

S.C. Anatomia e Citoistologia Patologica

Identificazione di nuovi fattori prognostici e predittivi ai fini della caratterizzazione biologica e della progressione di malattia nei melanomi della coroide e cutanei

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

Programma: a - Definizione del profilo di rischi individuale in pazienti con neoplasie in fase iniziale o avanzata

Responsabile scientifico: Sandra Salvi

Altro personale della struttura partecipante al progetto: Mauro Truini, Simona Boccardo, Marina Gualco, Barbara Garzoglio

Anno di inizio: 2009

Durata: 36 mesi

Parole chiave: melanoma dell'uvea; melanoma cutaneo; p16; immunoistochimica; FISH

Altre strutture IST partecipanti: S.C. Oncologia Medica A (P. Queirolo); S.C. Chirurgia Toracica (C. Mosci); S.S. Genomica Funzionale (U. Pfeffer); S.C. Genetica dei Tumori (M.P. Pistillo)

Altri Enti coinvolti: S.C Anatomia e Citoistologia Patologica, ASL3 Ge Ponente (L. Anselmi); Dept. of Pathology, The Royal Liverpool and Broadgreen University Hospital, UK (S. Coupland)

Tipologia progetto: clinico-epidemiologica osservazionale

Area di interesse: terapeutica/quality of life

Background

La ricerca si articola in due aspetti principali:

a) Il melanoma dell'uvea è il tumore oculare primitivo più comune. E' una patologia comunque poco frequente. L'età media di diagnosi è circa 55 anni. Dopo i 70 anni si riduce notevolmente la frequenza del tumore, contrariamente a quanto avviene per la maggior parte dei tumori maligni dell'adulto la cui incidenza aumenta con l'età.

L'ereditarietà non sembra avere un ruolo importante, tuttavia una familiarità è stata osservata in alcuni casi. Per il melanoma cutaneo invece è stata riconosciuta un'ereditarietà nel 10% dei casi.

La diagnosi di melanoma uveale viene effettuata in sede clinica. In prima istanza il trattamento è conservativo mediante radioterapia con protoni o ioni di elio o mediante l'applicazione di placche episclerali radioattive; il trattamento chirurgico radicale con enucleazione del bulbo è utilizzato solamente nei casi di tumori molto grandi o quando la terapia conservativa non ha alcun effetto.

La prima sede di localizzazione metastatica, che avviene per via ematica, è al fegato in quasi la totalità dei casi e, dopo la diagnosi clinica di metastasi epatiche, l'aspettativa di vita è estremamente modesta (5, 7 mesi).

Diversi autori hanno notato che le caratteristiche morfologiche del tumore non rappresentavano le uniche variabili prognostiche, infatti anche in presenza di fattori sfavorevoli alcuni pazienti sopravvivevano per anni senza sviluppare metastasi, mentre altri con tumori di basso grado sviluppavano metastasi.

Lo studio della biologia molecolare ha permesso di identificare il ruolo nello sviluppo delle patologie umane delle alterazioni genetiche; in particolare la FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) mediante l'uso di sonde specifiche ha consentito di studiare anche le minime anomalie cromosomiche e il loro ruolo nella trasformazione cellulare. Infatti nella pratica clinica la determinazione di alterazioni cromosomiche può avere importanza sia ai fini prognostici che del trattamento terapeutico. In particolare nel caso del melanoma dell'uvea sono stati identificati la monosomia del cromosoma 3 (Bcl6), riarrangiamenti strutturali che coinvolgono il cromosoma 8 (in genere isocromosoma per il braccio lungo) e la delezione del cromosoma 6. Mentre le alterazioni di quest'ultimo si ritrova anche nei melanomi cutanei, la monosomia del cromosoma 3 e la polisomia del cromosoma 8 sembrano essere specifici per il melanoma dell'uvea: in particolare la perdita di un cromosoma 3 è stata riscontrata solo in questa neoplasia.

Recenti studi in pazienti con melanoma della coroide hanno evidenziato come in particolare la presenza di entrambe le anomalie del cromosoma 3 e 8 sia associata con prognosi sfavorevole, mentre le anomalie del cromosoma 6 indicavano una prognosi favorevole.

b) Negli ultimi decenni, l'incidenza del melanoma cutaneo e la mortalità ad esso correlata sono risultate in continuo aumento in tutto il mondo. Il melanoma colpisce una popolazione di pazienti più giovane rispetto ad altri tumori maligni ed insieme ai linfomi rappresenta una patologia difficile da diagnosticare.

I fattori di rischio per lo sviluppo del melanoma cutaneo sono legati sia a fattori ambientali, come l'eccessiva esposizione ai raggi uv, sia legati a caratteristiche specifiche del singolo individuo o di familiarità. Circa il 10% dei pazienti con melanoma hanno almeno un altro membro della propria famiglia affetto da melanoma. La presenza di questa ereditarietà ha suggerito una base genetica con un meccanismo autosomico dominante.

In circa il 60-70% dei pazienti con melanoma sporadico è presente delezione del gene CDKN2A, mentre una mutazione si osserva solo nel 10 - 15%. Si ritiene che tale delezione possa giocare un ruolo importante nella genesi del melanoma mediante l'alterazione del ciclo cellulare. La proteina p16 è il prodotto del gene CDKN2A localizzato nella regione 9p21. La p16 normalmente regola il ciclo cellulare attraverso la disattivazione del complesso CDK4/6 (Cyclin-Dependent Kinase 4/6) legato alla ciclina D. La p16 mutata o assente non può opporsi al complesso CDK4/6- Cyclin D nella transizione dalla fase G1 alla fase S. I cicli cellulari accelerano e l'indice mitotico aumenta. Si pensa che questo sia uno dei principali eventi nello sviluppo del melanoma. Alcuni lavori di immunoistochimica sull'espressione della p16

Programmazione 2009-2011

hanno dimostrato una perdita di p16 nei melanoma con profonda invasione e nelle metastasi, sebbene non si sia dimostrata una correlazione lineare tra spessore del melanoma e perdita di p16. L'ulcerazione, l'invasione vascolare, l'indice mitotico, lo stadio, un ridotto intervallo libero di malattia, la presenza di metastasi linfonodali e la sopravvivenza a 5 anni sono significativamente correlate nel melanoma alla perdita o alterazione del gene soppressore p16.

Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari

a) Scopo del presente studio è di:

- identificare indicatori prognostici di sviluppo metastatico della malattia, che possano individuare gruppi di rischio su cui poter concentrare l'utilizzo di terapie adiuvanti, confrontando le alterazioni geniche riscontrate (monosomia del cromosoma 3 e polisomia del cromosoma 8) con i markers prognostici standard e di correlarli con gli altri fattori prognostici di sopravvivenza, con il rischio di sviluppo di malattia metastatica e di mortalità e con i parametri clinici ed istologici

- valutare se lo studio del materiale citologico con metodica FISH ottenuto mediante aspirazione con ago sottile (FNABS) è un metodo valido per la determinazione dei parametri genetici prognostici, valutando statisticamente se c'è una buona concordanza tra i risultati ottenuti dai campioni citologici e quelli istologici. E' infatti importante stabilire se tali dati possono essere ottenuti anche dall'esiguo quantitativo di cellule presenti nel solo aspirato, con la possibilità di utilizzare tale metodica per poter fornire un giudizio prognostico ad indirizzo terapeutico ("Metodo Liverpool", Centro di Oncologia Oculare di Liverpool).

- confrontare alcune specifiche differenze con gli studi di espressione genica e proteomica.

b) Ulteriore obiettivo è quello di contribuire con tecniche di immunoistochimica (perdita della proteina p16) e l'uso di biologia molecolare FISH all'identificazione di alterazione di geni coinvolti nella trasformazione melanocitaria e nella progressione tumorale del melanoma cutaneo. Si prevede quindi di selezionare pazienti affetti da melanoma cutaneo sporadico o familiare su cui procedere con analisi immunoistochimica alla perdita o variazione della proteina p16 ed alla caratterizzazione citogenetico-molecolare mediante tecniche di ibridazione in situ delle anomalie cromosomiche clonali dei geni coinvolti.

L'immunocolorazione della proteina p16 sarà valutata con tre differenti parametri: una combinazione di colorazione nucleare e citoplasmatica, solo colorazione citoplasmatica o assenza di colorazione. Saranno osservate le diminuzioni di intensità di colorazione tra nevo e melanoma con metastasi e senza metastasi per valutare una sua correlazione con la presenza di localizzazioni secondarie e sopravvivenza.

Verrà verificata inoltre la possibile correlazione tra le anomalie del gene CDKN2A, lo stato di progressione della malattia e i parametri morfologici, clinici e tradizionali utilizzati a livello prognostico e terapeutico.

L'obiettivo finale è identificare per entrambi espressioni geniche in grado di spiegare l'esclusiva presenza di metastasi a livello epatico nel melanoma della corioide e la massiva diffusione metastatica linfonodale in alcuni casi di melanoma cutaneo non correlate con i parametri istologici quali il livello di infiltrazione (Breslow).

Impatto assistenziale certo o potenziale

a) I risultati di questo studio, mediante l'analisi delle alterazioni citogenetiche (monosomia del cromosoma 3, polisomia del cromosoma 8 e aberrazioni del cromosoma 6), possono, come già dimostrato in alcuni lavori, essere correlati all'andamento ed allo sviluppo della malattia in pazienti con melanoma dell'uvea e identificare gruppi di rischio su cui concentrare l'uso di terapie adiuvanti.

La messa a punto e conseguente utilizzazione della metodica FISH su aspirati con ago sottile (FNABS) oltre che su tessuti inclusi in paraffina, potrebbero dimostrare una significativa correlazione tra l'alterazione dei cromosomi di pazienti affetti da melanoma uveale e la loro prognosi, aprendo così nuove ed importanti prospettive sull'uso di questa procedura diagnostica, identificando con assoluta certezza pazienti che potranno essere trattati con terapia locale senza asportazione del bulbo oculare e pazienti che dovranno essere sottoposti a chirurgia radicale poiché ad alto rischio di malattia metastatica.

b) Le indagini di questo studio rivolto ad analizzare l'immunoattività della proteina p16 e ad evidenziare la delezione della regione 9p21 con metodica FISH saranno effettuate su sezioni istologiche di nevi e melanomi, per confermare i dati riportati in letteratura in relazione all'applicazione del biomarcatore nella diagnosi differenziale tra nevo e melanoma, nella progressione e nella storia naturale del tumore.

Infatti tali dati potrebbero confermare, come già riportato in letteratura, l'importanza dell'espressione della proteina p16 come marker prognostico nei pazienti affetti da melanoma. La valutazione immunoistochimica dello stato di espressione della p16 potrebbe essere un indice prognostico per il trattamento nella terapia del melanoma ed un fattore predittivo per lo stato metastatico dei linfonodi. Tali indagini potrebbero portare ad una diversa condotta terapeutica relativa alla necessità di eseguire una linfadenectomia regionale basata su parametri molecolari nei pazienti con espressione della p16 e delezione della regione 9p21.

Attività programmate 2009-2011 e risultati attesi

a) L'attività del triennio 2009-2011 prevede l'identificazione, in collaborazione con l'Oftalmologia Oncologica dell'IST, dei pazienti da sottoporre alla ricerca sia nell'ambito di uno studio prospettico che per un'analisi retrospettiva su precedenti casi istologici con le caratteristiche sopraindicate:

- pazienti con melanoma uveale senza presenza di metastasi,
- pazienti con melanoma uveale con presenza di metastasi,
- pazienti sottoposti a trattamento conservativo con protoni accelerati o enucleati.

In particolare nel primo anno verrà messa a punto la metodica FISH su aspirati con ago sottile (FNABS) utilizzando il "Metodo Liverpool" (Centro di Oncologia Oculare di Liverpool). I risultati così ottenuti saranno paragonati dove è possibile, con le alterazioni genetiche del cromosoma 3 e del cromosoma 8 ottenute da preparati in paraffina dopo enucleazione degli stessi pazienti, per validazione di tale metodica ai fini prognostici e terapeutici.

Saranno esaminati circa 100 casi ed il maggior numero possibile di casi retrospettivi con follow up. Per i casi prospettici verrà esaminato in contemporanea (dove possibile) sia l'agoaspirato che le sezioni istologiche incluse in paraffina. I pazienti saranno monitorati per il triennio 2009 - 2011.

Programmazione 2009-2011

In un secondo tempo sarà applicata la metodica FISH alle aberrazioni del cromosoma 6 correlate con prognosi favorevole e applicabile dove presente una sola delle precedenti alterazioni (o cromosoma 3, o cromosoma 8). Infine il risultato prognostico dei dati ottenuti saranno inseriti all'interno di un database e correlati con le altre caratteristiche dei singoli pazienti.

Sarà così possibile dimostrare quale potrà essere il trattamento più appropriato per un paziente con melanoma della corioide riducendo il numero dei casi sottoposti a trattamento chirurgico radicale.

b) La valutazione immunohistochemica della proteina p16 e delle delezioni del locus 9p21 sarà effettuata su pazienti con nevi di difficile diagnosi istopatologica: casi di nevo displastico, casi di nevo spitz/reed, casi con melanoma sottile (spessore non superiore a 2 millimetri), casi con linfonodo sentinella positivo e successiva linfadenectomia negativa, casi con melanoma con linfonodo positivo e successiva linfadenectomia positiva.

In particolare, nel primo anno verrà messa a punto la metodica FISH con l'utilizzo della sonda specifica per il gene CDKN2A sulle sezioni dei casi inclusi in paraffina.

Saranno esaminati almeno 100 casi con le caratteristiche sopra elencate e classificati secondo la localizzazione (nucleo e/o citoplasma) della proteina p16 e delezione della regione 9p21. Questi dati possono essere un potenziale valore per pianificare il trattamento chirurgico del melanoma (percentuale di riduzione di pazienti sottoposti a linfadenectomia).

In seguito si procederà all'abbinamento dei risultati ottenuti con le diagnosi istologiche ed alla eventuale revisione dei preparati istologici con dati discordanti.

Track record

Solari N.-Acquati M.-Queirolo P.-Stella M.-Di Somma C.-Truini M.-Cafiero F.

Primary melanoma of the esophagus with non-metastatic dark lymph nodes in a female breast cancer patient.

Anticancer Res. 27:2849/2853, 2007

Solari N.-Gipponi M.-Stella M.-Di Somma C.-Villa G.-Piccardo A.-Gualco M.-Cardinale F.-Cafiero F.

Predictive role of preoperative lymphoscintigraphy on the status of the sentinel lymphnode in clinically node-negative patients with cutaneous melanoma.

Melanoma Res.19(4):243/251, 2009

Relazioni a congressi

Truini M.-Salvi S.-Ferro P.-Boccardo S.-Franceschini M.C.-Pistillo M.P.-Gorji N.-Dessanti P.-Bacigalupo B.-Fedeli F.-Roncella S.

Evaluation of Her-2/neu expression and gene amplification in human pancreatic adenocarcinoma.

Congresso Nazionale SIAPEC-IAP, Bari 25-27 settembre 2008

Boccardo S.-Salvi S.-Gualco M.-Calabrese A.-Mosci C.-Truini M.

Ibridizzazione in situ applicata a casi di melanoma.

XXXIV Incontro di Istopatologia Dermatologica, Torino 26-27 marzo 2009

Salvi S.-Boccardo S.-Gualco M.-Mosci C.-Anselmi L.-Truini M.

Aberrazioni cromosomiche nel melanoma maligno dell'occhio.

XXXIV Incontro di Istopatologia Dermatologica, Torino 26-27 marzo 2009

Importanza della valutazione dell'assetto cromosomico nella definizione della prognosi, diagnosi e scelta terapeutica nelle neoplasie: gliomi e linfomi non-Hodgkin
--

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

Programma: a - Definizione del profilo di rischio individuale in pazienti con neoplasia in fase iniziale o avanzata

Responsabile scientifico: Annalisa Zunino

Altro personale della struttura partecipante al progetto: Laura Ottaggio, Silvia Viaggi

Anno di inizio: 2009

Durata: 36 mesi

Parole chiave: linfomi non Hodgkin; gliomi; citogenetica; FISH; cellule staminali

Altre strutture IST partecipanti: 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); S.C. Oncologia Medica C (M. Colombo)

Altri Enti coinvolti: S.C. Ematologia, A.O.U. San Martino, Genova (M. Spriano - Gruppo Tumori Cerebrali, R. Spaziante - Gruppo Ligure Linfomi, A. Carella)

Tipologia progetto: clinico-epidemiologica osservazionale

Programmazione 2009-2011

Area di interesse: diagnostica

Background

I linfomi non-Hodgkin a cellule B (LNH) includono patologie di aspetto molto eterogeneo. La loro classificazione ha subito molte modifiche. La citogenetica ha contribuito alla definizione di queste patologie e costituisce uno dei parametri presi in considerazione nella definizione della diagnosi. Permangono tuttavia dei tipi di linfomi che risultano di più difficile classificazione sia per la loro rarità che per scarsità di parametri biologici alterati. Questo è il caso dei tumori marginali (MZL), che costituiscono circa il 10% dei LNH. Gli MZL sono tumori ad andamento generalmente indolente, tuttavia talvolta pongono problemi di diagnosi differenziale da patologie più aggressive (es. linfoma mantellare) ed alcuni casi possono evolvere a patologie ad alto grado. Il cariotipo si presenta spesso normale, tuttavia alcune anomalie più frequenti sono riportate in letteratura (trisomia 3, delezione 7q, t(11;18), trisomia 18) e differiscono a seconda dei sottotipi presi in considerazione. Anche la frequenza con cui queste anomalie vengono riscontrate differisce nei diversi studi.

Il mieloma multiplo (MM) è una neoplasia monoclonale a cellule B, che originano teoricamente dal centro germinativo del linfonodo, ma che si localizzano ed espandono nel midollo osseo. Gli MM rappresentano circa il 10% dei tumori ematologici e in un terzo dei casi questa patologia può essere preceduta da una fase di gammopatia monoclonale di significato incerto (MGUS). La sopravvivenza va da pochi mesi a più di venti anni, con una mediana, nonostante la chemioterapia, di non più di 24-36 mesi. L'introduzione di chemioterapia ad alto dosaggio supportata da trapianto autologo, ha innalzato la mediana di sopravvivenza sino a più di 5 anni. Tuttavia, una grande variabilità nella sopravvivenza di questi pazienti permane. Di conseguenza lo studio dei fattori prognostici che possano non solo predire la sopravvivenza, ma anche indirizzare la terapia si è molto sviluppato negli ultimi anni. Le aberrazioni più frequenti sono il guadagno del cromosoma 11q e la delezione della regione 13q14. Le traslocazioni coinvolgono principalmente la regione 14q32 e avvengono con partner differenti (cromosoma 4, cromosoma 11, cromosoma 16); la delezione di p53, sebbene non frequente, è importante per la cattiva prognosi che ne consegue. L'impiego della tecnica FISH interfascica permette di individuare anomalie cromosomiche in un numero maggiore di pazienti, in particolare se associata a un metodo per marcare o separare le plasmacellule, per meglio identificare le cellule neoplastiche.

I gliomi costituiscono più del 70% dei tumori cerebrali. Il glioblastoma è il più comune e il più maligno tra i gliomi (65%). Meno del 3% dei pazienti affetti da glioblastoma è ancora vivo a 5 anni dalla diagnosi. La classificazione dei gliomi comprende 4 classi (I, II, III, IV) con grado crescente di malignità e invasività. Nell'ultimo decennio sono stati fatti molti progressi per quanto concerne la genetica di queste neoplasie; si è visto che la codelezione delle regioni 1p36 e 19q13 sono indice di un migliore andamento della malattia e di risposta alla terapia. Mentre altre anomalie, osservate prevalentemente nei glioblastomi (del(10q23), del(9p21) e amp(7p12)), sono indice di cattiva prognosi. I glioblastomi possono essere primari o possono essere l'evoluzione di tumori a basso grado (secondari). Esiste uno studio in cui sembra che i due tipi di tumore possano essere distinti in base alle loro caratteristiche citogenetiche. La conferma di questo dato potrebbe rivestire una importanza non solo per migliorare le conoscenze sull'evoluzione di questa patologia, ma anche da un punto di vista clinico; infatti, glioblastomi primari e secondari hanno una prognosi diversa. Infine, esistono evidenze che gran parte della resistenza dei gliomi maligni al trattamento radio-chemioterapico sia da attribuire alle cellule staminali tumorali che presentano alterazioni nei meccanismi di risposta al danno al DNA o di riparazione dello stesso danno.

Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari

Obiettivo del progetto è quello di individuare la/e anomalia/e che permettono di discriminare con sempre maggiore accuratezza le patologie a diversa prognosi ed indirizzare la terapia.

Altro obiettivo è quello di individuare le diverse anomalie cromosomiche e confrontarle con dati ottenuti studiando diversi parametri, nonché con i dati clinici dei pazienti.

Lo studio delle cellule staminali tumorali dei glioblastomi ci permetterà inoltre di individuare anche eventuali nuove anomalie cromosomiche.

Impatto assistenziale certo o potenziale

Uso del pannello di anomalie nella classificazione della malattia e nella scelta terapeutica.

Attività programmate 2009-2011 e risultati attesi

Nel presente studio si prenderanno in considerazione le sopra citate anomalie nel MZL e nel MM, al fine di effettuare un confronto con l'andamento clinico dei pazienti. Il metodo utilizzato sarà quello della FISH interfascica. Nel caso del MM si procederà anche alla separazione delle plasmacellule.

Per quanto concerne i gliomi si prenderanno in considerazione le principali anomalie cromosomiche in tumori di diverso grado, operando in seguito un confronto con l'andamento clinico del paziente. Particolare attenzione sarà dedicata ai glioblastomi per individuare più accuratamente le anomalie che ci permetteranno di distinguere tra primari e secondari. Infine, per quanto concerne le cellule staminali tumorali dei glioblastomi, saranno valutate le anomalie cromosomiche; un confronto con diversi parametri biologici ci potrà offrire maggiori informazioni sui geni effettivamente coinvolti nei differenti tipi di patologia.

Al termine del primo anno ci si attende di esaminare un congruo numero dei pazienti affetti da MZL. I dati si confronteranno con quelli ottenuti da altre strutture partecipanti al progetto.

Per quanto concerne il MM abbiamo già a disposizione un numero consistente di casi che ci proponiamo di incrementare effettuando un confronto con i dati clinici.

Per quanto concerne i gliomi, sono già stati esaminati alcuni casi, ma avendo messo a punto il metodo FISH su materiale incluso in paraffina, si potrà accedere agli archivi ed esaminare anche casi meno recenti.

Infine per quanto concerne le cellule staminali tumorali di glioblastoma saranno allestiti i cariotipi ed effettuati eventuali confronti con i dati provenienti da altri partecipanti al progetto.

Programmazione 2009-2011

Track record

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. 15:1689/1700, 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(1):39/42, 2008

Ropolo M.-Daga A.-Griffero F.-Foresta M.-Casartelli G.-Zunino A.-Poggi A.-Cappelli E.-Zona G.-Spaziante R.-Corte G.-Frosina G.
Comparative analysis of DNA repair in stem and nonstem glioma cell cultures.
Mol. Cancer. Res. 7(3):383/392, 2009

Studio della componente neuroendocrina nei tumori ovarici di derivazione dall'epitelio di superficie (epithelial-stromal type) e correlazione della stessa con l'evoluzione clinica e la prognosi delle neoplasie

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

Programma: a - Definizione del profilo di rischio individuale in pazienti con neoplasie in fase iniziale o avanzata

Responsabile scientifico: Marina Gualco

Altro personale della struttura partecipante al progetto: Mauro Truini, Marco Mora, Sandra Salvi

Anno di inizio: 2009

Durata: 36 mesi

Parole chiave: tumori epiteliali dell'ovaio; tumori misti neuroendocrini-epiteliali; marcatori neuroendocrini

Altre strutture IST partecipanti: S.C. Oncologia Medica C (M. Bruzzone)

Altri Enti coinvolti: U.O. Anatomia Patologica Universitaria, A.O.U. San Martino, Genova (E. Fulcheri)

Tipologia progetto: clinico-epidemiologica osservazionale

Area di interesse: diagnostica

Background

Le neoplasie originanti dal Sistema Neuroendocrino possono essere suddivise in due grandi gruppi: 1) neoplasie di tipo neurale (neuroblastoma, feocromocitoma e paraganglioma), 2) neoplasie di tipo epiteliale (carcinoidi e tumori neuroendocrini).

Per quanto riguarda le neoplasie di tipo epiteliale si è avuta negli ultimi anni una revisione della nomenclatura ed una nuova catalogazione è stata proposta e successivamente inserita nella più recente classificazione dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO) (Solcia E et al, 2000), che suddivide i tumori neuroendocrini in: 1) tumori endocrini ben differenziati, 2) carcinomi endocrini ben differenziati (small o large cell carcinoma), 4) tumori misti esocrini-endocrini. Tale classificazione è stata elaborata tenendo conto di una serie di criteri quali la sede, il volume, la documentata presenza di metastasi, la presenza di angioinvasione, o ancora il tipo di secrezione ormonale e la presenza o meno di una sindrome clinica associata.

Le neoplasie caratterizzate dalla combinazione di una componente di tipo neuroendocrino ed una componente esocrina epiteliale di tipo non neuroendocrino - per esempio ghiandolare, squamosa o uroteliale - sono ben conosciute in letteratura e possono insorgere in vari organi, con variabile entità della commistione tra tali due componenti: ad un estremo dello spettro sono rappresentate le neoplasie neuroendocrine pure, costituite interamente da elementi neuroendocrini, mentre all'estremo opposto sono rappresentate le neoplasie esocrine pure, costituite interamente da elementi epiteliali e prive di una anche minima componente cellulare esocrina. Esistono poi entità nosografiche descritte in letteratura comprese tra le neoplasie "pure" sopradescritte; in esse la presenza di una differenziazione neuroendocrina si esprime in percentuali variabili rispetto alla massa neoplastica totale (teoricamente da 1 a 99%) e con pattern morfologici diversi ma principalmente riferibili alla presenza di singole cellule sparse disordinatamente nel contesto della neoplasia epiteliale ovvero alla formazione di aree organizzate in trabecole, cordoni o nidi e plaghe solide, a configurare aspetti di tipo "organoide" talora ben riconoscibili e distinguibili dalla neoplasia epiteliale circostante.

Accade invece meno frequentemente di rilevare la presenza di focali aree di differenziazione epiteliale all'interno di neoplasie neuroendocrine come, per esempio, nel carcinoma a piccole cellule del polmone che esprime in alcuni casi foci di adenocarcinoma o di carcinoma squamoso.

Per ciò che concerne i tumori primitivi dell'ovaio, la classificazione WHO non prevede, come accade invece per altri organi, la distinzione tra una forma "pura" di tumore neuroendocrino e una forma "mista", bensì considera, per esempio, caratteristica peculiare del carcinoma neuroendocrino a grandi cellule l'aver associata una componente

Programmazione 2009-2011

esocrina costituita da una neoplasia ovarica di superficie (epithelial-stromal type), nei vari istotipi e nei vari gradi di malignità con cui essa possa presentarsi.

E' però da notare che sono presenti in letteratura diversi casi segnalati di neoplasie ovariche di derivazione dall'epitelio di superficie (epithelial-stromal type) e di Tumori Mulleriani Misti Maligni (TMMM) primitivi ovarici con presenza di una componente cellulare di tipo neuroendocrino, organizzata in strutture solide o trabecolari e in cellule singole e disperse nella componente epiteliale.

I lavori presenti in letteratura circa la presenza di cellule neuroendocrine nelle neoplasie ovariche epiteliali di superficie (epithelial-stromal type) risalgono complessivamente ad un periodo che va dal 1980 al 2000 ma buona parte di essi - circa la metà - è anteriore agli anni '90, con ciò sottintendendo una minore standardizzazione delle metodiche immunoistochimiche - quando eseguite - di quanto non si abbia oggi nei moderni laboratori.

I risultati della maggior parte di tali lavori, inoltre, potrebbero essere inficiati dall'utilizzo in prima battuta di metodiche istochimiche (Grimelius) per la dimostrazione della componente neuroendocrina, che presentano aspetti di sensibilità e specificità non paragonabili alle metodiche immunoistochimiche ed hanno inoltre una intrinseca - seppur lieve - variabilità dei risultati legata alla varietà dei reagenti utilizzati da laboratorio a laboratorio, delle procedure, nonché dell'operatore stesso.

Lo studio più recente (Changxin, 2000), condotto invece con un appropriato pannello di marcatori immunoistochimici (Cromogranina A) è effettuato su una casistica di soli tumori mucinosi, escludendo gli istotipi sieroso ed endometrioidi.

A prescindere quindi dalla complessiva affidabilità dei risultati presentati dai lavori suddetti, che hanno il pregio di porre l'attenzione su un aspetto poco studiato della patologia tumorale ovarica, è chiaro come in letteratura non siano presenti dati sufficientemente ampi e precisi circa la presenza di una componente neuroendocrina nelle neoplasie ovariche di superficie ed in particolare in quelle ad istotipo sieroso ed endometrioidi.

Di tale componente neuroendocrina minoritaria non è fatta menzione nella classificazione WHO dei tumori ovarici di superficie (epithelial-stromal type), escludendo il dato riportato circa la possibile presenza di cellule di Paneth (eutipiche e morfologicamente ben distinguibili) nell'ambito dei cistoadenomi mucinosi di tipo intestinale.

Parimenti, non vi sono in letteratura studi che esprimano risultati certi e definitivi circa l'impatto che tale componente potrebbe avere in senso prognostico o in relazione all'orientamento terapeutico. La componente a differenziazione neuroendocrina è considerata fattore prognostico sfavorevole per gli adenocarcinomi della prostata (Berruti A et al, 2005; Bollito E et al, 2001); in tali tumori la componente neuroendocrina assume più spesso il pattern a cellule singole sparse ed il numero di esse aumenta in rapporto all'aumentare del grado sec. Gleason, divenendo massimo nelle aree a struttura solido-trabecolare (Gleason 5).

La presenza di una componente neuroendocrina cospicua (occasionalmente anche maggiore del 30%) è osservata frequentemente nelle prostatectomie per carcinoma eseguite dopo cicli di ormonoterapia e più frequentemente ancora in quelle neoplasie ormonoresistenti (Bollito E et al, 2001; Eble JN et al, 2004; Helpap B, Kloppel G, 2002).

Inoltre appare interessante il dato che adenocarcinomi del retto operati dopo chemioterapia o radioterapia neoadiuvanti mostrino componenti neuroendocrine cospicue, forse riflettendo la maggiore resistenza delle cellule neuroendocrine - tipicamente poco proliferanti - alle terapie antiblastiche convenzionali ed oggi utilizzate (Shia J et al, 2002).

Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari

L'obiettivo generale della presente proposta è quello di fornire dati circa la presenza, la frequenza e la morfologia di elementi di tipo neuroendocrino nei carcinomi primitivi ovarici di derivazione dall'epitelio celomatico di superficie (epithelial-stromal type) mediante l'utilizzo di marcatori immunoistochimici di differenziazione neuroendocrina (Cromogranina A, Sinaptofisina e CD56).

Inoltre si valuterà la struttura (solida o in cellule singole) con cui tali elementi si organizzano nell'ambito delle neoplasie suddette.

I dati relativi alla presenza - anche quantificata - della componente neuroendocrina saranno poi correlati con i dati relativi al comportamento biologico delle neoplasie in studio, quali lo stadio al momento della diagnosi, il grado di differenziazione e tutti i dati circa l'evoluzione della neoplasia (follow-up) forniti dai colleghi oncologi.

Obiettivo secondario è quello di valutare la specificità e la sensibilità dei marcatori immunoistochimici utilizzati nel rilevare gli elementi cellulari di tipo neuroendocrino e di identificare quelli più idonei per la evidenziazione di tale componente, se esigua.

Impatto assistenziale certo o potenziale

Impatto assistenziale potenziale del progetto, può essere quello di una ricaduta in termini di diversificazione della strategia terapeutica e di follow-up nelle neoplasie contenenti una componente di tipo neuroendocrino, qualora tale componente dovesse risultare fattore prognostico, analogamente a quanto si cerca di ottenere nell'ambito, per esempio, delle neoplasie neuroendocrine intestinali e polmonari.

Attività programmate 2009-2011 e risultati attesi

I casi di neoplasia ovarica di derivazione dall'epitelio di superficie (Epithelial-stromal type) che perverranno alla S.C. di Anatomia e Citoistologia Patologica dell'IST per le attività di diagnostica routinaria (anche intraoperatoria) verranno in aggiunta studiati per evidenziare l'eventuale presenza di una componente di tipo neuroendocrino.

Di tali casi verranno effettuati l'esame macroscopico e la campionatura secondo i canoni standard in uso nella suddetta struttura, con inclusione dei prelievi in paraffina.

Da ognuno dei blocchetti di inclusione si otterranno sezioni microtomiche dello spessore di 3 µm per le successive indagini istologiche e immunoistochimiche.

Per quanto riguarda le indagini immunoistochimiche, l'amplificazione del segnale sarà ottenuta mediante metodica con polimeri e come cromogeni saranno utilizzati la diaminobenzidina o il fast-red. Gli appropriati controlli positivi (mucosa ossintica dello stomaco e tumore carcinoide polmonare) e negativi saranno inseriti nella procedura simultaneamente ai casi. Le immunocolorazioni saranno eseguite mediante l'ausilio di un immunocoloratore automatico.

Anatomopatologi del reparto saranno dedicati alla lettura dei preparati istologici, provvedendo alla diagnosi secondo la classificazione WHO delle neoplasie ovariche e dei preparati immunoistochimici, valutando la presenza o meno di una

Programmazione 2009-2011

componente neuroendocrina nelle neoplasie in studio e, quando presente, quantificando la stessa in percentuale sul totale del volume neoplastico (ottenuto da una campionatura in toto della neoplasia) e valutando il grado di aggregazione degli elementi a differenziazione neuroendocrina e la struttura di una eventuale componente aggregata. Indagini metodologicamente sovrapponibili saranno effettuate anche nella casistica relativa all'U.O. Anatomia Patologica Universitaria dell'A.O.U. San Martino di Genova (Prof. Ezio Fulcheri). Nel corso del primo anno si ritiene di poter raccogliere circa 20 casi in entrambi i centri che aderiscono, da aggiungersi ai 50 casi già raccolti negli anni 2001-2008.

Track record

Gaggero G.-Sola S.-Mora M.-Fulcheri E.
Expression of the cdx2 gene in benign intestinal-type mucinous ovarian tumors.
Pathologica 95(4):185/191, 2003

Gualco M.-Bonin S.-Foglia G.-Fulcheri E.-Odicino F.-Prefumo F.-Stanta G.-Ragni N.
Morphologic and biologic studies on ten cases of verrucous carcinoma of the vulva supporting the theory of a discrete clinico-pathologic entity.
Int. J. Gynecol. Cancer 13(3):317/324, 2003

Ragni N.-Ferrero S.-Prefumo F.-Muschiato B.-Gorlero F.-Gualco M.-Fulcheri E.
The association between p53 expression, stage and histological features in endometrial cancer.
Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 123(1):111/116, 2005

Relazioni a congressi

Bruzzone M.-Mencoboni M.-Mammoliti S.-Boccardo F.-Tacchini L.-Sonaglio C.-Miglietta L.
Second line chemotherapy with gemcitabine and vepesid in platinum resistant advanced ovarian cancer patients.
Proceedings ASCO 23:468, abs 5082, 2004

Bruzzone M.-Tacchini L.-Mammoliti S.-Boccardo F.-Ferrarini M.-Miglietta L.
Second line chemotherapy with e.v gemcitabine and oral vepesid in platinum resistant advanced ovarian cancer patients.
XXX Congresso Naz. S.I.T., 14-16/X/2004

Franzone P.-Miglietta L.-Tacchini L.-Foppiano F.-Bruzzone M.-Scolaro T.-Giannelli F.-Ferrarini M.-Vitale V.
Pilot phase ii trial with cisplatin - paclitaxel treatment and concurrent external and endocavitary radiotherapy in locally advanced cervical cancer.
Radiother. Oncol. 71(suppl. 2):S78 166 poster, 2004

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

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

Programma: b - Predizione della risposta ai trattamenti, inclusa la possibilità di valutare precocemente la risposta definitiva

Responsabile scientifico: Laura Ottaggio

Altro personale della struttura partecipante al progetto: Silvia Viaggi, Annalisa Zunino

Anno di inizio: 2009

Durata: 36 mesi

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

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

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

Tipologia progetto: clinico-epidemiologica osservazionale

Area di interesse: descrittiva a fini conoscitivi

Soggetti cofinanziatori: Compagnia di 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

Programmazione 2009-2011

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. La delezione della regione 13q14, che rappresenta l'aberrazione più frequentemente riscontrata nei pazienti B-CLL (40-60% dei casi), non sembra rivestire un particolare valore prognostico. Studi recenti hanno invece correlato la presenza di aberrazioni specifiche con l'andamento clinico e la risposta terapeutica: la delezione del cromosoma 17p, seppur presente solo nel 10% dei casi, risulta il fattore prognostico peggiore, indicativo di tempo minore di sopravvivenza e di refrattarietà alla terapia. Sul cromosoma 17p mappa il gene oncosoppressore p53 che, nonostante non sia 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 con agenti alchilanti. La seconda aberrazione cromosomica più frequentemente riscontrata nelle B-CLL è la delezione in 11q (presente nel 15-30% dei casi) che 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.

Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari

Analisi di pazienti affetti da B-CLL con metodologie di citogenetica molecolare per la ricerca di correlazioni tra la presenza di aberrazioni cromosomiche specifiche e/o di eventuali associazioni fra aberrazioni specifiche (quali trisomia 12 e 18) e parametri clinici e biologici a carattere prognostico.

Ci si propone inoltre di:

- 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 composti con attività antimitotica o proapoptotica
- verificare la presenza di mutazioni p53 in pazienti B-CLL che presentano delezione sul cromosoma 17p al fine di identificare pazienti potenzialmente resistenti alla terapia con farmaci che inducono arresto del ciclo cellulare o apoptosi attraverso riattivazione di p53
- proseguire il follow up dei pazienti.

Impatto assistenziale certo o potenziale

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

Attività programmate 2009-2011 e risultati attesi

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 evidenziato, 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. Nel corso del primo anno verrà valutata la presenza di trisomia 18 in quei pazienti che, all'interno di una cohorte di circa 300 pazienti esaminati con tecniche FISH, mostravano trisomia 12. L'associazione fra queste due aberrazioni verrà considerata in relazione al decorso della malattia per evidenziare eventuali stratificazioni del rischio e per valutare il valore prognostico di questa associazione di aberrazioni cromosomiche.

Inoltre, poiché le aberrazioni trovate nei pazienti B-CLL coinvolgono geni che partecipano alla regolazione della duplicazione dei centrosomi, è possibile che aberrazioni a carico di questi organelli cellulari, nelle varie componenti proteiche, possano costituire un marcatore prognostico. I centrosomi, infatti, risultano amplificati in presenza di alterazioni del pathway di ATM o, più in generale, nelle cellule tumorali. Verranno quindi studiate eventuali aberrazioni a carico di questi organelli cellulari in relazione alla stabilità mitotica in questa patologia o in modelli cellulari tumorali. Nel corso del primo anno verrà valutata la presenza di cloni proliferanti in una cohorte di circa 64 pazienti esaminati in precedenza, che mostravano aberrazioni dei centrosomi (numeriche o strutturali).

Il tumore polmonare non a piccole cellule (NSCLC) costituisce un buon modello sperimentale poiché, parimenti alle B-CLL, le cellule di NSCLC generalmente mostrano resistenza all'apoptosi. Utilizzando queste cellule sarà verificata l'efficacia di alcune molecole note per riattivare funzionalmente p53 nell'indurre apoptosi. Lo stesso modello sperimentale sarà usato per testare nuove molecole con effetto antimitotico. Il farmaco antineoplastico con attività antimitotica più noto è il tassolo, estratto da una gimnosperma a lenta crescita. Proseguiranno gli studi per verificare se altre specie vegetali possiedono la via metabolica per la produzione dei tassani. Estratti di diverse specie vegetali verranno testati nel modello sperimentale descritto.

Track record

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.-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

Programmazione 2009-2011

Miele M.-Bestoso F.-Balbi A.-Mazzei M.-Piras D.-Ottaggio L.
New sources of Taxol and taxanes to be used as antimetabolic 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

Integrazione semantica dei dati in oncologia: obiettivo bioinformatica clinica

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

Programma: b - Predizione della risposta ai trattamenti, inclusa la possibilità di valutare precocemente la risposta definitiva

Responsabile scientifico: Paolo Romano

Anno di inizio: 2009

Durata: 36 mesi

Parole chiave: bioinformatica clinica; integrazione dati molecolari e clinici; database; workflow management systems; semantic web

Altre strutture IST partecipanti: 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: Dip. di Informatica, Sistemistica e Telematica, DIST, Università di Genova (M. Giacomini); Istituto G. Gaslini, Genova (L. Varesio); Istituto Scienze delle Macromolecole, CNR, Genova (P. Arrigo); Istituto Scienze delle Alimentazione, CNR, Avellino (A. Facchiano); Softeco Sismat, Genova (G. Viano); University of Malaga, Spain (O. Trelles, J. F. Aldana Montes); Rothamsted Research, Harpenden, UK (A. Splendiani); Technical University of Dresden, Germany (M. Schroeder)

Tipologia progetto: tecnologie abilitanti

Area di interesse: descrittiva a fini conoscitivi

Soggetti cofinanziatori: MIUR; Istituto Superiore di Sanità; Regione Liguria

Background

La disponibilità di una ingente mole di informazioni, la distribuzione dei dati sulla rete Internet e l'eterogeneità dei relativi sistemi informativi rendono la gestione e l'integrazione dei dati biomolecolari compiti molto complessi e onerosi. D'altronde, la ricerca biomedica dipenderà sempre più dall'analisi delle informazioni disponibili on-line sulla rete Internet e la bioinformatica diventerà il più importante strumento di supporto all'analisi per i ricercatori e per i clinici. La prospettiva finale di tale integrazione è la possibilità di correlare strettamente i dati molecolari e clinici nell'ottica di orientare la pratica diagnostica e terapeutica alla medicina personalizzata.

Si deve quindi passare da una gestione dei dati e delle informazioni prevalentemente manuale a una innovativa modalità di gestione e analisi dati a larga, prevalente, componente automatica.

Questo cambiamento è reso possibile dalle tecnologie ICT che, se supportate da una adeguata definizione sintattica e semantica delle informazioni e dall'adozione di standard condivisi, consentono la realizzazione di strumenti di gestione e analisi dei dati altamente "friendly" per l'utente finale (ricercatore, clinico, tecnico) in grado di interagire in maniera efficiente ed efficace con i sistemi informativi che gestiscono la notevole mole di dati biologici disponibili.

Gli elementi chiave per il raggiungimento di questi obiettivi sono: i) lo sviluppo di modelli di dati biologici condivisi e la loro strutturazione formale tramite linguaggi basati su XML, ii) lo sviluppo di database innovativi basati sui linguaggi XML e su altri linguaggi a contenuto semantico esplicito, quali RDF e RDF(S), iii) i Web Services, sia tradizionali, che di tipo semantico, che consentono l'interoperabilità dei sistemi informativi, iv) le ontologie biologiche, nelle loro diverse concezioni (standardizzazione dei dati, annotazione dei database, standardizzazione dei tipi di dati ed elaborazioni), v) i workflow management systems per la creazione di procedure automatizzate di recupero e analisi delle informazioni che consentono di riprodurre l'analisi, riutilizzare i risultati intermedi e aumentare l'efficacia e l'efficienza delle procedure stesse, vi) le tecnologie legate al Semantic Web, che consentono la validazione logica e formale dei dati e l'induzione di nuove informazioni e di conoscenza in maniera automatica (tramite strumenti di reasoning), vii) tecnologie software per il data mining e per il text mining.

La proposta progettuale intende sviluppare un'attività di ricerca già in atto da diversi anni. Il progetto strategico MIUR O2I (Oncology Over Internet), finanziato dal 2002 al 2005, e il progetto FIRB LITBIO (Laboratorio Interdisciplinare di Tecnologie Bioinformatiche), finanziato dal 2005 al 2010, sono gli ultimi progetti nel cui ambito si sono acquisite le

Programmazione 2009-2011

competenze che si intende ora mettere a frutto, anche grazie al finanziamento concesso recentemente dalla Regione Liguria per una borsa di dottorato su "Liguria eScience (LeS) – Integrazione semantica delle informazioni biomediche a scopo di ricerca di base e traslazionale e per la clinica" (corso di Dottorato di Bioingegneria, proposta di P. Romano, IST, e M. Giacomini, DIST).

Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari

L'obiettivo generale del progetto consiste nello sviluppo di procedure automatizzate per l'integrazione dei dati molecolari e clinici a supporto delle attività di ricerca di base e traslazionale dell'Istituto e degli altri istituti interessati, utilizzando strumenti ICT innovativi, basati sulla semantica delle informazioni.

Questo obiettivo si lega agli obiettivi della linea 3 del piano di programmazione IST 2009-2011 e in particolare alla valutazione del profilo di rischio individuale dei pazienti in relazione alla caratterizzazione bio-molecolare del tumore con l'ausilio di nuove tecnologie, all'individuazione dell'impatto delle caratteristiche individuali dei pazienti e del tumore sulla risposta ai trattamenti e, infine, allo sviluppo di sistemi informativi aggiornati per il SSN.

Per raggiungere questo obiettivo, si intende agire in diverse direzioni:

- sviluppare ulteriormente le competenze del gruppo, alla luce delle rapide innovazioni tecnologiche nel settore ICT, oltre che dei ricercatori interessati,
- analizzare le procedure di analisi dati utilizzate dalle Strutture con le quali si svolge la collaborazione, nell'ottica di definire le migliori modalità di automazione e, nello stesso tempo, studiare diverse modalità di implementazione, che meglio si prestino all'automazione stessa,
- progettare e implementare nuovi sistemi informativi, basati sulle tecnologie ICT citate, di supporto all'automazione delle procedure d'analisi dati, di semplice utilizzo per i ricercatori e in grado di consentire la riproducibilità delle analisi e il riuso dei risultati intermedi,
- progettare e implementare sistemi informativi e strumenti software complementari di interesse e utilizzo più generali.

Questo progetto mira anche a superare l'"impasse" che caratterizza la realtà della ricerca ligure in questo settore, realtà ancora troppo frammentata e non finalizzata. Da un lato (Università), si hanno le competenze necessarie per affrontare in maniera adeguata la problematica evidenziata, ma manca l'esperienza concreta del problema. Dall'altro (IST, Gaslini), ci si confronta quotidianamente con i problemi evidenziati, ma senza avere le competenze necessarie per superarli e, nello stesso tempo, senza quella consapevolezza delle possibili soluzioni che sarebbe necessaria per affrontare un cambiamento sostanziale, se non radicale delle procedure in uso. La competenza interdisciplinare presente in alcuni Istituti (IST, CNR) si scontra quindi con la mancata visione d'insieme degli altri partner e questo rende di fatto molto difficile lo sviluppo e l'adozione di soluzioni efficaci ed ottimali, sia per i risultati che per la qualità del prodotto. Per questo motivo, la collaborazione tra gli Istituti coinvolti diventa a tutti gli effetti strategica.

Impatto assistenziale certo o potenziale

Gli obiettivi del progetto proposto si prestano a favorire non solo la ricerca, ma anche l'assistenza sanitaria. In effetti, la possibilità di implementare procedure automatiche per l'analisi dei dati in-silico da un lato consente di migliorare l'efficienza e l'efficacia dell'attività di ricerca e dall'altro, conseguentemente, di ridurre l'impatto delle sperimentazioni di laboratorio e cliniche favorendo l'ottimizzazione della selezione delle molecole attive, la simulazione dei sistemi biologici cellulari e sub-cellulari, l'identificazione di nuovi target diagnostici e prognostici e di pazienti candidati ai trials clinici. Inoltre, l'integrazione dati non riguarda solo le informazioni di biologia molecolare. L'analisi della variabilità genetica individuale e delle mutazioni puntiformi, nonché delle relative conseguenze funzionali, e l'analisi delle correlazioni con i dati clinici sono studi fondamentali per la medicina personalizzata che promette di affrontare con successo molte delle attuali problematiche di inefficacia delle cure somministrate in maniera indiscriminata, o meglio non individualizzata.

A fianco delle attività legate prevalentemente alla ricerca di base, si sta infatti affermando anche un settore di interesse traslazionale e clinico, la Bioinformatica Clinica. L'integrazione delle informazioni cliniche dei pazienti oncologici con informazioni genomiche può effettivamente orientare la pratica diagnostica e terapeutica alla medicina personalizzata.

Attività programmate 2009-2011 e risultati attesi

Per raggiungere gli obiettivi del progetto, si intende svolgere le seguenti attività:

- sviluppo delle competenze del gruppo e dei ricercatori interessati partecipando, organizzando e svolgendo attività di formazione e aggiornamento sulle nuove tecnologie ICT,
- analisi delle procedure utilizzate dalle Strutture che collaborano al progetto, per definire le migliori modalità di automazione e, nello stesso tempo, studiare diverse modalità di implementazione, che meglio si prestano all'automazione stessa,
- progettare e implementare nuovi sistemi informativi, basati sulle tecnologie ICT citate, di supporto all'automazione delle procedure d'analisi dati, di semplice utilizzo per i ricercatori e in grado di consentire la riproducibilità delle analisi e il riuso dei risultati intermedi,
- progettare e implementare sistemi informativi e strumenti software complementari di interesse e utilizzo più generali, orientati all'applicazione clinica.

Nel corso della ricerca si svilupperanno strette collaborazioni con gli Istituti interessati per la validazione dei risultati e l'implementazione degli strumenti sviluppati in vari ambiti biomedici, quali la genomica funzionale, la proteomica, la clinica oncologica. Appare infatti essenziale che alla fine del triennio progettuale le competenze accumulate, le collaborazioni strette e gli strumenti sviluppati possano essere portati in un ambito biomedico concreto per poterne dimostrare la validità.

Il primo anno di attività sarà un anno di organizzazione e preparazione, con attività prevalentemente rivolte all'assestamento degli strumenti già sviluppati negli anni passati e alla loro promozione tra i ricercatori sotto forma di formazione/aggiornamento. Per il primo anno di attività si intende quindi:

- organizzare un corso sull'utilizzo di strumenti di workflow management per l'automazione dell'analisi di dati di espressione genica generati con microarray, in collaborazione con la S.S. Genomica Funzionale IST

Programmazione 2009-2011

- organizzare un corso sull'utilizzo di strumenti di workflow management per l'automazione dell'analisi di dati di proteomica, in collaborazione con l'ISA/CNR di Avellino
- rivedere il funzionamento del portale biowep (bioinformatica workflow enactment portal), aggiornando il software relativo all'esecuzione dei workflow con la versione più aggiornata di Taverna
- controllare il funzionamento dei workflow presenti nel portale biowep e aggiornarli sulla base delle nuove API disponibili per i sistemi informativi utilizzati
- sviluppare nuovi workflow negli ambiti di interesse prevalente (genomica comparativa, genomica funzionale, proteomica, gestione banca cellule, bioinformatica clinica)

Track record

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", Hofstadt R. Ed.
Shaker Verlag (Aachen), p. 111/121, 2006

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

Romano P.
Automation of in-silico data analysis processes through workflow management systems.
Brief. Bioinform. 9(1):57/68, 2008

Romano P.-Marra D.
SWS: accessing SRS sites contents through Web Services.
BMC Bioinform. 9(Suppl 2):S15, 2008

Cannata N.-Schröder M.-Marangoni R.-Romano P.
A semantic web for bioinformatics: goals, tools, systems, applications,
BMC Bioinform. 9(Suppl 4):S1, 2008