a meccanismi differenti dall'amplificazione genica, porta a completa inattivazione della proteina stessa, non aumentandone l'espressione a seguito di trattamenti con agenti chimici e/o fisici. Questo costituisce un nuovo meccanismo di inattivazione funzionale di p53, che può portare resistenza all'apoptosi.

Il tumore polmonare non a piccole cellule costituisce un buon modello sperimentale poiché, parimenti alle B-CLL, le cellule di NSCLC generalmente mostrano resistenza all'apoptosi. Utilizzando queste cellule è stata verificata l'efficacia nell'indurre apoptosi di alcune molecole note per riattivare funzionalmente p53. È stato dimostrato che il trattamento con queste molecole, in combinazione con farmaci antineoplastici classici quali Adriamicina, possono indurre una risposta apoptotica.

Lo stesso modello sperimentale è stato usato per testare nuove molecole con effetto antimittotico. Il farmaco antineoplastico con attività antimittotica più noto è il tassolo, estratto da una gimnosperma a lenta crescita, il tasso. Per verificare se il metabolismo dei tassani fosse esclusivo di questa specie vegetale o fosse una via metabolica più diffusa, estratti di diverse specie vegetali sono stati testati nel modello sperimentale. L'aver trovato attività antimittotica tassano-simile in estratti provenienti da diversi tessuti di gimnosperme, può far ben sperare per il ritrovamento di nuove fonti commerciali per la produzione di tassolo e tassani. Infatti queste specie vegetali oltre ad essere più diffuse ed a rapida crescita in natura, sono più facilmente coltivabili in vitro e quindi più adatte ad un utilizzo biotecnologico per la produzione di tassolo e tassani che possono essere utilizzati sia come precursori per la produzione di tassolo, che direttamente come farmaci.

Elenco pubblicazioni:

Bestoso F.-Ottaggio L.-Armirotti A.-Balbi A.-Damonte G.-Degan P.-Mazzei M.-Cavalli F.-Ledda B.-Miele M.
In vitro cell cultures obtained from different explants of *Corylus avellana* produce Taxol and taxanes.
BMC Biotechnol. 6:45;1/45;11, 2006

Ottaggio L.-Campomenosi P.-Fronza G.-Menichini P.-Miele M.-Moro F.-Viaggi S.-Zunino A.-Abbondandolo A.
Stable formation of mutated p53 multimers in a chinese hamster cell line causes defective p53 nuclear localization and abrogates its residual function.
J. Cell. Biochem. 98:1689/1700, 2006

Magrini R.-Russo D.-Fronza G.-Inga A.-Menichini P.
The kinetics of p53 binding and histone acetylation at target promoters do not strictly correlate with gene expression after UV damage.
J. Cell. Biochem. 100:1276/1287, 2007

Magrini R.-Russo D.-Ottaggio L.-Fronza G.-Inga A.-Menichini P.
PRIMA/1 synergizes with adriamycin to induce cell death in non small cell lung cancer cells.
J. Cell. Biochem. 104:2363/2373, 2008

Miele M.-Bestoso F.-Balbi A.-Mazzei M.-Piras D.-Ottaggio L.
New sources of Taxol and taxanes to be used as antimittotic compounds.
Planta Med. 9:1113, 2008

Ottaggio L.-Bestoso F.-Armirotti A.-Balbi A.-Damonte G.-Mazzei M.-Sancandi M.-Miele M.
Taxanes from shells and leaves of *Corylus avellana*.
J. Nat. Prod. 71:58/60, 2008

Ottaggio L.-Zunino A.-Maric I.-Grozio A.-Rossi E.-Spriano M.-Viaggi S.
The presence of high risk chromosome aberrations in chronic lymphocytic leukaemia does not correlate with centrosome aberrations.
Hematol. Oncol. 26:39/42, 2008

Consuntivo progetti RC 2006-2008

Presentazioni a convegni:

Bestoso F.-Ottaggio L.-Anzaldi M.-Balbi A.-Mazzei M.-Miele M.
Extracts from Gymnosperm and Angiosperm cell cultures inhibit cell proliferation.
INTAS – SB RAS 2006, Novosibirsk, Russia, 10-12 May, 2006

Ottaggio L.-Bestoso F.-Sancandi M.-Miele M.
Corylus avellana species as a new source of Taxol and taxanes to be used as antimetabolic drug.
9° Convegno FISV, Riva del Garda (TN), 26-29 settembre 2007

Russo D.-Magrini R.-Fronza G.-Inga A.-Ottaggio L.-Menichini P.
PRIMA-1 synergizes with adriamycin to trigger an apoptotic response in non small cell lung cancer cells.
9° Convegno FISV, Riva del Garda (TN), 26-29 settembre 2007

Russo D.-Magrini R.-Fronza G.-Inga A.-Ottaggio L.-Menichini P.
PRIMA-1 synergizes with adriamycin to trigger an apoptotic response in non small cell lung cancer cells.
International p53 marathon, Lyon France, 12-16 November 2007

Miele M.-Balbi A.-Mazzei M.-Piras D.-Ottaggio L.
Corylus avellana come nuova fonte di Tassolo e tassani.
Firenze, Giugno 2008

Miele M.-Bestoso F.-Balbi A.-Mazzei M.-Piras D.-Ottaggio L.
New sources of Taxol and taxanes to be used as antimetabolic compounds.
7th meeting of AFERP, ASP,GA,PSE,SIF Atene August, 3-8, 2008

Identificazione di markers di rischio nei polipi serrati del colon-retto: studio retrospettivo e prospettico su coorti di screening

Linea di ricerca: 1 - Oncologia predittiva

Programma: c – Basi genetiche e molecolari della trasformazione neoplastica (proto-oncogeni, geni oncosoppressori, meccanismi di instabilità genomica, virus oncogeni)

Responsabile: Beatrice Gatteschi

Partecipanti: Sandra Salvi, Raffaella Arbicò

Durata: 2006-2008

Parole chiave: neoplasia serrata; colon-retto; mutilazione; polipo iperplastico

Altre strutture IST: S.S. Prevenzione Secondaria e Screening (L. Bonelli)

Altri Enti coinvolti: Regione Liguria

Tipologia progetto: clinico-epidemiologica osservazionale

Area di interesse: prevenzione primaria/secondaria

Background

Il polipo iperplastico è considerato una lesione benigna senza potenziale maligno, mentre l'adenoma serrato è un precursore noto di adenocarcinoma.

La complessità dell'architettura del tipo "serrato" varia da quadri chiaramente adenomatosi ad altri difficilmente distinguibili dal polipo iperplastico ed il termine "neoplasia serrata" è stato suggerito per descrivere un apparente continuum morfologico tra i due estremi.

La problematicità di distinguere quadri morfologici anche vicini tra loro rende necessaria una dettagliata analisi microscopica in particolare nell'ambito dei programmi di screening. C'è inoltre una forte evidenza di un "pathway" alternativo della carcinogenesi coloretale che riguarda la neoplasia serrata. L'esistenza di tipi distinti di adenomi serrati (Sessile Serrated Adenoma e Traditional Serrated Adenoma) pone la questione di pathways multipli. Il SSA è stato associato al carcinoma coloretale prossimale, alla mutazione BRAF ed a una estensiva metilazione del DNA; include inoltre un sottogruppo di carcinomi con MSI-H e inattivazione del gene MLH1. Il TSA invece è stato associato a carcinomi del colon sinistro, MSI-L, mutazione di K-RAS e metilazione del gene O-6-metilguanina DNA metiltransferasi. Perlomeno il 20% dei carcinomi coloretali hanno "signatures" molecolari che permettono di stabilirne l'origine da un SSA o da un TSA. Benché i SSA e i TSA siano stati fino ad ora ignorati nelle linee guida per le polipectomie, evidenze circostanziate suggeriscono che questa omissione può portare allo sviluppo di carcinomi prevenibili; c'è quindi la necessità di migliorare i criteri diagnostici e di promulgare linee guida internazionali per la classificazione di questi polipi.

Consuntivo progetti RC 2006-2008

Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari

Scopo dello studio è effettuare una riclassificazione secondo i criteri proposti da Torlakovic et al. di tutti i polipi diagnosticati come iperplastici nell'ambito del trial SCORE1 e di valutare secondo gli stessi criteri i nuovi casi arruolati nello "Studio di prevenzione secondaria del CRC. Proposte operative per un intervento di tipo sperimentale". Contestualmente si cercherà di identificare anche i marcatori immunoistochimici e molecolari che individuano i sottotipi con potenzialità di progressione neoplastica.

Beneficiari

La popolazione ligure a rischio medio per cancro del colon.

Consuntivo attività e risultati del progetto a fine 2008

E' stata completata la riclassificazione dei nuovi casi arruolati nello "Studio di prevenzione secondaria CRC. Proposte operative per un intervento di tipo sperimentale".

Nei 19 casi individuati nell'ambito del trial SCORE1 è stata valutata l'immunoreattività per la proteina hMLH1; inoltre in base alle più recenti acquisizioni sono stati valutati beta-catenina, APC, P21 e MGMT.

Al fine di estendere l'indagine anche ai nuovi casi riclassificati si è prorogata la durata dello studio di sei mesi, al termine dei quali verranno valutate anche le eventuali correlazioni cliniche.

Elenco pubblicazioni:

Bonelli L.-Sciallero S.-Senore C.-Zappa M.-Aste H.-Andreoni B.-Angioli D.-Ferraris R.-Gasparoni S.-Malfitana G.-Pennazio M.- Atkin W.-Segnan N.-SCORE Working Group-Munizzi F.-Sacomanno S.-Pugliese V.-Nicora A.
History of negative colorectal endoscopy and risk of rectosigmoid neoplasms at screening flexible sigmoidoscopy.
Int. J. Colorectal Dis. 21:105/113, 2006

Galmozzi F.-Rubagotti A.-Romagnoli A.-Carmignani G.-Perdelli L.-Gatteschi B.-Boccardo F.
Prognostic value of cell cycle regulatory proteins in muscle infiltrating bladder cancer.
J. Cancer Res. Clin. Oncol. 132:757/764, 2006

Perfumo C.-Bonelli L.-Menichini P.-Inga A.-Gismondi V.-Ciferri E.-Percivale P.L.-Bianchi G.-Nasti S.-Fronza G.-Varesco L.
Increased risk of colorectal adenomas in italian subjects carrying the p53 PIN3 A2/Pro72 haplotype.
Digestion 74:228/235, 2006

Meroni E.-Gatteschi B.-Fasoli A.-Munizzi F.-Frascio F.-Pugliese V.-Truini M.
Detection of tissue abnormalities in normal mucosa surrounding colorectal cancer using an endocytoscopy system.
Endoscopy 39:369/370, 2007

Fasoli A.-Pugliese V.-Gatteschi B.-Spina B.-Munizzi F.-Frascio F.- Truini M.-Meroni E.
Endocytoscopic imaging of a carcinoid tumor.
Gastrointest. Endosc. 68:1015/1017, 2008

Ponzanelli A.-Vigo V.-Marcenaro M.-Bacigalupo A.-Gatteschi B.-Ravetti J.-Corvò R.-Benasso M.
Induction chemotherapy followed by alternating chemo radiotherapy in non endemic undifferentiated carcinoma of the nasopharynx: optimal compliance and promising 4 year results.
Oral Oncol. 44: 767/774, 2008

Tricarico R.-Bet P.-Ciambotti B.-Di Gregorio C.-Gatteschi B.-Gismondi V.-Toschi B.-Tonelli F.-Varesco L.-Genuardi M.
Endometrial cancer and somatic G>TKRAS transversion in patients with constitutional MUTYH biallelic mutations.
Cancer lett. Epub nov. 1, 2008

Integrazione dati e "data mining" in oncologia molecolare tramite sistemi telematici innovativi

Linea di ricerca: 1 - Oncologia Predittiva

Programma: c - Basi genetiche e molecolari della trasformazione neoplastica (proto-oncogeni, geni oncosoppressori, meccanismi di instabilità genomica, virus oncogeni)

Responsabile: Paolo Romano

Durata: 2006-2008

Parole chiave: bioinformatica; data integration; data mining; web services; workflow management systems

Altre strutture IST: S.S. Mutagenesi Molecolare e Riparazione del DNA (G. Fronza); S.S. Genomica Funzionale (U. Pfeffer); S.S. Banca Biologica e Cell Factory (B. Parodi, M.A. Manniello); S.S. Biopolimeri e Proteomica (M. Rocco)

Altri Enti coinvolti: Istituto Tecnologie Biomediche, CNR, Milano (L. Milanese); Dip. Matematica e Informatica, Università Camerino, MC (E. Merelli); Dip. Informatica, Sistemistica e Telematica, Università di Genova (M. Fato); Istituto Scienze dell'Alimentazione, CNR, Avellino (A. Facchiano); CINECA, Casalecchio di Reno, BO (E. Rossi)

Consuntivo progetti RC 2006-2008

Tipologia progetto: tecnologie abilitanti

Area di interesse: prevenzione primaria/secondaria

Soggetti cofinanziatori: MIUR; Ministero della Salute

Background

La ricerca biologica molecolare deve confrontarsi con un'enorme mole di dati da gestire, elaborare, analizzare e visualizzare. La notevole eterogeneità dei sistemi utilizzati e la loro distribuzione in rete rendono necessari l'adozione e l'utilizzo di software flessibili per l'integrazione su larga scala dei dati disponibili. I Web Services e i Workflow Management Systems si stanno rivelando molto utili per accedere alle informazioni in rete e l'adozione di bio-ontologie consente di superare l'eterogeneità delle informazioni. Di fatto, molti database di biologia molecolare sono già accessibili tramite Web Services mantenuti da centri internazionalmente riconosciuti, come lo European Bioinformatics Institute (EBI) e il National Center for Biotechnology Information (NCBI). Software per la creazione e l'esecuzione di procedure automatiche di ricerca e integrazione dei dati (workflow) sono stati sviluppati e hanno dimostrato grande efficacia e riproducibilità delle analisi dei dati. Nuove ontologie sono in fase di sviluppo e i primi esempi di strumenti semantici per l'accesso e l'integrazione dei dati biomedici sono ora disponibili.

Nell'ambito della gestione dei servizi CABRI (<http://www.cabri.org/>), abbiamo sviluppato Web Services per l'accesso alle informazioni sulle risorse biologiche e sono stati sviluppati collegamenti con la banca dati EMBL Data Library. Inoltre abbiamo sviluppato alcuni Web Services per l'accesso ai database IARC sulle mutazioni della p53. Nell'ambito del progetto strategico MIUR "Oncology over Internet" è stato sviluppato un portale in grado di consentire al ricercatore l'esecuzione di workflow predefiniti.

È necessario estendere l'adozione di queste tecnologie in Istituto per consentire un adeguato accesso alle informazioni disponibili in rete e una loro più efficace analisi.

Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari

L'obiettivo principale di questo progetto è lo sviluppo di procedure automatiche che consentano una maggior efficacia dell'analisi dei dati accessibili tramite la rete Internet per le esigenze dei ricercatori IST e, in conseguenza, una maggior produttività scientifica.

Per ottenere questo obiettivo, è necessario:

- identificare i settori di maggior interesse per l'Istituto e i database relativi,
- selezionare i Web Services in grado di consentire l'accesso alle informazioni e, se necessario, implementarli,
- definire le analisi e conseguentemente le procedure da automatizzare in forma di workflow,
- progettare, sviluppare, implementare e testare i workflow,
- costituire collegamenti e collaborazioni di rete con ricercatori e clinici oncologi interessati a utilizzare queste metodologie,
- svolgere attività di formazione e aggiornamento sulle nuove tecnologie ICT.

Beneficiari

In prima battuta, tutti i ricercatori dell'Istituto interessati a svolgere analisi di dati con strumenti bioinformatici. Ricercatori e clinici di altri IRCCS oncologici potranno usufruire anch'essi dei risultati del progetto.

Consuntivo attività e risultati del progetto a fine 2008

Nel corso del progetto sono stati ottenuti notevoli risultati, testimoniati sia dalla disponibilità di nuovi servizi on-line (Web Services, workflow e portale per l'esecuzione di workflow), sia dalla relativa produzione scientifica.

I Web Services sono stati sviluppati usando SoapLab, un tool particolarmente efficiente per integrare programmi eseguibili da linea di comando e database interrogabili su web tramite form HTML. I Web Services relativi alle banche dati di materiale biologico CABRI consentono un accesso semplificato e generalizzato ai cataloghi di risorse biologiche relative (<http://www.cabri.org/>). Quelli relativi alle mutazioni del gene TP53 umano consentono di integrare i diversi data set disponibili (come mutazioni somatiche, mutazioni della linea germinale, mutazioni delle linee cellulari, e relative bibliografie) superando i limiti insiti nel sistema informativo disponibile allo IARC di Lione. Vista la disponibilità di molti database accessibili tramite siti SRS, è stato realizzato 'SRS by Web Services' (SWS), un sistema che consente di accedere efficacemente ad essi sfruttando l'uniformità dello strumento di ricerca/analisi. SWS conserva informazioni su siti, database e relative implementazioni nel suo database interno, aggiornato periodicamente da script automatici. SWS seleziona il sito SRS più adatto, tra quelli disponibili, per le esigenze del ricercatore, eliminando la dipendenza dai singoli siti e superando problemi di rete. I Web Services sono accessibili all'indirizzo <http://bioinformatics.istge.it:8080/axis/services>, mentre la documentazione è disponibile alla pagina <http://bioinformatics.istge.it/webservices/>.

I workflow sviluppati nell'ambito del progetto sono principalmente basati sull'accesso ai Web Services CABRI e TP53. I workflow sono stati progettati e creati utilizzando Taverna Workbench (<http://taverna.sourceforge.net/>). Essi consentono di accedere ai singoli database per identificativo univoco (ID) e sulla base di alcune informazioni specifiche (caratteristiche della risorsa biologica, proprietà delle mutazioni). L'output è costituito da record completi o porzioni degli stessi (si veda <http://bioinformatics.istge.it/workflows/>). Per consentire l'interazione con R/bioconductor, è stato implementato un Web Service apposito, Rserv. È così possibile incorporare nei workflow degli script R per l'analisi dei dati di microarray. È stato implementato un portale user-friendly per l'esecuzione di workflow predefiniti: biowep – Workflow Enactment Portal for Bioinformatics (<http://bioinformatics.istge.it/biowep/>). Nel portale sono stati installati tutti i workflow creati.

Per quanto riguarda l'annotazione semantica delle informazioni, sono stati valutati vantaggi e svantaggi derivanti dall'annotazione dei soli dati esposti tramite Web Services. Questo approccio riduce il lavoro manuale e gli inevitabili errori, rende possibile la realizzazione semi-automatica dei workflow d'analisi: i dati annotati con la stessa tipologia possono essere collegati tra loro e opportune conversioni possono essere interposte tra servizi aventi formato diverso.

I sistemi sviluppati sono stati presentati a vari convegni inclusi quello della Società Italiana di Bioinformatica (BITS 2006) e della Rete Spagnola di Bioinformatica (JdB'06), nonché ai workshop NETTAB e al Data Integration in the Life Sciences (DILS '06).

Consuntivo progetti RC 2006-2008

Per quanto riguarda l'attività di formazione, sono state svolte lezioni sull'integrazione dati, i sistemi basati su workflow e la relativa metodologia nell'ambito di numerosi corsi IST. Sono stati inoltre organizzati tre workshop della serie NETTAB ('NETwork Tools and Applications in Biology'). NETTAB 2006 su "Distributed Applications, Web Services, Tools and GRID Infrastructures for Bioinformatics", che si è tenuto a Santa Margherita di Pula (CA), dal 10 al 13 luglio 2006 (vedi <http://www.nettab.org/2006/>). NETTAB 2007 su "A Semantic Web for Bioinformatics: Goals, Tools, Systems, Applications, che si è svolto a Pisa dal 12 al 15 giugno 2007 (vedi <http://www.nettab.org/2007/>), dedicato alle possibilità offerte dalle tecnologie del Semantic Web per l'integrazione dei dati bioinformatici. NETTAB 2008 su "Bioinformatics Methods for Biomedical Complex System Applications", che si è svolto dal 19 al 21 maggio 2008 a Varenna (LC) (vedi <http://www.nettab.org/2008/>), nel corso del quale si è tenuta una sessione dedicata alle attività della Rete Nazionale di Bioinformatica Oncologica (RNBIO). Sempre sulla tematica dell'integrazione semantica dei dati, è stato organizzato il workshop SWAT4LS '08 (Semantic Web Applications and Tools for Life Sciences) a Edinburgo, il 28 novembre 2008.

Elenco pubblicazioni:

Bartocci E.-Cacciagrano D.-Cannata N.-Corradini F.-Merelli E.-Milanesi L.-Romano P.
An agent based multilayer architecture for bioinformatics Grids.
IEEE Trans. Nanobioscience 6:142/148, 2007

Milanesi L.-Armano G.-Breton V.-Romano P.
Guest editorial: special section on Grid, web services, software agents, and ontology applications for life sciences.
IEEE Trans. Nanobioscience 6:101/103, 2007

Romano P.-Bartocci E.-Bertolini G.-De Paoli F.-Marra D.-Mauri G.-Merelli E.-Milanesi L.
Biowep: a workflow enactment portal for bioinformatics applications.
BMC Bioinformatics 8(suppl):S19;1/S19;13, 2007

Cannata N.-Schroder M.-Marangoni R.-Romano P.
A semantic Web for bioinformatics: goals, tools, systems, applications.
BMC Bioinformatics 9(suppl 4):S1/S6, 2008

Romano P.
Automation of in silico data analysis processes through workflow management systems.
Brief. Bioinform. 9:57/68, 2008

Romano P.-Manniello A.-Aresu O.-Armento M.-Cesaro M.-Parodi B.
Cell Line Data Base: structure and recent improvements towards molecular authentication of human cell lines.
Nucleic Acids Res. Epub Oct 15, 2008

Romano P.-Marra D.
SWS: accessing SRS sites contents through Web Services.
BMC Bioinformatics 9 (suppl 2):S15;1/S15;7, 2008

Capitoli di libro:

Romano P.-Bertolini G.-De Paoli F.-Fattore M.-Marra D.-Mauri G.-Merelli E.-Porro I.-Scaglione S.-Milanesi L.
Network integration of data and analysis of oncology interest.
In Integrative Bioinformatics Yearbook 2005. Edited by R. Hofstadt, Shaker Verlag (Aachen) 111-121, 2006

Romano P.-Splendiani A.
Applications of Semantic Web methodologies and techniques to biology and bioinformatics.
Reasoning Web 2008, Springer Lecture Notes in Computer Sciences LNCS 5224, pp. 200-239, Springer Verlag Berlin Heidelberg, 2008

Presentazione a convegni:

Marra D.-Romano P.
Integrating Mutations Data of the TP53 Human Gene in the Bioinformatics Network Environment, Springer-Verlag Lecture Notes in Bioinformatics (LNBI).
Proc. First International Conference on Bioinformatics Research and Development BIRD '07, March 12-14, 2007, Berlin, Springer Lecture Notes in Bioinformatics LNBI 4414, pp. 453-463, 2007, Springer Verlag Berlin Heidelberg 2007

Armano G.-Milanesi L.-Romano P.
Proceedings of the 6th International Workshop NETTAB 2006 on "Distributed Applications, Web Services, Tools and GRID Infrastructures for Bioinformatics", Santa Margherita di Pula (CA), Italy, July 10-13, 2006

Felicioli C.-Romano P.-Marangoni R.
Proceedings of the 7th International Workshop NETTAB 2007 on "A Semantic Web for Bioinformatics: Goals, Tools, Systems, Applications", Pisa, Italy, June 12-15, 2007

Milanesi L.-Romano P.
Proceedings of the 8th International Workshop NETTAB 2008 on "Bioinformatics Methods for Biomedical Complex System Applications", Varenna (LC), Italy, May 19-21, 2008 (available from the editors)

Consuntivo progetti RC 2006-2008

Burger A.-Paschke A.-Romano P.-Splendiani A.

Proceedings of the 1st Workshop on Semantic Web Applications and Tools for Life Sciences (SWAT4LS), Edinburgh, United Kingdom, November 28, 2008. [CEUR Workshop Proceedings, in preparation]

Citogenetica dei tumori: valutazione di fattori diagnostici e/o prognostici in linfomi non-Hodgkin e tumori cerebrali

Linea di ricerca: 3 - Ottimizzazione e personalizzazione delle strategie terapeutiche

Programma: a - Caratterizzazione del paziente con diagnostica convenzionale e biologica finalizzata all'ottimizzazione del trattamento

Responsabile: Annalisa Zunino

Partecipanti: Laura Ottaggio, Silvia Viaggi

Durata: 2006-2008

Parole chiave: citogenetica; linfomi non-Hodgkin; gliomi; FISH;

Altre strutture IST: S.S. Malattie Linfoproliferative (S. Zupo); S.S. Mutagenesi Molecolare e Riparazione del DNA (G. Frosina); S.C. Trasferimento Genico (A. Daga); S.C. Genetica dei Tumori (M. Romani)

Altri Enti coinvolti: A.O. San Martino, Genova; S.C. Anatomia Patologica (G. Fraternali), S.C. Ematologia (M. Spriano), Gruppo Tumori Cerebrali (R. Spaziente), Gruppo Ligure Linfomi (A. Carella)

Tipologia progetto: clinico-epidemiologica osservazionale

Area di interesse: diagnostica

Background

Sia nei linfomi non-Hodgkin che nei tumori cerebrali le informazioni fornite dalla classificazione istologica e clinica possono non essere sufficienti a stabilire il miglior trattamento terapeutico o a predire l'andamento della malattia.

Lo studio citogenetico di questi tumori ha permesso di caratterizzarne una gran parte dal punto di vista genetico e di conoscere alcune anomalie utili per distinguere i casi dubbi dal punto di vista morfologico (e.g. linfoma follicolare, linfoma mantellare). La presenza di alcune lesioni, inoltre si è rivelata un ottimo indicatore per predire l'andamento della malattia e per stabilire la terapia (e.g. oligodendrogliomi).

Da alcuni anni si sta portando avanti uno studio sui linfomi follicolari (FL) e sui linfomi diffusi a grandi cellule B (DLBCL), non tralasciando, nel contempo, altri linfomi che pongono seri problemi nella scelta terapeutica quali i linfomi mantellari (MCL), quelli marginali (MZL) e il mieloma multiplo (MM).

Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari

Nel mieloma multiplo rivestono un ruolo centrale diverse anomalie cromosomiche (del(13q); t(V;14)), tuttavia è necessario un sistematico confronto con la clinica ed una integrazione delle informazioni genetiche per creare un modello coerente dello sviluppo della malattia che possa fornire una piattaforma per una terapia mirata.

Per quanto riguarda i gliomi lo studio delle anomalie cromosomiche, oltre a fornire uno strumento utile per una diagnosi corretta nei bassi gradi, può dare un grande contributo per la scelta terapeutica. Negli alti gradi può permettere una distinzione tra glioblastomi primari e secondari con implicazioni rilevanti nel predire l'andamento della malattia. Dati recenti evidenziano come, non singole aberrazioni cromosomiche, ma piuttosto uno spettro di aberrazioni, stia ad indicare due patologie distinte già a partire dalla genesi della malattia. Il progetto, condotto nell'ambito del gruppo che studia i tumori cerebrali, si svilupperà in collaborazione con gli altri membri del gruppo; in particolare sarà possibile un confronto con i dati relativi alla riparazione del DNA.

Beneficiari

Sistema sanitario nazionale. Pazienti affetti dalle diverse patologie coinvolte nello studio.

Consuntivo attività e risultati del progetto a fine 2008

Per quanto concerne i linfomi non-Hodgkin è stata raccolta un'ampia casistica ed in questa sono state valutate le aberrazioni più significative.

Nei linfomi indolenti, in prevalenza linfomi marginali, sono state valutate la trisomia del cromosoma 3, la delezione parziale del braccio lungo del cromosoma 7 e la t(11;14). Il 40% dei casi presentava una delle anomalie prese in considerazione e in nessun caso ne sono state individuate più di una. L'anomalia più frequentemente riscontrata (20%) è stata la trisomia del cromosoma 3.

Nel mieloma multiplo la delezione del braccio lungo del cromosoma 13 è stata riscontrata nel 40% dei casi, mentre la delezione parziale del cromosoma 17 è stata riscontrata molto raramente (7%). Per quanto concerne le traslocazioni, il 10% dei casi presentava una t(11;14), ma ben nel 35% dei casi vi erano indicazioni di altre traslocazioni coinvolgenti il cromosoma 14. Il dato è ancora oggetto di studio.

Un confronto con i dati clinici è stato possibile solo per le leucemie linfatiche croniche, mentre non è stato ad oggi possibile né per i linfomi indolenti né per il mieloma multiplo.

In merito ai tumori cerebrali, in aggiunta a quanto già riportato nelle relazioni precedenti, sono stati valutati alcuni oligodendrogliomi. Dati preliminari indicano che nei casi ad andamento peggiorante, non solo sono assenti le anomalie

Consuntivo progetti RC 2006-2008

predittive di miglior prognosi (associazione della del (1p) e della del (19q)), ma è presente, in quasi tutti i casi, un'anomalia a carico del braccio corto del cromosoma 7.

Lo studio condotto su linee cellulari di glioblastoma, staminali e non, nell'ambito di una collaborazione con altri laboratori (Ropolo M.-Daga A.-Griffero F.-Foresta M.-Casartelli G.-Zunino A.-Poggi A.-Cappelli E.-Zona G.-Spaziante R.-Corte G. and Frosina, G. A comparative analysis of DNA repair in stem and non-stem glioma cell cultures. Mol. Cancer Res.) è argomento di una pubblicazione attualmente in corso di stampa.

Elenco pubblicazioni:

Ottaggio L.-Campomenosi P.-Fronza G.-Menichini P.-Miele M.-Moro F.-Viaggi S.-Zunino A.-Abbondandolo A. Stable formation of mutated p53 multimers in a chinese hamster cell line causes defective p53 nuclear localization and abrogates its residual function. J. Cell. Biochem. 98:1689/1700, 2006

Ottaggio L.-Zunino A.-Maric I.-Grozio A.-Rossi E.-Spriano M.-Viaggi S. The presence of high risk chromosome aberrations in chronic lymphocytic leukaemia does not correlate with centrosome aberrations. Hematol. Oncol. 26:39/42, 2008

Identificazione nell'ambito del carcinoma mammario infiltrante del sottotipo biologico triple-negative (basal like subtype) con possibili implicazioni terapeutiche

Linea di ricerca: 3 – Ottimizzazione e personalizzazione delle strategie terapeutiche

Programma: a – Caratterizzazione del paziente con diagnostica convenzionale e biologica finalizzata all'ottimizzazione del trattamento

Responsabile: Franca Carli

Partecipanti: Edoardo Margallo, Sandra Salvi, Anna Calabrese, Clementina Musso

Durata: 2006-2008

Parole chiave: carcinoma mammario infiltrante; basal like subtype; ER; PGR; HER-2;

Altre strutture IST: S.C. Clinical Trials e Bioetica (L. Boni); S.C. Oncologia Chirurgica (F. Cafiero); S.S. Senologia Chirurgica Avanzata (G. Canavese); S.C. Oncologia Medica A (L. Del Mastro)

Tipologia progetto: clinico /epidemiologica osservazionale

Area di interesse: diagnostica

Background

Scopo dello studio è quello di identificare, nell'ambito della nostra casistica dal 2000 i casi di carcinomi TRIPLE NEGATIVE (ER-PGR-HER-2 o basal like subtype) a prognosi sfavorevole.

Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari

Identificazione di casi di carcinoma mammario infiltrante TRIPLE-NEGATIVE nell'ambito della nostra casistica utilizzando anche indagini immunohistochemiche (citocheratine CK5/6 e 17 e le EGFR receptor) e riclassificazione all'interno del sottotipo BASAL-LIKE per fornire ulteriori parametri per una ottimizzazione del trattamento terapeutico.

Beneficiari

Sistema sanitario nazionale, pazienti.

Consuntivo attività e risultati del progetto a fine 2008

Nel 2008 si sono completate le indagini di caratterizzazione immunofenotipica dei casi identificati TRIPLE NEGATIVE per un totale di 178. Per garantire l'omogeneità in termini di trattamenti ricevuti ai TRIPLE NEGATIVE l'analisi è stata ristretta alle pazienti entrate nello studio di FASE 3 GONO MIG1 coordinato dall'IST.

Complessivamente, i casi triplo negativi sono risultati 178 su 731 (24.3%), mentre i casi ER negativi, PGR negativi e HER-2 positivi sono risultati essere 68 su 731 (9.3%). In totale sono stati studiati 246 pazienti su 731 (33.7%).

Per questi due gruppi è stata fatta una analisi di sopravvivenza libera da evento. All'interno del gruppo triple negative (n=178) si sono verificati 46 eventi verso 23 (su 68) dei casi recettori ormonali negativi e HER-2 positivo, ovvero la sopravvivenza libera da evento è stata rispettivamente del 74.2% e 66.2%, con un 8.0% assoluto di differenza statisticamente non significativo (p=0.162). Stessa analisi è stata condotta per quanto riguarda la sopravvivenza globale. Complessivamente, si sono verificati 29 eventi (su 178) nel gruppo triplo negativo, verso i 17 (su 68) dei casi recettori ormonali negativi e HER-2 positivo, ovvero la sopravvivenza globale è stata rispettivamente dell'83.7% e 75%, con un 8.7% assoluto di differenza statisticamente non significativa (p=0.112).

Sono stati presi in considerazione i casi triplo negativi (n=178) di tutta la casistica (n=731). Dei 95 casi studiati, 27 (pari al 28.4%) sono risultati positivi per le citocheratine 5 e 6, mentre 31 (pari al 32.6%) sono risultati positivi per EGFR. Combinando i risultati per citocheratine 5/6 e EGFR, 42 casi (44.2%) risultavano negativi sia per citocheratine 5/6 che per EGFR, 22 positivi per citocheratine 5/6 e EGFR negativi (23.2%), 26 negativi per citocheratine e positivi

Consuntivo progetti RC 2006-2008

per EGFR (27.4%), 5 positivi sia per citocheratine 5/6 che per EGFR (5.4%). Sono state messe a confronto le sopravvivenze libere da evento. Si sono verificati 10 eventi (su 68) nel gruppo triplo negativo, 10 eventi (su 27) nel gruppo basal-like e 23 eventi (su 68) nel gruppo recettori ormonali negativi e HER-2 positivo. Le sopravvivenze libere da evento sono state dell'85.3%, 63.0%, 66.2%, rispettivamente, differenza statisticamente significativa ($p=0.006$). Per quanto riguarda i dati di sopravvivenza globale, si sono verificati 6 eventi (su 68) nel gruppo triplo negativo, 6 eventi (su 27) nel gruppo basal-like e 17 eventi (su 68) nel gruppo con recettori ormonali negativi e HER-2 positivo. Le sopravvivenze globali sono state del 91.2%, 77.8%, 75.0%, rispettivamente, differenza statisticamente significativa ($p=0.011$).

L'analisi multivariata ha preso in considerazione le seguenti variabili: citocheratine 5/6, EGFR, stato dei linfonodi ascellari e dimensioni del tumore. L'aumento del rischio di evento per citocheratine 5/6 positive è stato $HR=2.106$ (IC95%: 0.847-5.237, $p=0.1092$), statisticamente non significativo. Lo stato dei linfonodi ascellari con $HR=3.777$ (IC95%: 1.467-9.722, $p=0.0059$) e le dimensioni del tumore con $HR=2.529$ (IC95%: 0.957-6.683, $p=0.0613$) sono risultati associati ad un aumentato rischio di evento in modo statisticamente significativo.

Per quanto riguarda i dati in sopravvivenza globale, l'aumento del rischio di morte per citocheratine 5/6 è stato $HR=1.940$ (IC95%: 0.594-6.338, $p=0.2727$), statisticamente non significativo. Statisticamente significativi nell'aumentare il rischio di morte sono risultati lo stato dei linfonodi ascellari con $HR=3.499$ (IC95%: 0.969-12.640, $p=0.0559$) e le dimensioni del tumore con $HR=10.924$ (IC95%: 1.372-86.967, $p=0.0239$). L'analisi multivariata ha preso in considerazione le seguenti variabili: EGFR, stato dei linfonodi ascellari e dimensioni del tumore.

L'aumento del rischio di evento per EGFR positivo è stato $HR=0.961$ (IC95%: 0.357-2.583, $p=0.9366$). Significativi nell'aumentare il rischio di evento sono risultati lo stato dei linfonodi ascellari con $HR=3.777$ (IC95%: 1.467-9.722, $p=0.0059$) e le dimensioni del tumore con $HR=2.529$ (IC95%: 0.957-6.683, $p=0.0613$). Per quanto riguarda i dati in sopravvivenza globale l'aumento del rischio di morte per EGFR è stato $HR=1.168$ (IC95%: 0.300-4.543, $p=0.8231$). Significativi nell'aumentare il rischio di morte sono risultati lo stato dei linfonodi ascellari con $HR=3.499$ (IC95%: 0.969-12.640, $p=0.0559$) e le dimensioni del tumore con $HR=10.924$ (IC95%: 1.372-86.967, $p=0.0239$).

In conclusione, all'interno del carcinoma mammario triple negative (ER negativo, PgR negativo, HER-2 negativo) è possibile identificare due popolazioni caratterizzate dalla presenza o meno delle citocheratine 5/6 mediante immunocistochemica. La positività a queste citocheratine identifica, all'interno del carcinoma mammario triple negativo, il fenotipo basal-like, ovvero il fenotipo che presenta caratteristiche di espressione immunofenotipica delle cellule dello strato basale/mioepiteliale. Questo studio conferma i dati di altri studi fino ad ora pubblicati. All'analisi univariata, è stata evidenziata una differenza assoluta in termini di sopravvivenza libera da evento e di sopravvivenza globale rispettivamente del 22.3% e 13.4%, statisticamente significative, con una prognosi peggiore associata alla presenza dell'espressione delle citocheratine 5/6. Questo non è stato confermato dal punto di vista statistico dall'analisi multivariata, dove però l'aumento del rischio di evento e di morte per la presenza delle citocheratine 5/6 è stato rispettivamente di 2.11 e 1.94 volte superiore. Il motivo della mancanza di significatività statistica è probabilmente legato al basso numero di eventi (20 per la sopravvivenza libera da malattia e 12 per la sopravvivenza globale).

Linfomi indolenti: creazione di flow-charts diagnostiche con implicazioni terapeutiche

Linea di ricerca: 3- Ottimizzazione e personalizzazione delle strategie terapeutiche

Programma: a – Caratterizzazione del paziente con diagnostica convenzionale e biologica finalizzata alla ottimizzazione del trattamento

Responsabile: Mauro Truini

Partecipanti: Sandra Salvi, Gennaro Pasciucco, Simona Boccardo.

Durata: 2006-2008

Parole chiave: protocolli diagnostici-terapeutici; iter diagnostici; linfomi indolenti

Altre strutture IST: S.C. Oncologia Medica C (M. Ferrari); S.S. Malattie Linfoproliferative (S. Zupo); S.S. Genomica Funzionale (U. Pfeffer).

Altri Enti coinvolti: Servizi di Anatomia Patologica Liguri

Tipologia progetto: clinico/epidemiologico osservazionale

Area di interesse: diagnostica

Background

La terapia dei linfomi a piccole cellule, clinicamente in gran parte indolenti, si basa sulla caratterizzazione non solo morfologica ma fenotipica e molecolare. Fino ad oggi, gli schemi classificativi erano tuttavia unificati da insufficienti conoscenze patogenetiche che talora non permettevano un preciso inquadramento diagnostico e conseguentemente una idonea terapia. Lo scopo principale di questo progetto è quindi quello di standardizzare gli iter diagnostico terapeutici per i linfomi indolenti, tale approccio permetterà di creare "flow-charts" di procedure diagnostiche. Più precisamente si sta procedendo a:

- definire quali siano le informazioni indispensabili per un corretto inquadramento diagnostico/prognostico e le metodologie migliori per ottenerle (più affidabili ed ai costi più bassi e quindi migliorare il rapporto qualità /prezzo)

Consuntivo progetti RC 2006-2008

- centralizzare le indagini altamente costose in maniera da poter fornire a tutti i pazienti anche le prestazioni di alto livello necessarie per una corretta diagnosi e conseguente terapia con riduzione della spesa sanitaria
- raccogliere e conservare la casistica proveniente anche dall'esterno e della quale si hanno le informazioni cliniche per eseguire studi più dettagliati con metodiche più raffinate (es. molecolari, di sequenziamento, FISH, CGH, microarray).
- identificare nuove molecole o geni che siano in grado di stratificare più precisamente i pazienti in base al loro grado di rischio e di risposta alla terapia e di poter attuare terapie mirate e personalizzate.

Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari

Scopo dello studio è quello di effettuare una più precisa caratterizzazione dei linfomi clinicamente di tipo indolente, raccolti prevalentemente in ambito ligure, con l'utilizzo di pannelli integrati di caratterizzazione fenotipica, di biologia molecolare e di espressione genica per poter giungere all'utilizzo di flow charts diagnostiche con implicazioni terapeutiche.

Beneficiari

I pazienti affetti da malattia linfoproliferativa a fenotipo B clinicamente di tipo "indolente" classificata nell'ambito della nuova classificazione dei linfomi e delle leucemie secondo WHO 2008.

Consuntivo attività e risultati del progetto a fine 2008

Nel corso del 2008 abbiamo incrementato la raccolta di casi sia di provenienza interna che dalle strutture presenti sul territorio ligure. Sono stati anche studiati casi di localizzazioni extranodali di linfomi ad andamento clinico di tipo indolente e tra questi anche alcuni casi di linfomi splenici di tipo marginale. In tale ambito si sono evidenziati comportamenti anomali dal punto di vista clinico contrassegnati da evoluzione progressiva della malattia con coinvolgimento di altre sedi sia nodali che extranodali collegati ad espressioni fenotipiche e molecolari particolari che le pongono in un ambito di passaggio tra forme clinicamente indolenti per lo meno all'esordio e forme aggressive.

E' stato messo a punto l'utilizzo di un marcatore fenotipico recentemente segnalato in letteratura (AID Activation-induced cytidine deaminase) la cui espressione è in grado di differenziare elementi linfocitari centrofollicolari da quelli extrafollicolari e quindi i linfomi che da tali popolazioni originano. Abbiamo allestito con la metodica del tissue micro array (TMA) una raccolta di tali forme di linfoma per poter espletare indagini di caratterizzazione immunofenotipica utilizzando anticorpi monoclonali per evidenziare anomale espressioni sia di proteine che di trascritti. A questi studi sono inoltre sempre correlate indagini di biologia molecolare eseguite nella struttura semplice Malattie Linfoproliferative (dott.ssa Simona Zupo). Nei prossimi mesi, utilizzando un microscopio con microdissettore laser, metodica già utilizzata per altri studi, saremo in grado di eseguire studi di single cell PCR relativi esclusivamente a distinte popolazioni in particolare di derivazione follicolare, mantellare e marginale, finalizzati ad una più precisa caratterizzazione dei linfomi prevalentemente di tipo indolente che da tali popolazioni traggono origine.

Si sta procedendo alla stesura di un lavoro che compendia i risultati ottenuti in attesa di poter usufruire anche degli ulteriori dati derivanti dalle ultime indagini in corso.