

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PISA

Facoltà di Medicina e Chirurgia



TESI DI LAUREA

**Studio clinico di fase II in aperto multicentrico sul  
trattamento di prima linea con irinotecano,  
oxaliplatino, e 5-fluorouracile/leucovorin infusione  
(FOLFOXIRI) in combinazione con bevacizumab in  
pazienti con carcinoma del colon-retto metastatico**

**RELATORE**

*Chiar.mo Prof. Alfredo Falcone*

**CANDIDATO**

*Marconcini Riccardo*

*Anno Accademico 2007-2008*

A Renato, Morena e Chiara:  
la mia meravigliosa famiglia.

# **INDICE**

<b>RIASSUNTO</b>	<b>pag.5</b>
<b>CAPITOLO 1: IL CARCINOMA DEL COLON-RETTO</b>	
1.1 Epidemiologia	pag.9
1.2 Eziologia e fattori di rischio	pag.13
1.3 Sindromi ereditarie	pag.19
1.4 Screening e prevenzione	pag.26
1.5 Anatomia patologica	pag.32
1.6 Sintomatologia e diagnosi	pag.44
1.7 Stadiazione e prognosi	pag.49
1.8 Cenni di terapia chirurgica	pag.58
1.9 Cenni di radioterapia adiuvante	pag.67
1.10 Cenni di chemioterapia adiuvante	pag.77
1.11 Ruolo della chemioterapia nel trattamento del carcinoma coloretale metastatico	pag.85
1.12 Le metastasi epatiche	
1.12a Caratteri generali	pag.105
1.12b Valutazione clinica e strumentale	pag.106
1.12c Trattamento delle metastasi epatiche da carcinoma coloretale	pag.109
1.13 Farmaci a bersaglio molecolare	pag.122
<b>CAPITOLO 2: STUDIO CLINICO DI FASE II IN APERTO MULTICENTRIC SUL TRATTAMENTO DI PRIMA LINEA CON IRINOTECANO, OXALIPLATINO, E 5-FLUOROURACILE/LEUCOVORIN INFUSIONALE (FOLFOXIRI) IN COMBINAZIONE CON BEVACIZUMAB IN PAZIENTI CON CARCINOMA DEL COLON-RETTO METASTATICO: PROTOCOLLO DI STUDIO</b>	
2.1 Razionale dello studio	pag.140
2.2 Obiettivi	pag.142

<b>2.3</b>	<b>Selezione dei pazienti</b>	<b>pag.143</b>
<b>2.4</b>	<b>Disegno dello studio</b>	<b>pag.146</b>
<b>2.5</b>	<b>Valutazioni dei potenziali markers biologici predittivi di attività antiangiogenetica</b>	<b>pag.150</b>
<b>2.6</b>	<b>Valutazioni basali, durante il trattamento e al termine del trattamento</b>	<b>pag.153</b>
<b>2.7</b>	<b>Trattamento dopo la progressione</b>	<b>pag.157</b>
<b>2.8</b>	<b>Riduzione di dose e rinvii</b>	<b>pag.158</b>
<b>2.9</b>	<b>Medicazioni concomitanti</b>	<b>pag.163</b>
<b>CAPITOLO 3: RISULTATI</b>		
<b>3.1</b>	<b>Caratteristiche dei Pazienti</b>	<b>pag.167</b>
<b>3.2</b>	<b>Somministrazione del trattamento</b>	<b>pag.169</b>
<b>3.3</b>	<b>Tossicità</b>	<b>pag.170</b>
<b>3.4</b>	<b>Risposte obiettive</b>	<b>pag.176</b>
<b>3.5</b>	<b>Resezione delle metastasi</b>	<b>pag.178</b>
<b>3.6</b>	<b>Sopravvivenza globale e sopravvivenza libera da progressione</b>	<b>pag.179</b>
<b>CAPITOLO 4: DISCUSSIONE</b>		<b>pag.181</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>		<b>pag.186</b>
<b>APPENDICI</b>		<b>pag.212</b>

## RIASSUNTO

Il carcinoma del colon-retto rappresenta una delle più comuni neoplasie maligne e costituisce la seconda causa di morte per cancro nei paesi industrializzati; nel mondo si registrano circa un milione di nuovi casi e circa mezzo milione di morti l'anno. In Italia nel 2000 si sono verificati circa 30000 nuovi casi e oltre 15000 morti.

La diffusione metastatica della neoplasia costituisce la principale causa di morte nei pazienti affetti da carcinoma del colon-retto. Infatti, sebbene sia possibile eseguire una resezione radicale del tumore primitivo nella maggior parte dei pazienti, un quarto di essi si presenta alla diagnosi con malattia metastatica e un altro 25% svilupperà metastasi nel decorso della malattia così circa la metà dei pazienti decede per la disseminazione della malattia.

Le opzioni terapeutiche attualmente disponibili per il trattamento del carcinoma del colon-retto metastatico sono: la resezione chirurgica delle metastasi, la chemioterapia e la terapia con farmaci a bersaglio molecolare.

La chirurgia delle metastasi rappresenta ad oggi l'unico presidio terapeutico in grado di ottenere una sopravvivenza a 5 anni nel 30% dei pazienti. Purtroppo solo un 10-20% dei casi di carcinoma del colon-retto metastatico può beneficiare di tale trattamento. Pertanto la terapia medica è ad oggi l'unica opzione terapeutica utilizzabile nella maggior parte dei pazienti. In particolare, ad oggi si possono utilizzare 3 classi di chemioterapici quali 5-fluorouracile/leucovorin (5-FU/LV), irinotecano (CPT-11) e oxaliplatino (L-OHP) e 2 farmaci a bersaglio molecolare (anticorpi monoclonali anti VEGF e anti EGFR).

Relativamente alla chemioterapia la modalità con cui è utilizzata più routinariamente è la combinazione di due agenti; in particolare si

utilizzano doppiette a base di 5FU infusione più irinotecano (regime FOLFIRI) o più oxaliplatino (regime FOLFOX).

Uno studio randomizzato condotto dal gruppo francese GEORCOR ha dimostrato che utilizzando in sequenza queste due doppiette (regime FOLFIRI seguito dal regime FOLFOX o viceversa) si ottiene una sopravvivenza mediana di circa 20 mesi. D'altra parte una analisi combinata di vari studi randomizzati ha dimostrato che il miglior controllo di malattia si ottiene in quei pazienti che vengono "esposti" a tutti e tre i chemioterapici. Va però notato che il 20-40% dei pazienti principalmente a causa del deterioramento della funzione epatica o del performance status non riceve una chemioterapia di seconda linea. Quindi in una strategia sequenziale non tutti i pazienti sono esposti a tutti e tre gli agenti attivi. Un metodo per esporre il 100% dei pazienti trattati a tutti e tre gli agenti attivi consiste nell'adottare un regime polichemioterapico di prima linea più aggressivo, contenente appunto tutti e tre gli agenti. Inoltre una analisi condotta da Folpercht e coll. dimostra che un regime chemioterapico più attivo incrementa la possibilità di ottenere resezioni radicali delle metastasi successivamente alla chemioterapia.

Sulla base di tali considerazioni, il Gruppo Oncologico del Nord Ovest (G.O.N.O.) ha dapprima condotto uno studio di fase II che ha dimostrato la fattibilità e l'attività del regime FOLFOXIRI (5-FU/LV, CPT-11, L-OHP). Quindi lo stesso gruppo ha condotto un ulteriore studio di fase II con il regime FOLFOXIRI semplificato, al fine di incrementare la tollerabilità e la fattibilità del regime. FOLFOXIRI semplificato ha dimostrato a parità di efficacia ed attività una tossicità ridotta.

A seguito dai tali risultati, il G.O.N.O. ha confrontato in uno studio randomizzato di fase III il regime FOLFOXIRI semplificato con il regime FOLFIRI standard e ha dimostrato la superiorità della tripletta sia in termini di attività sia in termini di efficacia, con tossicità sostanzialmente

sovrapponibili. Infatti, FOLFOXIRI ha incrementato significativamente il tasso di risposta ( $p=0,0002$ ), gli interventi chirurgici R0 sulle metastasi (15% vs 6%,  $p=0,033$  in tutti i 244 pazienti dello studio; 36% vs 12%,  $p=0,017$  nei pazienti con metastasi confinate al fegato), la sopravvivenza mediana libera da progressione ( $p=0,0009$ ), con un hazard ratio (HR) di 0,65 e la sopravvivenza globale mediana ( $p=0,042$ ) con un hazard ratio di 0,74 (95% CI 0,55-0,99).

Bevacizumab è un anticorpo anti VEGF che agisce principalmente inibendo il processo di neoangiogenesi tumorale. Molteplici studi hanno dimostrato che l'aggiunta di bevacizumab alle doppiette di chemioterapici convenzionali incrementa l'efficacia del trattamento, con peraltro una tossicità maneggevole.

A seguito di tali evidenze, l'U.O. di Oncologia Medica dell'Ospedale di Livorno ha promosso nell'ambito del G.O.N.O. questo studio di fase II volto a valutare la combinazione di bevacizumab (5 mg/Kg nel giorno 1) con il regime FOLFOXIRI semplificato (irinotecano 165 mg/m<sup>2</sup> nel giorno 1, oxaliplatino 85 mg/m<sup>2</sup> nel giorno 1, 5-fluorouracile 3200 mg/m<sup>2</sup> in infusione continua per 48 ore a partire dal giorno 1) ripetuto ogni 2 settimane, come trattamento di prima linea per pazienti presentanti carcinoma del colon retto metastatico inizialmente non resecabile. L'obiettivo primario è valutare la percentuale di pazienti liberi da progressione al decimo mese. Sono stati arruolati nello studio un totale di 57 pazienti. Le principali caratteristiche dei pazienti sono le seguenti: M/F = 60%/40%; età media (range) = 61 (34-75) anni; ECOG PS 0/1/2 = 68%/26%/5%; localizzazione primitiva nel 72% localizzato nel colon, nel 28% localizzato nel retto; tumore primitivo non asportato chirurgicamente nel 23% dei pazienti; localizzazione metastatica singola nel 60%, localizzazione multipla nel 40%, metastasi esclusivamente epatiche nel 51% dei pazienti, polmonari nel 21%. Le principali tossicità di grado G3-

G4 sono state: neutropenia 49% (neutropenia febbrile 2%), diarrea 12%, stomatite 2%, neurotossicità 2%, trombosi venosa profonda 4%, ipertensione 11%, ischemia cardiaca (solo di grado G3) 2%; sanguinamenti di grado G2 si sono verificati in 1 paziente (2%). Non si sono verificate morti tossiche. In tutti i 57 pazienti è stata valutata la risposta e si sono osservate: 7 risposte complete, 37 risposte parziali con un tasso di remissione del 77% e 13 pazienti con malattia stabile (tasso di controllo della malattia = 100%). Ad oggi 18 pazienti (32%) sono stati sottoposti a una resezione chirurgica post-chemioterapia delle metastasi epatiche e sono state eseguite 14 resezioni R0 (25%). Dopo un follow-up mediano di 15.3 mesi, 28 pazienti sono progrediti e la sopravvivenza libera da progressione mediana è 13,1 mesi mentre la sopravvivenza libera da progressione a 10 mesi è del 72%. Dodici pazienti sono deceduti e la sopravvivenza globale non è stata ancora raggiunta.

Si può concludere che bevacizumab può essere combinato in maniera sicura con il regime FOLFOXIRI semplificato senza incrementare le tossicità attese e senza causare eventi avversi imprevisti. L'attività del trattamento è significativa (tasso di remissioni del 77% e controllo di malattia del 100%). La resezione secondaria delle metastasi e sopravvivenza libera da progressione mediana sono molto promettenti e il gruppo G.O.N.O. ha da poco iniziato uno studio di fase III che compara FOLFOXIRI + bevacizumab a FOLFIRI + Bevacizumab (studio TRIBE).



# CAPITOLO 1

## IL CARCINOMA DEL COLON-RETTO

### 1.1 EPIDEMIOLOGIA

Il carcinoma del colon-retto rappresenta la seconda causa di morte per cancro nei Paesi industrializzati. Globalmente nel 2000 l'incidenza di questo tumore è stata di circa 800.000 nuovi casi/anno, corrispondente approssimativamente al 10% dell'incidenza globale di cancro; la mortalità per carcinoma del colon-retto è stata stimata intorno a 450.000 decessi/anno (1).

In Italia nel 2000 sono stati registrati circa 30000 nuovi casi e più di 15000 morti (2).

In Europa nel 2004 l'incidenza è stata del 13,2% (376.000 nuovi casi/anno) considerando entrambi i sessi e del 12,8% nel sesso maschile e del 13,25% in quello femminile.

Per quanto riguarda la mortalità, questa è stata nel 2004 in Europa di circa il 12% (203.000 decessi/anno) e, considerando distintamente i due sessi, del 10,7% negli uomini e del 13,4% nelle donne (3).

Questa alta mortalità si spiega con il fatto che, benché in quasi il 90% dei casi sia possibile una resezione radicale del tumore primitivo, un'alta percentuale dei pazienti affetti decede a causa della diffusione metastatica della neoplasia.

Nei Paesi industrializzati l'incidenza di questa neoplasia è quattro volte superiore rispetto ai Paesi in via di sviluppo, nonostante alcuni autori abbiano registrato un'inversione di tendenza a partire dagli anni Cinquanta: questo sia per un graduale aumento di incidenza del carcinoma coloretale nei Paesi a basso rischio sia per una

stabilizzazione e/o diminuzione di incidenza nei Paesi ad alto rischio (4,5).

Per una valutazione epidemiologica corretta bisognerebbe distinguere il tumore del colon da quello del retto, anche perché essi si comportano come due diverse patologie. Infatti se consideriamo la mortalità questa è dovuta in 1/3 dei casi al carcinoma del retto, nei restanti 2/3 al carcinoma del colon.

Inoltre nelle popolazioni ad alto rischio il rapporto fra i tumori del colon e quelli del retto è di 2:1 circa, mentre nelle popolazioni a basso rischio il rapporto è più o meno pari (6).

Classicamente il carcinoma del colon-retto è considerato essere una malattia del colon sinistro o distale. Tuttavia l'incidenza del carcinoma coloretale in sede destra o prossimale è aumentata in Nord America (7-9) ed Europa (10,11). Simili risultati sono stati osservati anche in Asia (12).

Queste variazioni nella sede di insorgenza della neoplasia, cioè questo progressivo aumento di incidenza dei tumori del colon ascendente rispetto ai tumori ad insorgenza più distale, è verosimilmente dovuto all'interazione di più fattori:

- 1) la longevità della popolazione è aumentata;
- 2) la risposta ai precancerogeni e cancerogeni luminali può variare tra le diverse sedi del colon e del retto;
- 3) i fattori genetici possono coinvolgere preferenzialmente nel carcinoma del colon prossimale difetti a carico dei geni implicati nella riparazione dei danni al DNA (DNA mismatch repair genes) con conseguente instabilità dei microsatelliti (MSI), mentre nel carcinoma del colon sinistro e del retto può essere predominante l'instabilità cromosomica.

Tutti questi fattori implicati nella variazione della sede anatomica di insorgenza della neoplasia necessariamente impattano

considerevolmente nelle procedure di screening(13), nella risposta alla chemioprevenzione e alla chemioterapia(14,15), e per ultimo anche nella sopravvivenza specifica per malattia (disease-specific survival).

I fattori che comunque hanno un peso preponderante sullo sviluppo del carcinoma colo-rettale sono quelli ambientali. Le ragioni delle variazioni geografiche e razziali dell'incidenza e della mortalità di questo tumore sono infatti da ricercare nelle differenze dello stile di vita e dell'alimentazione tra i Paesi Occidentali e quelli in via di sviluppo e, in ultima analisi, anche nelle diverse possibilità di trattamento e di screening di questa neoplasia. Ad esempio nei Paesi dell'Europa Orientale, in Asia in Israele e in Giappone l'adozione di uno stile di vita occidentale (con aumento del consumo di carni rosse, di grassi, dell'apporto calorico e riduzione dell'assunzione di fibre e scarsa attività fisica) ha condotto ad un relativo aumento di incidenza. Altri studi(16-19) hanno rivelato che i soggetti che migrano da aree a bassa incidenza ad aree ad alta incidenza acquisiscono, nel giro di una generazione, lo stesso rischio del paese ospite di sviluppare il tumore del colon-retto. Ad esempio, tra i Cinesi emigrati negli Stati Uniti i tassi di incidenza di questo tumore sono più alti rispetto a quelli che si registrano in Cina. Ciò è dovuto all'adozione di uno stile di vita tipico dei Paesi sviluppati(17). Questi ed altri studi hanno rivelato l'importanza dell'esposizione ambientale nell'incidenza del tumore del colon retto e forniscono una guida per le modificazioni della dieta e dello stile di vita come misure preventive.

Nei Paesi a maggior rischio è stato stimato che nell'ambito della popolazione generale (esclusi i casi di familiarità) un soggetto di sesso maschile abbia una probabilità di ammalare di tumore del colon-retto nel corso della propria vita del 4,5% e che in un soggetto di sesso femminile tale probabilità sia del 3,2%. Il fatto che i tassi di incidenza e mortalità

siano però più alti nel sesso femminile che in quello maschile si può attribuire all'aspettativa di vita più lunga nelle donne. Infatti, se consideriamo il tasso di incidenza età-correlato, si può vedere come questo sia in realtà più alto negli uomini(1).

Ad eccezione dei casi di tumore ereditario, il rischio di sviluppare il carcinoma del colon-retto si manifesta prevalentemente a partire dai 40 anni e cresce esponenzialmente nelle decadi successive, con un'età mediana di insorgenza di circa 70 anni(6).

## **1.2 EZIOLOGIA E FATTORI DI RISCHIO**

L'eziologia del carcinoma del colon-retto è complessa ed è dovuta all'interazione di fattori genetici e fattori ambientali. Questi fattori possono determinare nel corso di molti anni il viraggio da una mucosa normale ad un polipo adenomatoso precanceroso fino ad un tumore franco del colon-retto.

Per quanto riguarda i fattori genetici, quello che è importante sottolineare è che non si eredita il tumore, ma si eredita una maggior suscettibilità genetica e quindi un maggior rischio di svilupparlo rispetto alla popolazione normale (questo del resto vale per tutti i tipi di tumore, non solo per quello del colon-retto).

Quello che è importante valutare dunque è la storia familiare del carcinoma coloretale. Infatti i parenti di primo grado di un soggetto con tumore del colon retto hanno un rischio doppio di sviluppare questa neoplasia rispetto alla popolazione normale. C'è poi un ulteriore aumento del rischio se questo soggetto è colpito dal tumore prima dei 60 anni.(20-23)

Il rischio di sviluppare questo tumore aumenta nei parenti di primo grado anche se il soggetto presenta dei polipi adenomatosi e non un tumore franco(24-26).

I fattori che determinano suscettibilità genetica non sono ancora del tutto chiari; si pensa però che polimorfismi genetici possano svolgere un qualche ruolo, come ad esempio quelli a carico della glutatione-S-transferasi(27), del metilentetraidrofolato reduttasi(28,29) e dell'N-acetiltransferasi(30,31). Questi polimorfismi spiegherebbero dunque la suscettibilità genetica di sviluppare il tumore del colon-retto che varia da soggetto a soggetto e chiaramente varia anche in base al grado di esposizione di ogni individuo ai diversi fattori ambientali. Inoltre questi

polimorfismi possono variare molto tra i diversi gruppi etnici e razziali e ciò renderebbe conto, insieme alle differenze ambientali, delle variazioni geografiche di incidenza del tumore del colon-retto(32).

Ciò che però svolge il ruolo di primo attore nella patogenesi del carcinoma del colon-retto è l'ambiente (tabella 1.2a).

**Tabella 1.2a : Eziologia del carcinoma del colon-retto: Fattori Ambientali\***

<b>Fattori di Rischio</b>	<b>Fattori Protettivi</b>
Elevato introito calorico	Consumo di vitamine antiossidanti
Elevato consumo di carne rossa	Consumo di frutta e verdura fresca
Elevato consumo di carne rossa cotta ad alte temperature	Uso di farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS)
Elevato consumo di grassi animali saturi	Dieta ricca di calcio
Elevato consumo di alcool	
Fumo di sigaretta	
Stile di vita sedentario	
Obesità	

Nota: il consumo di caffè o tè non ha effetti sull'incidenza del tumore del colon-retto

I diversi fattori ambientali, nel loro complesso definiti "stile di vita", sembrano condizionare lo sviluppo del cancro in tempi diversi: il fumo di sigaretta ed alcuni farmaci (acido acetilsalicilico) sembrerebbero avere un'influenza sui primi momenti della cancerogenesi (iniziazione)(33,34), condizionando rispettivamente in positivo e in negativo lo sviluppo degli adenomi; mentre l'obesità e la scarsa attività fisica svolgerebbero il loro ruolo su tappe tardive, influenzando la progressione maligna dell'adenoma stesso(35,36).

La letteratura propone dati discordanti per quanto riguarda l'apporto calorico(37-40): non è possibile cioè limitarsi all'introito energetico giornaliero come unica variabile predittiva di malattia in quanto esso è largamente influenzato da parametri quali l'attività fisica, l'efficienza metabolica e la massa corporea(40).

Uno studio caso-controllo(38) suggerisce che l'introito calorico complessivo, indipendentemente dalla natura dei cibi (se grassi, proteine o carboidrati), è direttamente correlato con un aumentato rischio di carcinoma coloretale. Tuttavia questi dati non sono confermati da studi di coorte che hanno indagato lo stesso aspetto(39).

Un alto indice di massa corporea ( BMI>29 Kg/m<sup>2</sup>) e ancor più l'obesità centrale, tipica del sesso maschile (misurata attraverso il rapporto vita-fianchi), rappresentano fattori di rischio per lo sviluppo del carcinoma del colon-retto(35,36,39).

Infatti si è osservato che tra le donne con BMI superiore a 29 Kg/m<sup>2</sup> il rischio relativo di sviluppare questa neoplasia è 1,45 volte superiore a quello di donne con BMI inferiore a 21 kg/m<sup>2</sup> (39).

Per quanto riguarda più propriamente la dieta esiste una forte correlazione fra l'assunzione di carni rosse e grassi animali e il tumore del colon, come conferma una review del 1999(41). Le carni rosse infatti esprimerebbero il loro effetto cancerogeno liberando amine aromatiche durante la loro cottura ad alte temperature, i grassi animali invece stimolano la secrezione di acidi biliari, a loro volta convertiti in cancerogeni o promotori; inoltre i grassi possono venir metabolizzati dalla flora batterica intestinale in sostanze cancerogene le quali determinerebbero un'abnorme proliferazione dell'epitelio della mucosa colica(27-32; 41-46).

Sebbene un elevato introito di proteine sembrerebbe favorire la cancerogenesi, manca ancora una prova definitiva: l'attenzione è

focalizzata sull'associazione tra una dieta ad alto contenuto proteico ed una proliferazione epiteliale accelerata(47).

D'altro canto l'alto consumo di frutta e vegetali (soprattutto crudi) è associato con una diminuzione del rischio per tumore del colon. Il meccanismo di questo effetto protettivo sembra risiedere nell'inibizione della formazione di nitrosamine, nell'effetto antiossidante (per la presenza di vitamine E, C ed A) e nell'induzione di enzimi detossificanti(48).

Inoltre una dieta ricca di fibre (frumento, crusca, frutta e verdura) favorisce la formazione della massa fecale diminuendo il tempo di transito intestinale e riducendo quindi il contatto di possibili cancerogeni con la mucosa colica(32,44,49,50).

Pure il calcio e l'acido folico hanno un ruolo protettivo nei confronti di adenomi e carcinomi. Si è visto infatti che l'assunzione con la dieta di acido folico (contenuto nella farina di grano integrale, fagioli, noci e verdure a foglia verde) svolge un certo ruolo di chemioprevenzione(51).

Sembrerebbe che un deficit di folato possa favorire lo sviluppo del cancro del colon attraverso diversi meccanismi:

- alterazione della metilazione del DNA;
- accumulo di cellule in fase S maggiormente sensibili all'induzione di danni del DNA;
- perturbazione del pool dei nucleotidi con conseguente alterazione della sintesi e della riparazione del DNA (52).

Il calcio invece svolgerebbe un ruolo protettivo attraverso la sua capacità di legare gli acidi biliari dannosi con una riduzione della proliferazione dell'epitelio colico (32,53). Questo è stato supportato da modelli di colture cellulari, anche se i risultati degli studi di popolazione non sono ancora definitivi (32,54).



La ridotta attività fisica, sebbene sia spesso associata con altri fattori di rischio indipendenti (es. obesità, eccessivo introito calorico nella dieta), sembra avere un ruolo autonomo nel favorire l'insorgenza del carcinoma coloretale (35,36,39). L'attività fisica svolge un ruolo di protezione grazie all'influenza che questa ha sulla produzione di prostaglandine, in particolare di tipo E2 . E' noto infatti che le cellule neoplastiche hanno maggiori livelli di PGE2 rispetto alle cellule della mucosa colica normale (55,56).

Questo spiegherebbe anche la diminuzione del rischio di sviluppare il carcinoma del colon-retto che si verifica in pazienti in terapia cronica con farmaci antinfiammatori non steroidei per patologie reumatologiche (57).

Studi di popolazione supportano fortemente l'associazione inversa che esiste tra l'uso di aspirina o di altri farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS) e l'incidenza degli adenomi e del carcinoma del colon-retto(34,58-61).

In uno studio di coorte pubblicato nel 1999 (61) si è osservato che il rischio relativo di sviluppare questo tumore tra i soggetti che fanno uso regolare di FANS è dello 0,49 , dunque circa la metà rispetto a quello dei soggetti che non utilizzano FANS.

Anche la durata dell'utilizzo di FANS è importante e sembra che i tumori del colon destro possano beneficiarne di più rispetto ai tumori del colon sinistro. E' interessante notare invece che non è importante il tipo di FANS usato, come hanno dimostrato diversi studi in cui è stata valutata la somministrazione di FANS e degli inibitori selettivi della ciclossigenasi-2(COX-2) nella poliposi adenomatosa familiare (FAP) e nel tumore del colon-retto sporadico (61).

Altrettanto interessante è la diminuzione del rischio in donne sottoposte a terapia ormonale sostitutiva (62).

Per ciò che concerne il fumo di sigaretta, esso non è un chiaro fattore di rischio ma appare certo che vi sia un'aumentata incidenza di polipi adenomatosi tra i fumatori ed in particolare tra chi fuma più di 20 pack-years. Tra chi invece fuma più di 35 pack-years si è osservato un incremento del rischio di sviluppare un vero e proprio carcinoma del colon-retto (32,33,54,63).

Molti studi (63) hanno dimostrato l'associazione tra il consumo di alcool e il rischio di tumore del colon-retto e questa associazione si è rivelata essere più forte tra il consumo di alcool nel sesso maschile e il rischio di carcinoma del retto. Probabilmente il meccanismo responsabile nella cancerogenesi è l'interferenza dell'acetaldeide sul metabolismo del folato (64).

Nessuna associazione riproducibile è stata invece trovata tra l'uso cronico di caffè o tè e il rischio di carcinoma del colon-retto (65,66).

Le considerazioni fatte fino a questo punto valgono principalmente per i casi sporadici di tumore del colon-retto, poiché, come vedremo nel paragrafo successivo, nella forme familiari (5-10%) il principale contributo è svolto da alterazioni genetiche responsabili di un'ereditarietà della suscettibilità al cancro.

### 1.3 LE SINDROMI EREDITARIE

La percentuale di forme determinate da una predisposizione genetica si aggira intorno al 5-10% dei casi complessivi di carcinoma coloretale.

Di queste sono stati identificati alcuni geni responsabili e la loro localizzazione cromosomica, come indicato nella seguente tabella:

**Tabella 1.3a : Sindromi ereditarie predisponenti allo sviluppo di adenocarcinoma del colon-retto e alterazioni genetiche responsabili\***

<b>Sindrome</b>	<b>Gene responsabile</b>	<b>Localizzazione cromosomica</b>
Poliposi adenomatosa familiare (FAP:Familiar Adenomatous Polyposis)	APC	5q
Sindrome di Gardner	APC	5q
Sindrome ereditaria del carcinoma colo-rettale senza poliposi (HNPCC:Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer)	hMSH2;hMLH-1; hPMS1; hPMS2	2p; 3p; 2q; 7p
Sindrome di Muir-Torre	hMSH2; hMLH-1	2p; 3p
Sindrome di Turcot	APC; hMLH-1; hPMS2	5q; 3p; 7p

\* Modificata da *CANCER: Principles and Practice of Oncology, 7<sup>th</sup> Edition* DeVita et al. Cap. 29: Cancers of the Gastrointestinal Tract. Sez. 8: Cancer of the Colon.

La ***poliposi adenomatosa familiare (FAP)*** è responsabile di circa 1% di tutti i casi di carcinoma del colon-retto ed è una condizione a trasmissione autosomica dominante che colpisce 1 su 800 neonati.

Essa è caratterizzata dalla presenza di centinaia o migliaia di polipi adenomatosi del colon e per fare diagnosi di FAP classica è necessario un minimo di cento polipi. Questi compaiono nell'infanzia con piena espressione verso i 30 anni.

Oltre al colon, adenomi multipli possono essere presenti anche in altre sedi del tratto gastro-enterico, in particolare nella regione della papilla.

Istologicamente la maggior parte dei polipi sono adenomi tubulari, occasionalmente i polipi possono avere aspetti villosi.

Il cancro del colon è l'inevitabile conseguenza qualora il colon non venga asportato. La forma di prevenzione secondaria più efficace infatti è l'intervento di colectomia totale con ileo-retto anastomosi quando vi sia un modesto numero di polipi a livello del retto.

Qualora invece il numero dei polipi nel retto sia molto elevato è preferibile eseguire una proctocolectomia totale e successiva anastomosi ileo-anale con réservoir.

Inoltre è necessaria un'attenta osservazione degli altri membri della famiglia per evidenziare l'eventuale presenza della malattia nella fase iniziale.

La FAP è causata da mutazioni del gene oncosoppressore APC (Adenomatous Polyposis Coli) localizzato sul braccio lungo del cromosoma 5. La proteina codificata da questo gene svolge numerose funzioni:

- è responsabile della migrazione e dell'adesione cellulare mediante legame ai microtubuli;
- partecipa alla formazione di un complesso intracellulare cui fanno parte la proteina citoscheletrica  $\beta$ -catenina e la glicoproteina

di superficie E-caderina; questo complesso è implicato nei fenomeni di adesione intercellulare;

- infine facilita la degradazione della  $\beta$ -catenina, la quale può comportarsi anche da oncogene. Infatti quando questa proteina non è legata alla E-caderina, trasloca nel nucleo dove si lega ad una famiglia proteica denominata Tcf-Lef (fattore di stimolazione linfoide per cellule T) in grado di attivare altri oncogeni. La conseguenza di ciò è la stimolazione della proliferazione cellulare e l'inibizione dell'apoptosi. La proteina APC legandosi alla  $\beta$ -catenina, la indirizza verso la degradazione e quindi ne impedisce il possibile legame con Tcf-Lef.

Dunque quando APC è mutata o assente si avranno due risultati: la perdita di contatto fra le cellule e l'accumulo di  $\beta$ -catenina con conseguente proliferazione cellulare (67).

Il gene APC, per questa sua azione di protezione e controllo diretto sulla crescita della neoplasia, è detto gene "gatekeeper" (letteralmente gene "guardiano" o gene "saracinesca").

Infine è importante sottolineare come le mutazioni a carico del gene APC siano presenti anche nelle fasi precoci dei carcinomi coloretali sporadici (85% dei casi). Inoltre i tumori che non presentano tale alterazione si caratterizzano per mutazioni a carico della  $\beta$ -catenina.

Esiste anche una **forma attenuata di FAP** (dovuta sempre ad una mutazione del gene APC) in cui il paziente tende a sviluppare un minor numero di polipi (circa trenta; in ogni caso minore di cento), la maggior parte dei quali sono localizzati a livello del colon prossimale. In questi soggetti la possibilità di sviluppare un carcinoma del colon-retto nell'arco della vita si verifica nel 50% dei casi e più tardivamente rispetto alla FAP classica, cioè verso i 50-60 anni(68).

La **sindrome di Gardner** è considerata una variante della FAP anche se decisamente meno frequente, con un'incidenza di 1 su 14.000 neonati.

Il paziente sviluppa accanto ai polipi adenomatosi intestinali, del tutto identici a quelli della FAP classica, osteomi multipli (mandibola, cranio, ossa lunghe), cisti epidermoidi e fibromi cutanei. Meno frequentemente sono presenti anomalie della dentizione (mancata eruzione, denti sovranumerari). Inoltre vi è una maggiore tendenza a sviluppare carcinomi duodenali o tiroidei.

Il **carcinoma coloretale ereditario non associato a poliposi (HNPCC)** è responsabile di circa il 3% di tutti i casi di carcinoma del colon-retto ed è una condizione clinica trasmessa con meccanismo autosomico dominante, denominata anche Sindrome di Lynch, dal nome di colui che l'ha descritta.

Raramente possono insorgere adenomi colici in questi pazienti, ma quando ciò accade compaiono molto precocemente rispetto alla popolazione generale, sono in numero non elevato e preferenzialmente, ma non esclusivamente, si ritrovano a livello del colon ascendente (69).

I carcinomi coloretali che insorgono in questa sindrome sono spesso multipli e di solito non sono preceduti da adenomi (da qui il termine "hereditary non-polyposis colorectal cancer").

L'HNPCC è caratterizzata da un aumentato rischio di sviluppare carcinomi coloretali e carcinomi extra-colici, come il carcinoma dell'endometrio, il più frequente, ma anche dello stomaco, dell'intestino tenue, dei dotti biliari, della pelvi renale, dell'uretere, della vescica, dell'utero, dell'ovaio, della cute e forse anche del pancreas. In particolare il rischio di sviluppare nel corso della vita il cancro del colon-retto è dell'80% , di circa il 40% per il carcinoma dell'endometrio e meno del 10% per le altre neoplasie (70).

Dell'HNPCC si riconoscono due forme: la sindrome di Lynch I e la sindrome di Lynch II.

Nella **Lynch I** vi è un'età precoce di comparsa del carcinoma coloretto (con un'età media di 43 anni ) e una predilezione per il colon prossimale; si ha inoltre un'elevata concomitanza di secondi tumori primitivi colici.

La **Lynch II** ricalca in tutto la precedente con la differenza di un'associazione frequente con carcinomi dell'endometrio e dell'ovaio(71).

Il carcinoma coloretto ereditario non associato a poliposi è dovuto ad un difetto genico a carico dei geni implicati nella riparazione dei danni al DNA (DNA mismatch repair genes). Questi geni codificano enzimi che riparano eventuali errori che si possono verificare durante la replicazione del DNA, errori che avvengono spontaneamente o in seguito all'esposizione ad agenti esogeni (es. raggi UV, cancerogeni chimici).

Anche questi geni riparatori umani, come il gene APC, sono definiti geni "guardiani" perché implicati nel processo di controllo del DNA in replicazione.

I geni maggiormente interessati nell'HNPCC sono l'hMLH-1 (3p) e l'hMSH2 (2p) (le mutazioni a carico di uno di questi due geni comprendono circa il 60% dei casi di HNPCC); meno frequentemente sono coinvolti i geni hPMS1 (2q) e hPMS2 (7p) e molto probabilmente altri geni, appartenenti alla stessa famiglia, ancora da scoprire. La conseguenza di queste mutazioni è un'instabilità dei microsatelliti. I microsatelliti sono sequenze di dinucleotidi che si ritrovano nel genoma umano ripetute 50.000-100.000 volte; alterazioni di questa ripetizione vengono prese come indice di mutazione dei "DNA mismatch repair genes".

E' importante sottolineare che soggetti che ereditano un difetto a carico di uno di questi geni "guardiani" sono ugualmente in grado di riparare il DNA in replicazione per via di quelli normalmente funzionanti; tuttavia tali soggetti sono suscettibili ad una ulteriore mutazione somatica in un qualsiasi distretto dell'organismo che determina il fallimento di questa attività di riparazione. Proprio per tale motivo la stragrande maggioranza dei pazienti con HNPCC presenta un'instabilità dei microsattelliti.

Inoltre è necessario dire che in un 10-15% dei carcinomi colo-rettali sporadici sia descritta la stessa mutazione, in questo caso acquisita. Tale evento dunque rappresenta una via alternativa della sequenza che, partendo da una mutazione a carico del gene APC, porta allo sviluppo del carcinoma coloretale.

La **sindrome di Muir-Torre** è considerata una variante dell'HNPCC. Anch'essa infatti è causata da una mutazione dei geni che correggono i difetti di appaiamento nel DNA (hMLH-1 su 3p o hMSH2 su 2p) e presenta un'ereditarietà di tipo autosomico dominante.

E' una sindrome molto rara caratterizzata dall'associazione di tumori sebacei (iperplasia, adenoma, epitelioma o carcinoma) oppure di cheratoacantomi con uno o più carcinomi viscerali, che di solito coinvolgono il tubo digerente, la mammella o le vie genito-urinarie.

I tumori sebacei sono di solito multipli e per lo più sono adenomi. I cheratoacantomi, in numero di tre-dieci, si localizzano di solito sul viso o sul tronco.

I tumori cutanei possono precedere o seguire la prima presentazione dei tumori maligni interni; questi ultimi sono di solito multipli, esordiscono in età precoce, ma hanno un basso grado di invasività e presentano un'incidenza relativamente bassa di metastasi.



I soggetti che presentano questa sindrome devono essere valutati e seguiti da un punto di vista multidisciplinare; inoltre è necessaria un'attenta osservazione degli altri membri della famiglia con un follow-up dermatologico regolare, lo screening dei tumori e una consulenza genetica.

La **sindrome di Turcot** infine è caratterizzata dalla presenza di poliposi adenomatosa del colon (polipi meno numerosi e di maggiori dimensioni rispetto alla FAP classica) associata a tumori del sistema nervoso centrale: nei 2/3 dei pazienti si riscontrano mutazioni del gene oncosoppressore APC e in questo caso i soggetti in questione sviluppano medulloblastomi cerebrali; nel 1/3 rimanente dei pazienti si verificano mutazioni in uno dei geni associati ad HNPCC (in particolare hMLH-1 su 3p e hPMS2 su 7p) e in questo caso si ha la comparsa di glioblastomi multiformi cerebrali.(72-75)

## 1.4 SCREENING E PREVENZIONE

Ad oggi l'unico provvedimento preventivo in grado di diminuire la mortalità per carcinoma del colon-retto è la diagnosi precoce, dal momento che non è ancora possibile effettuare una vera e propria prevenzione primaria. Tuttavia, sulla base dei dati finora disponibili, un gruppo di esperti del National Cancer Institute negli Stati Uniti ha formulato alcune raccomandazioni di igiene alimentare per prevenire il cancro del colon-retto (76), come elencato nella tabella 1.4a.

### **Tabella 1.4a: Raccomandazioni del National Cancer Institute\***

- Ridurre l'assunzione di grassi al 30% dell'introito calorico
- Aumentare la dose di fibre a circa 30 g al giorno
- Mangiare almeno 5 porzioni di frutta o vegetali al giorno
- Moderare il consumo di alcool
- Moderare il consumo di sale e di cibi conservati o affumicati

Anche studi su terapie chemiopreventive non hanno dato i risultati sperati. L'utilizzo di FANS o di inibitori delle COX-2 hanno dimostrato una diminuzione dell'incidenza di adenomi e carcinomi del colon-retto, ma allo stesso tempo, un incremento del rischio di eventi cardiovascolari severi e di lesioni gastrointestinali(77).

Per queste considerazioni e per il fatto che il carcinoma del colon-retto rappresenta una malattia ad elevata incidenza (circa 40 nuovi casi per anno ogni 100.000 abitanti in Italia) e ad elevata mortalità (40-50% globalmente) e una malattia per la quale sono individuabili alcune condizioni a rischio e il trattamento delle forme precoci è più efficace di quello delle forme avanzate, la diagnosi precoce ha assunto un ruolo

---

\* Modificata da *Colorectal cancer* Mc Ardle et al.2000; pag.72

importante come provvedimento per ridurre la mortalità dovuta a questa patologia (76).

E' stato stimato che con una corretta prevenzione secondaria (comprendente tutte quelle metodiche atte ad identificare la malattia in una fase non ancora clinicamente manifesta) si potrebbe ridurre la mortalità cancro-correlata del 50% ogni anno (78).

Per una corretta diagnosi precoce è importante distinguere nell'ambito dell'intera popolazione i soggetti che hanno un rischio generico da quelli che hanno un rischio medio-alto. In linea generale, il rischio di cancro del colon-retto dipende dall'età, dalla storia familiare o personale di adenomi/cancro o altre neoplasie (endometrio, ovaio, etc.), nonché dalla presenza di un'anamnesi patologica positiva per malattie infiammatorie intestinali (prevalentemente colite ulcerosa).

Complessivamente si stimano a rischio generico il 70-80% degli individui, a rischio moderato il 15-20% e ad alto rischio il 5-10%(6).

Sono considerati soggetti a rischio generico tutti gli individui senza storia familiare o personale di neoplasia coloretale e di età superiore ai 50 anni.

Si definiscono invece soggetti a rischio moderato tutti gli individui asintomatici con anamnesi patologica positiva per adenomi, cancro del colon-retto o tumori ovarici o della cervice uterina oppure individui con anamnesi familiare positiva per adenomi o cancro del colon-retto, soprattutto se diagnosticati in un parente di primo grado di età inferiore ai 60 anni, oppure in due o più parenti di primo grado indipendentemente dalla loro età.

Vengono infine considerati soggetti ad alto rischio tutti gli individui che sono affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali (morbo di Crohn e soprattutto rettocolite ulcerosa) e quelli con storia familiare di FAP o HNPCC.

Grazie a questa stratificazione si ha la possibilità di applicare metodiche di screening in tempi diversi a partire da età molto precoci nei casi ad alto rischio.

I mezzi di screening di cui oggi disponiamo sono: la ricerca del sangue occulto nelle feci (RSO) e la colonscopia.

La rettosigmoidoscopia, il clisma opaco a doppio contrasto e l'esplorazione rettale presentano limiti tali da non permettere il loro utilizzo come strumenti di screening.

La rettosigmoidoscopia infatti, nonostante sia un esame piuttosto semplice e con l'avvento degli strumenti flessibili anche relativamente ben accettato dai pazienti, consente di visualizzare solo il retto, il sigma e il colon discendente fino alla flessura splenica. Nonostante questo tratto di intestino rappresenti la sede di circa il 70% dei tumori, l'impossibilità di esplorare il colon destro, sede del restante 30%, ne rappresenta il limite principale.

Il clisma opaco a doppio contrasto invece permette la visualizzazione dell'intero colon, ma è necessaria esperienza e abilità per evidenziare polipi e masse anche se il problema principale è rappresentato dall'impossibilità di individuare le piccole lesioni. Questo esame viene comunque utilizzato nei casi in cui il paziente rifiuti la colonscopia o quando quest'ultima non è in grado di esplorare l'intero colon per la presenza di una lesione stenotomica o per intolleranza del paziente.

L'esplorazione rettale dovrebbe far parte di un esame fisico generale ma non può essere indicata come test di screening. Infatti, nonostante più del 50% dei tumori del retto sia palpabile e questa procedura sia piuttosto semplice e innocua, essa non è certamente in grado di ridurre la mortalità per cancro del grosso intestino, poiché può consentire di rilevare solo la presenza di lesioni localizzate negli ultimi 7-8 cm del

retto e pertanto l'esplorazione rettale deve essere considerata un esame complementare a quelli strumentali.(73,76)

Dunque, ritornando ai mezzi di screening e di diagnosi che oggi utilizziamo di routine, si può affermare che la RSO è un esame economico e assolutamente non invasivo. L'Haemocult test è il più comunemente usato ed è un test capace di rilevare una perdita di 10 ml di sangue/die nel 67% dei pazienti e perdite superiori a 20 ml di sangue/die nell'80-90% dei pazienti (79).

Alcuni studi caso-controllo hanno dimostrato che la determinazione del sangue occulto nelle feci è in grado di anticipare la diagnosi di cancro del colon-retto in quanto il 52-65% dei tumori diagnosticati in corso di screening era allo stadio precoce (T1-3,N0,M0), rispetto al 33-53% dei casi diagnosticati nei controlli(76).

Diversi studi randomizzati hanno inoltre dimostrato che uno screening condotto con la RSO riduce la mortalità per carcinoma del colon-retto(80-82).

Vi sono però dei limiti legati all'affidabilità della RSO come unica metodica di screening, in particolare per il possibile mancato riconoscimento di lesioni neoplastiche o preneoplastiche non sanguinanti. Nessun altro test si è comunque dimostrato preferibile sia in termini di costi, sia di sensibilità.

Alla luce di queste considerazioni dunque, in Italia, la RSO viene impiegata come esame di screening primario su tutta la popolazione di età superiore ai 50 anni.

In caso di positività del test i pazienti vengono sottoposti all'esame di secondo livello, la colonscopia; mentre in caso di negatività il test viene ripetuto dopo un anno.

Per quanto riguarda la colonscopia invece, oggi quest'indagine è possibile grazie all'impiego di strumenti a fibre ottiche flessibili e risulta

essere la migliore metodica diagnostica e in molti casi anche terapeutica, ma di difficile applicazione come screening primario nella popolazione generale sia per i costi elevati, sia per il disagio arrecato. E' un esame con una sensibilità del 78,5% nell'individuazione di piccoli polipi con diametro inferiore a 0,5 cm e del 96,7% per i grossi polipi o carcinomi. La specificità raggiunge il 98%(83).

Dunque la pancoloscopia è certamente un esame molto accurato che consente di esplorare direttamente tutto il grosso intestino (fino alla valvola ileo-cecale), di individuare lesioni anche di piccole dimensioni, di eseguire biopsie mirate, fondamentali per la diagnosi, e di rimuovere piccoli polipi, costituendo allo stesso tempo uno strumento diagnostico e terapeutico.

Il problema è che oltre ad essere un esame costoso e non ben accettato dal paziente per la sua invasività, come precedentemente accennato, è anche un'indagine gravata da una certa percentuale di complicanze anche gravi, come la perforazione e l'emorragia, che va dallo 0,06% allo 0,3%.

Questi rischi legati alla colonscopia risultano comunque fortemente correlati all'esperienza dell'operatore.

Mentre è stato dimostrato che l'haemocult debba essere effettuato con frequenza annuale, non vi sono ancora dati certi sulla periodicità della colonscopia come metodica di screening.

Allo stato attuale la tendenza maggiore è quella di considerare la colonscopia ripetuta ogni dieci anni a partire dall'età di 50 anni la migliore metodica di screening della popolazione a rischio generico.

Nei soggetti a rischio moderato è raccomandata invece ogni cinque anni a partire dai 40 anni o da un'età di cinque-dieci anni inferiore rispetto all'età di insorgenza del primo tumore in famiglia.

Nei soggetti ad alto rischio è invece indispensabile la consulenza genetica da associare alla sorveglianza endoscopica. Più precisamente nell'HNPCC la colonscopia viene ripetuta ogni uno-due anni a partire dall'età di 20-25 anni; inoltre deve essere preso in considerazione anche lo screening per carcinoma dell'utero e dell'ovaio attraverso l'utilizzo di isteroscopia e ecografia transvaginale, la cui frequenza varia nei diversi centri.

Nella FAP invece i controlli endoscopici iniziano a partire dai 10-12 anni e vengono ripetuti anch'essi ogni uno-due anni.

Anche nelle malattie infiammatorie croniche intestinali è raccomandata la sorveglianza endoscopica.(22,23,84-86)

Per concludere, è necessario ricordare che recentemente sta aumentando l'interesse per le nuove tecnologie non invasive per le quali gli studi clinici stanno dimostrando l'efficacia. E' stata infatti proposta come possibile test di screening la cosiddetta colonscopia virtuale (ricostruzione computerizzata del colon-retto dalle immagini di una TAC addomino-pelvica); tuttavia la validità (in termini di sensibilità e specificità) di questa indagine è ancora estremamente variabile in base alle dimensioni delle lesioni polipoidi, pertanto non può essere considerata ancora una metodica adeguata per la fase di screening. I risultati di uno studio dimostrano la fattibilità della colonscopia virtuale comparata alla colonscopia classica (87); nonostante ciò sono ancora necessari studi di popolazione su larga scala per poter fare entrare questa indagine nell'uso routinario (87-96).

## 1.5 ANATOMIA PATOLOGICA

La maggior parte dei tumori del colon-retto si sviluppa all'interno di polipi adenomatosi. Queste lesioni sono molto comuni e dal momento che sono generalmente asintomatiche è difficile calcolare la loro reale incidenza nella popolazione generale.

Studi autoptici hanno dimostrato una prevalenza di circa il 35% in Europa e negli Stati Uniti e del 10-15% in Asia e Africa.

In base all'architettura dell'epitelio gli adenomi possono essere classificati in tubulari (ghiandole tubulari in più del 70% della lesione; sono i più frequenti), villosi (protrusioni villose in più del 50% della lesione; rappresentano l'1%) e tubulo-villosi (insieme di ghiandole tubulari e protrusioni villose in cui quest'ultima componente costituisce il 25-50% della lesione; sono circa il 5-10%).

La maggior parte degli adenomi tubulari sono polipi di piccole dimensioni e peduncolati, mentre gli adenomi villosi tendono ad essere di grandi dimensioni e sessili e ad avere una maggiore probabilità di presentare al loro interno aree di displasia severa.

Dunque considerando che il rischio di trasformazione maligna di un polipo adenomatoso è correlato alle dimensioni del polipo, all'architettura istologica e al grado di displasia epiteliale, si può affermare che il rischio di cancro è raro negli adenomi tubulari di dimensioni inferiori ad 1 cm, mentre è più alto (fino ad oltre il 40%) negli adenomi villosi, sessili, di grandi dimensioni (in particolare superiori a 4 cm) e con un alto grado di displasia. Per quanto riguarda gli adenomi tubulo-villosi invece, il rischio di sviluppare il carcinoma in situ o invasivo è direttamente proporzionale alla quota villosa della lesione.



E' stato stimato che circa il 5% dei polipi adenomatosi va incontro a degenerazione, in un lasso di tempo variabile tra i cinque e i dieci anni.(72,97)

Questo processo di cancerogenesi, definito con il nome di *sequenza adenoma-carcinoma*, è documentato dalle seguenti osservazioni:

- le popolazioni con elevata incidenza di carcinoma colo-rettale hanno anche elevata incidenza di adenomi e viceversa;
- il picco di incidenza dei polipi adenomatosi precede di alcuni anni quello dei carcinomi (60-70 anni per i carcinomi);
- la distribuzione topografica dei due tipi di patologie a livello del colon-retto è molto simile;
- molto spesso il pezzo operatorio di un carcinoma è circondato da aree di tessuto adenomatoso;
- i dati clinici derivati dalle campagne di screening e follow-up dei pazienti trattati precocemente per adenomi dimostrano come, in questi casi, l'incidenza di carcinoma diminuisca drasticamente.

La sequenza adenoma-carcinoma è determinata da modificazioni genetiche che susseguendosi e accumulandosi nel tempo danno vita al carcinoma vero e proprio.

Esistono due tipi di meccanismi patogenetici, il più importante e frequente dei quali è chiamato APC/ $\beta$ -catenina ed è caratterizzato da instabilità cromosomiche.

La perdita o la mutazione del gene APC (Adenomatous Polyposis Coli) sul cromosoma 5q rappresenta l'evento più precoce nella formazione di un adenoma e provoca la perdita di contatto tra le cellule e l'accumulo di  $\beta$ -catenina, che attivando altri oncogeni aumenta la proliferazione cellulare. Più dell'80% dei carcinomi coloretali presentano inattivazione del gene APC; il 50% dei tumori che non hanno mutazioni di APC, presentano comunque mutazioni di  $\beta$ -catenina.

Un'altra alterazione precoce evidenziabile nelle neoplasie coliche e in particolar modo negli adenomi in fase iniziale è la perdita di gruppi metilici del DNA (ipometilazione).

La crescita del polipo poi si associa nel 40-50% dei casi alla mutazione dell'oncogene K-Ras (cromosoma 12p), il quale gioca un ruolo importante nella trasduzione di segnali intracellulari ed è cruciale nella proliferazione, crescita e trasformazione cellulare.(72)

Nel cancro del colon-retto è frequente inoltre la perdita dell'allele posto sul braccio lungo del cromosoma 18. Questa perdita di eterozigotà (LOH), presente in più del 50% dei cancri del colon, coinvolge il gene oncosoppressore DCC (Deleted in Colon Cancer). La proteina codificata da questo gene normalmente è espressa in abbondanza dall'epitelio colico ed è implicata nei processi di adesione e nell'induzione dell'apoptosi. La perdita del gene DCC è associata dunque ad una prognosi peggiore, ad una maggior probabilità di sviluppare un carcinoma più aggressivo e sembra legata anche ad una maggior resistenza alla chemioterapia. Probabilmente in questa regione (18q) sono implicati altri geni, anch'essi importanti nello sviluppo del carcinoma coloretale.(72,73,98-100)

Infine sono state trovate in circa l'80% dei carcinomi del colon perdite a livello del cromosoma 17p, che invece sono infrequenti negli adenomi. Queste delezioni cromosomiche interessano generalmente il gene oncosoppressore p53 e si verificano nelle fasi avanzate della cancerogenesi. Questo gene è coinvolto nella regolazione del ciclo cellulare e dell'apoptosi in risposta a danni al DNA.

Questo modello multistadio della cancerogenesi coloretale vede dunque come primo evento, probabilmente quello "iniziante", in circa l'80% dei carcinomi sporadici, la mutazione a carico del gene APC (5q). Durante la successiva progressione si realizzano altre mutazioni come la perdita di

eterozigosità per la p53 su 17p o per la DCC su 18q. L'accumularsi di alterazioni geniche conduce al progressivo incremento di dimensioni, displasia e potenzialità invasive della lesione neoplastica.(72)

Non bisogna però dimenticare che in circa il 15% dei tumori sporadici e nella sindrome HNPCC si verifica una modalità alternativa di cancerizzazione molecolare, legata ad alterazioni genetiche dei geni del *mismatch repair*. Mutazioni a carico di questi geni causano un'alterazione dei microsatelliti (corte sequenze di DNA, più comunemente dinucleotidi, altamente ripetute), portando al cosiddetto fenomeno dell'instabilità dei microsatelliti (MSI). La maggior parte dei microsatelliti si trova in regioni non codificanti dei geni, tuttavia alcune sequenze sono localizzate in regioni codificanti o nel promotore di geni coinvolti nella regolazione della crescita cellulare. Alterazioni dei geni del mismatch repair portano dunque ad un accumulo di mutazioni che possono determinare l'insorgenza del cancro.(72,73)

Studi clinici hanno dimostrato che la presenza di instabilità dei microsatelliti è un fattore prognostico favorevole, soprattutto per quanto riguarda la disease-free survival, rispetto ai pazienti che sviluppano un carcinoma coloretale senza MSI. Sembra però che queste mutazioni determinino una resistenza alla chemioterapia e in particolare al 5-FU. Questi risultati necessitano di ulteriori conferme prima di poter affermare con certezza che la presenza o meno di MSI rappresenti un fattore predittivo di risposta alla chemioterapia e quindi possa essere utilizzato nella pratica routinaria per selezionare i pazienti da sottoporre ad uno specifico trattamento.(101-103)

Per quanto riguarda la sede di insorgenza, si può affermare che i tumori del colon sinistro sono più frequenti dei tumori del colon destro anche se questi ultimi stanno aumentando progressivamente di numero, specie

negli anziani(104). Questo sarebbe dovuto al fatto che le donne anziane tendono ad essere colpite da tumori del colon prossimale(105).

Circa il 38% dei carcinomi è localizzato nel cieco e nel colon ascendente; il 35% nel sigma; il 18% nel colon trasverso; l'8% nel colon discendente e il restante 1% in sede multipla(72,106).

Dal punto di vista macroscopico si riconoscono quattro forme di cancro del colon-retto:

- vegetante;
- ulcerata;
- infiltrante;
- anulare-stenosante.(107)

Benché tutti i carcinomi colici possano iniziare come forme in situ all'interno di polipi adenomatosi, esse evolvono con diversi quadri morfologici in base alla sede di insorgenza. I carcinomi del colon prossimale tendono a crescere in masse polipoidi che si estendono lungo la parete del colon ascendente e del cieco (in questi casi l'ostruzione è rara). I carcinomi del colon distale invece tendono a crescere in modo circolare attorno al viscere e spesso danno luogo ad una stenosi intestinale, detta ad "anello di tovagliolo". Tipicamente, i margini di tale anello appaiono rilevati con una zona centrale di ulcerazione.

Con il passare del tempo (probabilmente anni) ambedue le forme di carcinoma infiltrano in modo diretto la parete intestinale e possono apparire a livello della sottosierosa o della sierosa come masse solide, biancastre, che causano frequentemente corrugamenti della superficie esterna.(72)

A differenza degli aspetti macroscopici, le caratteristiche microscopiche dei carcinomi del colon destro e sinistro sono simili. Istologicamente gli aspetti variano da cellule cilindriche alte, simili a quelli delle lesioni adenomatose (ma che in questo caso invadono la sottomucosa e la muscolare propria) a cellule indifferenziate che formano masse francamente anaplastiche. Il tumore invasivo inoltre evoca un'intensa reazione stromale desmoplastica che è responsabile della tipica consistenza dura della maggior parte dei tumori colici.(72)

Per ciò che concerne le varietà istologiche dei tumori del colon-retto il Consensus Statement del College of American Pathologists(108) raccomanda di utilizzare la classificazione dell'OMS secondo cui, tra i tumori epiteliali, si riconoscono le seguenti varietà(109) :

- adenocarcinoma (85%);
- adenocarcinoma mucinoso (10%);
- adenocarcinoma con cellule ad anello con castone (2%);
- carcinoma squamoso (1%);
- carcinoma adenosquamoso (1%);
- carcinoma a piccole cellule (<1%);
- carcinoma indifferenziato (<1%).

I tumori epiteliali rappresentano dal 90 al 95% di tutti i tumori coloretali (la rimanente parte è costituita da forme rare come linfomi, sarcomi e tumori endocrini, che presentano una prognosi e un trattamento diverso). Nell'85% dei casi si tratta di adenocarcinomi moderatamente differenziati. Le varianti meno comuni sono classificate sulla base della predominanza di un tipico pattern: ad esempio un tumore è classificato come mucinoso se più del 50% del suo volume è costituito da mucina.

La mucina viene secreta nei lumi ghiandolari o nell'interstizio della parete intestinale; tale secrezione, disseccando la parete dell'intestino, sembrerebbe favorire l'estensione della neoplasia, ma a tutt'oggi è

ancora da confermare se l'istotipo mucinoso sia associato ad una peggiore prognosi.(72,73)

L'adenocarcinoma con cellule ad anello con castone si può definire tale se più del 50% del suo volume è costituito da queste cellule particolari, la cui morfologia è dovuta alla presenza di mucina intracellulare che disloca verso la periferia il nucleo e il citoplasma. Questa varietà istologica è associata ad una prognosi peggiore(110).

I carcinomi squamoso ed adeno-squamoso sono rari; i primi originano nel canale ano-rettale, i secondi sono neoplasie a sede distale che contengono focolai di differenziazione squamosa(72).

Il carcinoma a piccole cellule è una forma molto rara, poco differenziata, del tutto analoga al microcitoma polmonare ed estremamente aggressiva per la precoce disseminazione ematogena(111).

Il grado di differenziazione delle cellule che compongono il tumore può essere diverso: il tumore può presentarsi come ben differenziato (G1), cioè costituito da elementi che presentano un buon livello di somiglianza con le normali cellule cilindriche della mucosa intestinale; moderatamente differenziato (G2) fino ad arrivare alle forme scarsamente differenziate o completamente indifferenziate (G3).

Il mancato differenziamento, o anaplasia, è caratterizzato da una serie di modificazioni morfologiche. Sia le cellule che i loro nuclei mostrano un caratteristico pleomorfismo, cioè una variazione di forma e dimensioni. Si possono trovare cellule che sono molte volte più grandi delle cellule vicine, ed altre che possono essere estremamente piccole e di aspetto primitivo. Caratteristicamente i nuclei contengono un eccesso di DNA ed appaiono estremamente scuri (ipercromici). Essi sono sproporzionatamente grandi rispetto alle dimensioni cellulari, ed il rapporto nucleo/citoplasma, normalmente di 1:4 o 1:6, si può avvicinare a valori di 1:1. La morfologia nucleare è generalmente assai variabile e

la cromatina è spesso ammassata in maniera irregolare e distribuita lungo la membrana nucleare. All'interno di questi nuclei si osservano generalmente voluminosi nucleoli.

Inoltre i tumori anaplastici mostrano in genere un grande numero di mitosi, che rispecchia l'elevata attività proliferativa delle cellule parenchimali, e soprattutto figure mitotiche atipiche e bizzarre, che talvolta producono fusi tripolari, quadripolari o multipolari.

Un altro aspetto importante dell'anaplasia è la formazione di cellule tumorali giganti, alcune delle quali sono caratterizzate dalla presenza di un solo grande nucleo polimorfo, mentre altre presentano due o più nuclei. Queste cellule giganti non debbono essere confuse con le cellule infiammatorie di Langhans o con le cellule giganti da corpo estraneo, che mostrano numerosi nuclei di piccole dimensioni e di aspetto normale. Le cellule giganti maligne hanno nuclei ipercromici ed eccessivamente grandi rispetto alle dimensioni della cellula.

Oltre alle anomalie citologiche descritte sinora, l'orientamento delle cellule anaplastiche risulta spesso decisamente alterato (ad esempio le cellule perdono la loro normale polarità). Cordoni o grossi ammassi di cellule tumorali si accrescono in modo anarchico e disorganizzato. Sebbene queste cellule proliferanti richiedano ovviamente un apporto ematico, spesso lo stroma vascolare è scarso e pertanto in molti tumori anaplastici vaste zone centrali vanno incontro a necrosi ischemica.(112)

I principali parametri considerati per la definizione del grading del tumore sono dunque le caratteristiche di differenziazione citologica delle cellule tumorali insieme alle atipie nucleari, il numero di mitosi e la differenziazione architetturale della neoplasia.

Il grading ha un valore prognostico indipendente nel carcinoma coloretale così come nella maggior parte delle neoplasie, per cui la sua esatta determinazione riveste una notevole importanza (113).

Altri aspetti della valutazione istopatologica del tumore coloretale includono il riscontro di invasione vascolare (V0:no invasione vascolare; V1:invasione vascolare microscopica; V2:invasione vascolare macroscopica), invasione linfatica (L0:assenza di invasione linfatica; L1:presenza di invasione linfatica) e invasione degli spazi perineurali e la valutazione dei margini del pezzo operatorio dopo chirurgia a intento curativo (R0:margini liberi da neoplasia; R1:residuo tumorale microscopico; R2:residuo tumorale macroscopico). Tutti questi parametri, se positivi, rappresentano ulteriori fattori prognostici negativi.(73,108)

L'interessamento di altri organi da parte di cellule di tumore coloretale può avvenire per diffusione locale o per diffusione a distanza.

La diffusione locale può verificarsi essenzialmente attraverso tre modalità: per continuità, per contiguità, per disseminazione esfoliativa.

L'invasione locale si sviluppa a partire dal lume intestinale con un progressivo interessamento della parete del viscere a tutto spessore; poi nel colon e nel retto intraperitoneale il tumore si spinge attraverso la superficie della sierosa fino al coinvolgimento degli organi adiacenti, mentre nel retto extraperitoneale, mancando questa barriera aggiuntiva, si avrà più facilmente e in modo più diretto l'invasione del grasso perirettale e delle strutture presenti nel piccolo bacino.

A seconda del tratto intestinale di insorgenza del tumore stesso possono essere interessati in maniera più o meno importante lo stomaco, il duodeno, il pancreas, la milza, il diaframma, le anse del tenue, il rene, l'uretere, la vescica, l'utero, la prostata, l'omento, la parete addominale etc.

Ad esempio i tumori del colon destro possono interessare il duodeno o il rene destro; quelli del colon traverso coinvolgono più comunemente lo



stomaco e l'omento; le neoplasie della flessura splenica possono invadere la milza, la coda del pancreas, il rene sinistro o il diaframma; i tumori del sigma, ma occasionalmente anche quelli del cieco, possono colpire la cupola vescicale o, nella donna, l'utero. Inoltre, indipendentemente dalla sua localizzazione, qualunque carcinoma coloretale può coinvolgere la parete addominale o stabilire aderenze con le anse dell'intestino tenue.

Per esfoliazione le cellule neoplastiche possono "cadere" nella cavità peritoneale e diffondendosi, soprattutto grazie ai movimenti del liquido peritoneale, possono colonizzare l'intera superficie sierosa (carcinosi peritoneale) o le ovaie (sindrome di Krukenberg).

Inoltre, un massiccio interessamento linfonodale o una grossa massa a partenza rettale possono interessare strutture nervose del piccolo bacino dando origine a sindromi dolorose o a disturbi funzionali (funzioni vescicali e sessuali).(76)

Per quanto riguarda la diffusione a distanza, questa segue due vie, la via linfatica e la via ematica, ed aumenta fortemente la sua probabilità di verificarsi una volta che il tumore infiltra la sottomucosa, in cui sono riccamente rappresentati i vasi ematici e linfatici.

Per via linfatica il tumore del colon può diffondersi inizialmente alle stazioni linfonodali loco-regionali, cioè ai linfonodi epicolici (contenuti nel grasso intorno alla parete del colon)(114) e paracolici (lungo il margine mesenterico), seguiti dalle stazioni linfonodali intermedie (lungo i vasi colici e sigmoidei) e dalle stazioni linfonodali principali (lungo il decorso delle arterie mesenteriche superiore e inferiore, fino alla loro origine dall'aorta).

Per quanto riguarda i tumori del retto invece le vie di drenaggio linfatico sono tre: una via superiore, di gran lunga la più importante, che si dirige verso l'arteria emorroidaria superiore e raggiunge nel mesosigma i

linfonodi principali; una via di drenaggio intermedia che segue i vasi emorroidari medi fino a raggiungere i linfonodi ipogastrici a ridosso della parete pelvica; e una via inferiore, che lungo i vasi emorroidari inferiori, raggiunge i linfonodi inguino-crurali.(73,74)

I linfonodi regionali devono essere accuratamente asportati con l'intervento chirurgico. Si considera stadiato correttamente un tumore in cui vengano analizzati almeno 14 linfonodi e il numero di linfonodi analizzati risulta correlare in modo diretto e indipendente con la sopravvivenza. Il Consensus Statement del College of American Pathologists raccomanda di esaminare almeno 12-15 linfonodi per poter assicurare l'assenza di metastasi linfonodali (N0). L'analisi di un numero minore di linfonodi è considerata un fattore di rischio in termini di prognosi ed assume un suo peso nella decisione su un'eventuale terapia adiuvante (in particolare per quei tumori in stadio II).(108,115-119)

Attualmente con lo sviluppo di tecniche sempre più sensibili come l'immunoistochimica o la PCR (polymerase chain reaction) il numero di linfonodi che all'analisi istologica risultano invasi da cellule neoplastiche è aumentato. Grazie a queste nuove metodiche infatti è possibile evidenziare la presenza di micrometastasi (la cui dimensione massima non supera 0,2 mm) o addirittura la presenza di singole cellule neoplastiche nel contesto di un linfonodo apparentemente normale.

Il problema che a tutt'oggi rimane irrisolto e che è ancora oggetto di controversie, è quale significato e valore prognostico attribuire a queste micrometastasi.

Sebbene oggi la tendenza sia di considerare i linfonodi microscopicamente positivi come negativi, perché non sembra vi sia tra i due gruppi una differenza in sopravvivenza statisticamente significativa, molti clinici preferiscono comunque attribuire alla presenza di

micrometastasi un certo valore prognostico negativo che possa eventualmente aiutare nella decisione su una terapia adiuvante.(108,120-122)

La diffusione a distanza per via ematica coinvolge primariamente il fegato e i polmoni, ma possono essere interessate anche altre sedi come le ossa e meno frequentemente l'encefalo.

Nel 25-30% dei pazienti la malattia raggiunge una diffusione tale da precludere la chirurgia risolutiva.(72)

La propagazione per via ematica delle neoplasie del colon e del retto superiore raggiunge elettivamente il fegato dal momento che i vasi di questi segmenti sono tributari del circolo portale.

Il sangue refluo dal retto medio e inferiore circola attraverso le vene emorroidarie medie e inferiori per cui raggiunge la cava inferiore e di conseguenza il polmone. L'esistenza di numerose anastomosi porto-cavali rende ragione della relativa facilità con cui le cellule neoplastiche provenienti dal colon raggiungono questa seconda sede di metastasi.(74)

## **1.6 SINTOMATOLOGIA E DIAGNOSI**

La diagnosi di cancro coloretale può essere posta sia al termine della valutazione di un paziente sintomatico che attraverso esami di screening in pazienti asintomatici. Nella maggior parte dei casi sono segni e sintomi clinici a condurre alla diagnosi definitiva. Un'ampia varietà di sintomi e segni addominali sono correlati al cancro del colon-retto. Tra questi: sanguinamento digestivo inferiore (melena, solitamente per i tumori del colon destro; sangue rosso vivo per i tumori del colon distale e del retto), presenza di sangue occulto nelle feci, dolore addominale, alterazione dell'alvo, nausea, vomito, distensione addominale, perdita di peso, astenia, anemia sideropenica.(123,124)

Per quanto una causa frequente di sanguinamento rettale sia la patologia emorroidaria, il riscontro di quest'ultima in un paziente con proctorragia non deve esimere dal compiere un esame dell'intero colon alla ricerca di un'eventuale neoplasia, specie se il paziente è anziano(73).

I tumori del colon destro si manifestano più spesso con dolore addominale, sanguinamento cronico occulto fino all'anemia, calo ponderale, astenia e con una massa palpabile. Questo è dovuto al fatto che il colon destro ha un calibro maggiore rispetto al sinistro e il tumore, che si sviluppa come una massa polipoide, ha tutto il tempo di accrescersi rimanendo a lungo silente; l'ostruzione infatti a questo livello è rara e i sintomi sono tardivi e del tutto aspecifici.

I tumori della porzione sinistra invece tendono ad accrescersi anularmente producendo così alterazioni dell'alvo (alternanza di stipsi e diarrea), formazione di feci nastriformi, sanguinamenti occulti o sangue rosso vivo commisto alle feci (dovuto al traumatismo durante il passaggio del bolo fecale, aumentato anche dal fatto che il calibro del

colon sinistro è minore), fino ad arrivare ad una sintomatologia ostruttiva vera e propria che si manifesta con dolore e distensione addominale e alvo chiuso al passaggio di feci e gas.

I tumori del retto si manifestano con proctorragia, alterazioni dell'alvo, modificazioni del calibro fecale (feci nastriformi), tenesmo e massa rettale palpabile.(74)

Le neoplasie maligne del colon possono esitare in una perforazione libera in cavità peritoneale con conseguente peritonite generalizzata oppure determinare perforazioni con peritoniti contenute e formazione di fistole. La perforazione può avvenire o nella sede del tumore primitivo per totale infiltrazione della parete intestinale o a monte di un'ostruzione serrata per dilatazione delle anse e in particolare a livello del cieco dove, in presenza di un'occlusione a valle e di una valvola ileo-cecale continente, si determina una spiccata distensione delle sue pareti fino alla conseguente perforazione che si manifesta con il quadro dell'addome acuto (intenso dolore addominale, febbre, addome intrattabile e presenza alla radiografia diretta dell'addome della caratteristica falce aerea sottodiaframmatica). La perforazione rappresenta una complicanza del tumore del colon-retto e costituisce un fattore prognostico negativo, non solo perché aumenta il rischio di diffusione delle cellule neoplastiche, ma anche per l'elevata mortalità associata alla conseguente peritonite. La sopravvivenza a cinque anni di un tumore che si presenta con perforazione si attesta infatti al 44% contro il 59% per i pazienti senza tale presentazione.(73,76)

Le altre due complicanze con cui può rendersi manifesto un tumore del colon-retto e che rappresentano ulteriori due fattori prognostici negativi sono l'emorragia e l'occlusione.

L'emorragia, caratteristica soprattutto dei tumori del retto, anche se in genere poco frequente, si presenta con grande perdita di sangue rosso

vivo dal retto e conseguente anemizzazione acuta e ipovolemia del paziente (76). Questa complicanza è comunque ancora oggetto di discussione, perché se da un lato un tumore che si presenta con sanguinamento abbondante dà segno di sé più precocemente e quindi ciò dovrebbe rappresentare un fattore positivo; dall'altro sembra che un paziente fortemente anemizzato e ipovolemico e che quindi necessita di trasfusioni di sangue in fase perioperatoria presenti un maggior tasso di recidive e una peggiore sopravvivenza libera da malattia rispetto ai pazienti che non necessitano di trasfusioni. Questi risultati sono però controversi, visto che altri studi hanno dimostrato che non vi è alcuna influenza negativa delle trasfusioni di sangue sulla sopravvivenza e sul tasso di recidive della neoplasia; probabilmente l'impatto negativo attribuito alle trasfusioni è dovuto ad altre variabili o alle patologie di base che rendono necessarie le trasfusioni stesse.(73,76,125)

L'altra complicanza con cui il tumore del colon-retto può esordire e che rappresenta, insieme alla perforazione, un sicuro fattore prognostico negativo, è l'occlusione intestinale. Essa è generalmente legata alla presenza di una grossa massa nel colon sinistro, nelle flessure o nel colon trasverso e si manifesta con dolore di tipo crampiforme, distensione addominale, alvo chiuso alle feci e ai gas e presenza alla radiografia diretta dell'addome dei caratteristici livelli idroaerei. Un'ostruzione intestinale completa o parziale si realizza nel 2-16% dei casi di tumore coloretale. La presenza di ostruzione è un fattore prognostico negativo, tale che la sopravvivenza a cinque anni di un tumore che si presenti con sintomatologia ostruttiva si attesta al 31% contro il 59% per i pazienti senza tale presentazione. Bisogna anche ricordare che l'occlusione intestinale non è dovuta necessariamente ad una stenosi per accrescimento intraluminale della neoplasia, ma può essere anche secondaria ad un interessamento delle anse del tenue per diffusione

locale della malattia o per carcinosi peritoneale (quadro ancor più grave per la presenza di multiple occlusioni intestinali).(73,76)

Per quanto riguarda il dolore addominale, abbiamo visto come questo possa variare da un dolore di tipo crampiforme, tipico di una subostruzione, ad un dolore ben più intenso e diffuso nei casi di perforazione con peritonite generalizzata. Questi però non sono gli unici casi in cui può presentarsi dolore; altre sindromi dolorose associate possono insorgere per il coinvolgimento del pavimento pelvico da parte di una neoplasia rettale; inoltre un tumore rettale localmente avanzato può produrre una sindrome dolorosa neuropatica per l'interessamento dei nervi ischiatico e/o otturatorio.(73,76)

In ogni caso tutti i pazienti che presentano sintomi compatibili con la diagnosi di cancro coloretale devono essere sottoposti ad una pancoloscopia. Quest'ultimo esame permette la biopsia di eventuali neoformazioni nonché l'atto terapeutico di rimozione di eventuali polipi(83).

Tutti i pazienti con tumore ostruttivo in cui non sia possibile eseguire una pancoloscopia dovranno sottoporsi all'esame dell'intero colon non appena ciò sia possibile.

Nel 10-15% dei pazienti che giungono all'attenzione del medico con una malattia già metastatica segni e sintomi sono generalmente ben evidenti. Il dolore localizzato all'ipocondrio destro, specie se accompagnato da segni di epatomegalia o da una massa epatica palpabile, indica spesso la presenza di metastasi epatiche. Una febbre di origine sconosciuta può essere la manifestazione della malattia metastatica. I pazienti con un diffuso coinvolgimento epatico (spesso accompagnato da ittero e alterazione, agli esami ematochimici, dei parametri di funzionalità epatica) o con una carcinomatosi peritoneale possono manifestare ascite

con segni di evidente distensione addominale o sintomi di sazietà precoce o di franca ostruzione.(73,76)



## **1.7 STADIAZIONE E PROGNOSI**

Un sistema di stadiazione ampiamente utilizzato in passato è quello descritto da Astler e Collier nel 1954, che rappresenta una modificazione della classificazione di Dukes e Kirklin (tabella 1.7a)(126).

**Tabella 1.7a: Classificazione di Astler e Collier dei carcinomi del colon e del retto\***

<b>STADIO TUMORALE</b>	<b>ASPETTI ISTOLOGICI DELLA NEOPLASIA</b>
A	Limitata alla mucosa
B1	Estesa nell'ambito della muscolare propria ma senza attraversarla; i linfonodi non sono interessati
B2	Diffusa a tutta la parete del viscere e oltre; i linfonodi non sono interessati
C1	Estesa nell'ambito della muscolare propria ma senza attraversarla, con metastasi linfonodali
C2	Diffusa a tutta la parete del viscere e oltre, con metastasi linfonodali
D	Metastasi a distanza

Il problema principale di questa classificazione è il fatto di non considerare l'estensione del coinvolgimento linfonodale.

In un'analisi di 844 pazienti con linfonodi positivi riportata dal National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Program (NSABP)(127) è stato dimostrato che i due più importanti fattori prognostici sono la profondità della penetrazione del tumore a livello della parete intestinale e il numero

---

\* Da *Manuale di Oncologia Clinica* Bianco A.R. 3ª edizione 2003, pag.141

di linfonodi positivi. Più precisamente si è visto che pazienti con 1-3 linfonodi positivi presentano una prognosi significativamente migliore di quelli con un numero maggiore di linfonodi coinvolti. Il numero di linfonodi positivi sembra anzi essere il singolo fattore prognostico più importante.

Ecco perché oggi viene utilizzata la classificazione TNM. Questo sistema si basa infatti sul grado di invasione della parete intestinale da parte del tumore primitivo (T), sul numero di linfonodi locoregionali interessati dalla neoplasia (N) e sulla presenza o assenza di metastasi a distanza (M).

I criteri per definire lo stadio clinico-patologico del tumore del colon-retto proposti dalla AJCC-UICC sono esposti nella tabella 1.7b. Nella tabella 1.7c è invece schematizzato il sistema di stadiazione.(128,129)

**Tabella 1.7b: Classificazione TNM per i tumori del colon-retto**

<b>T-Tumore primitivo</b>	
<b>TX</b>	Tumore primitivo non valutabile
<b>T0</b>	Tumore primitivo non evidenziabile
<b>Tis</b>	Carcinoma in situ: intraepiteliale o invasione della lamina propria <sup>1</sup>
<b>T1</b>	Tumore che invade la sottomucosa
<b>T2</b>	Tumore che invade la muscolare propria
<b>T3</b>	Tumore con invasione attraverso la muscolare propria nella sottosierosa o nei tessuti pericolaci o perirettali non ricoperti dal peritoneo
<b>T4</b>	Tumore che invade direttamente altri organi o strutture <sup>2.3</sup> e/o perfora il peritoneo viscerale

Note:

- 1) Tis include cellule neoplastiche confinate entro la membrana basale ghiandolare (intraepiteliale) o la lamina propria (intramucosa) senza estensione attraverso la muscolaris mucosae nella sottomucosa.
- 2) L'invasione diretta in T4 comprende l'invasione di altri segmenti del colon-retto attraverso
- 3) la sierosa: per esempio invasione del colon sigmoideo da un carcinoma del cieco.
- 4) Un tumore che macroscopicamente aderisce ad altre strutture o organi viene classificato come T4. Tuttavia, se non vi è evidenza istologica di tumore a livello della zona di adesione, la classificazione deve essere pT3.
- 5) T4a: tumore che invade direttamente altri organi o strutture.
- 6) T4b: tumore che perfora il peritoneo viscerale(73).

<b>N-Linfonodi regionali</b>	
<b>NX</b>	Linfonodi regionali non valutabili
<b>N0</b>	Linfonodi regionali liberi da metastasi
<b>N1</b>	Metastasi in 1-3 linfonodi regionali
<b>N2</b>	Metastasi in 4 o più linfonodi regionali

Note:

- Un nodulo neoplastico nel tessuto adiposo pericolico o perirettale, senza evidenza istologica di tessuto linfatico residuo, viene classificato nella categoria pN come metastasi linfatica regionale se il nodulo ha la forma e i margini netti di un linfonodo. Se il nodulo ha i margini irregolari, deve essere classificato nella categoria T e anche come V1 (invasione venosa microscopica) o V2, se il nodulo

era macroscopicamente evidente, in quanto vi è alta probabilità che vi possa essere invasione venosa.

- **pN0:** l'esame istologico del materiale ottenuto con una linfadenectomia regionale comprende abitualmente 12 o più linfonodi. Se i linfonodi sono negativi, ma il numero di linfonodi è inferiore a quello usualmente esaminato, si classifica comunque come pN0. N0 infatti denota che tutti i linfonodi esaminati sono negativi; anche se in questo caso è necessario considerarlo un fattore prognostico negativo, non tanto per il coinvolgimento linfonodale da parte della neoplasia, che in realtà sembra mancare (e quindi dovrebbe rappresentare un fattore favorevole per quanto riguarda la prognosi), ma per l'insufficiente numero di linfonodi analizzati che mi porta a sottostadiare il tumore (per stadiare accuratamente i pazienti, nei tumori T2 o T3, sono necessari l'asportazione e l'esame di almeno 14 linfonodi).(116)

<b>M-Metastasi a distanza</b>	
<b>MX</b>	Metastasi a distanza non accertabili
<b>M0</b>	Metastasi a distanza assenti
<b>M1</b>	Metastasi a distanza presenti

**Nota:**

- Il coinvolgimento dei linfonodi iliaci esterni, iliaci comuni, para-aortici, sovraclaveari o di altri linfonodi non locoregionali è classificato come una metastasi a distanza (M1).

**Tabella 1.7c: Raggruppamento in stadi secondo il sistema TNM**

<b>STADIO</b>	<b>T</b>	<b>N</b>	<b>M</b>
Stadio 0	Tis	N0	M0
Stadio I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
Stadio IIA	T3	N0	M0
Stadio IIB	T4	N0	M0
Stadio IIIA	T1	N1	M0
	T2	N1	M0
Stadio IIIB	T3	N1	M0
	T4	N1	M0
Stadio IIIC	ogni T	N2	M0
Stadio IV	ogni T	ogni N	M1

Lo stadio I comprende tutte quelle neoplasie in fase iniziale che invadono al massimo la muscolare propria senza superarla (T1 e T2) in assenza di metastasi linfonodali e a distanza.

Per quel che riguarda lo stadio II, si può notare come il parametro T assuma un importante valore prognostico, tanto da determinare un'ulteriore suddivisione in uno stadio IIA per le neoplasie che si presentano come T3N0M0 e in uno stadio IIB per quelle che si presentano invece come T4N0M0.

Lo stadio III è caratterizzato dalla positività dei linfonodi locoregionali in assenza di metastasi a distanza. Greene et al. hanno dimostrato l'importanza prognostica di T nei pazienti con coinvolgimento linfonodale da parte delle cellule neoplastiche(130). Nella categoria N1 (da 1 a 3 linfonodi positivi), T ha un alto valore prognostico; infatti i pazienti con un tumore T1 o T2 (stadio IIIA) hanno una prognosi significativamente migliore dei pazienti con un tumore T3 o T4 (stadio IIIB). Nella categoria

N2 (4 o più linfonodi positivi), il parametro T invece non ha alcun significato prognostico. I pazienti che presentano questo importante coinvolgimento linfonodale (stadio IIIC) hanno una prognosi peggiore rispetto ai pazienti N1 (stadio IIIA e IIIB).

Dunque è possibile affermare che il parametro T ha un valore dal punto di vista prognostico nei pazienti con tumore N0 e N1 ma non per quelli con tumore N2.

Per concludere lo stadio IV comprende tutti quei pazienti con metastasi a distanza (M1).(73)

Nella tabella 1.7d è riportata la sopravvivenza a 5 anni, stratificata per stadio patologico. E' necessario però sottolineare che in questa tabella lo stadio III non viene suddiviso nei tre sottogruppi A, B e C e ciò spiega l'ampio range di variabilità della sopravvivenza (dal 25% al 55%).

**Tabella 1.7d: Sopravvivenza a 5 anni stratificata per stadio patologico.\***

<b>STADIO</b>	<b>CRITERI TNM</b>	<b>SOPRAVVIVENZA a 5 ANNI (%)</b>
0	Tis N0 M0	100
I	T1 N0 M0	90-100
	T2 N0 M0	80-85
IIA	T3 N0 M0	55-70
IIB	T4 N0 M0	30-45
IIIA-IIIC	ogni T N1-2 M0	25-55
IV	ogni T ogni N M1	<5

Oltre alla stadiazione patologica basata sulla profondità di penetrazione della malattia attraverso la parete intestinale e sull'interessamento di linfonodi e organi a distanza, sono stati identificati numerosi altri fattori

\* Da Cotran S, Kumar V, Collins T. *Robbins. Le basi patologiche delle malattie*, 6ª edizione, Piccin editore, 2000, Cap.18, pag. 979

prognostici potenzialmente indipendenti. Il numero di fattori che vengono segnalati come prognostici di sopravvivenza cresce continuamente ma solo per alcuni si sono avute conferme da studi importanti.(108)

Tra i vari fattori prognostici (73,76) studiati per il carcinoma coloretale si annoverano: la presenza di ostruzione o perforazione (131), la situazione dei margini dopo resezione (R0-R1-R2), l'invasione vascolare (V0-V1-V2), linfatica (L0-L1) e perineurale (132), il grading (133), l'età e il sesso (la giovane età e il sesso maschile sono correlati ad una prognosi peggiore (76)), l'istotipo (73,110,111), il ricorso a trasfusioni di sangue nel periodo perioperatorio(125), i livelli preoperatori di CEA, il contenuto di DNA (fenotipo aneuploide)(134), l'instabilità dei microsatelliti (MSI), la perdita del gene DCC su 18q, l'espressione di timidilato sintetasi (TS), la positività della p53, i livelli di Ki-67.

L'**MSI** è la manifestazione di mutazioni a carico dei geni che presiedono al meccanismo di riparazione del danno subletale al DNA. A parità di stadio, i tumori coloretali con MSI hanno una prognosi migliore degli altri, anche se sembra siano più resistenti alla chemioterapia, in particolare al 5-FU. Questi risultati necessitano comunque di ulteriori studi (72,73,101-103,111).

La perdita del gene oncosoppressore **DCC** (Deleted in Colon Cancer) sul cromosoma 18q rappresenta un fattore prognostico negativo e un fattore predittivo di resistenza al trattamento chemioterapico (72,73,98-100).

I livelli preoperatori di **CEA** (antigene carcinoembrionario) hanno un importante valore dal punto di vista prognostico. Un livello preoperatorio superiore a 5 ng/ml è considerato infatti un fattore prognostico negativo; in più i pazienti in cui questi elevati valori di CEA non tendono a normalizzarsi dopo una chirurgia potenzialmente curativa sono considerati ad alto rischio di recidiva e presentano un tasso di sopravvivenza peggiore rispetto a quei pazienti che, a parità di stadio,

hanno livelli preoperatori più bassi o che comunque tendono a normalizzarsi dopo la chirurgia. Proprio per questo motivo è raccomandato richiedere il livello di CEA preoperatorio a tutti quei pazienti che devono essere sottoposti ad una chirurgia per il carcinoma coloretale (135).

Nessun altro marker sierico si è dimostrato avere un tale potere prognostico e predittivo nel tumore del colon-retto; anche il Ca19-9 (Carbohydrate antigen 19-9), normalmente richiesto insieme al CEA non sembra avere questo valore prognostico (73).

Recenti studi hanno dimostrato, anche se non definitivamente, il valore prognostico, in termini di sopravvivenza globale e di sopravvivenza libera da ricadute, dell'espressione della timidilato sintetasi (TS), della positività della p53 e dei livelli di Ki-67 (136).

La **timidilato sintetasi** costituisce il bersaglio intracellulare delle fluoropirimidine; i dati relativi al suo significato prognostico sono ancora contrastanti; anche se studi preliminari suggeriscono che elevati livelli di TS possano essere predittivi di resistenza al 5-FU (73,136,137).

Per quanto riguarda il gene oncosoppressore **p53**, bisogna precisare che un'overespressione di p53 è spesso associata ad una sua mutazione, mentre la mancata espressione dello stesso è indicativa di una p53 wild-type (ciò è vero nel 60-80% dei casi). Secondo alcuni studi l'overespressione di p53 è associata ad una prognosi peggiore (136), mentre secondo altri questa associazione non esiste o è addirittura contraria.

Secondo uno studio del Southwest Oncology Group (SWOG) infatti l'espressione di p53 è correlata ad una prognosi migliore per i tumori del colon-retto in stadio III, ma non per quelli in stadio II. I risultati di questo studio dimostrano che la sopravvivenza a sette anni è del 56 % per i



tumori in stadio III con positività di p53 rispetto al 43% per i tumori dello stesso stadio, ma senza espressione di p53 (138).

A causa di questi dati discordanti non è ancora possibile utilizzare l'espressione di p53 come fattore prognostico routinario, ma sono necessari ulteriori studi (73).

Infine, anche per quanto riguarda **Ki-67**, utilizzato come indice di proliferazione, non è possibile giungere ad un risultato univoco. Diversi studi hanno dimostrato che un'alta frazione di cellule in fase S (>20%) e quindi con elevati livelli di Ki-67 (Ki-67 è espresso infatti dalle cellule attivamente impegnate nel ciclo cellulare e rappresenta perciò un marker di proliferazione) sia associata ad una maggior probabilità di recidive e ad una ridotta sopravvivenza (138,139).

Allegra CJ et al. hanno dimostrato invece il contrario e cioè che alti livelli di Ki-67 sono correlati ad una prognosi migliore e più precisamente i pazienti che presentano un tumore in stadio C di Dukes; mentre quelli con carcinoma in stadio B e alti livelli di Ki-67 hanno una peggior prognosi sia per quanto riguarda la sopravvivenza libera da recidive che la sopravvivenza globale.

Il motivo di questi risultati così contrastanti non è chiaro e richiede ulteriori studi preclinici e clinici.(136)

In ogni caso è possibile affermare che in un futuro non troppo lontano l'evoluzione delle conoscenze e delle tecniche di biologia molecolare porterà a formulare delle prognosi individualizzate per ogni paziente con precisione via via crescente.

## **1.8 CENNI DI TERAPIA CHIRURGICA**

L'approccio terapeutico al cancro del colon-retto è, in prima istanza, esclusivamente chirurgico. Il tipo di intervento varia a seconda che l'intendimento perseguibile sia curativo o palliativo.

La possibilità di resecare radicalmente il tumore è in relazione a diversi fattori:

- *Estensione locale*: allorché è presente l'infiltrazione di strutture od organi contigui, la radicalità chirurgica è correlata alla possibilità di asportare "in blocco" tutto ciò che è coinvolto dal processo neoplastico; una eventuale carcinosi peritoneale esclude invece qualsiasi potenzialità curativa;
- *Estensione regionale*: la diffusione neoplastica al sistema linfatico locoregionale condiziona senza dubbio la prognosi, anche se la linfadenectomia estesa può assumere in questo senso un ruolo certamente significativo; l'interessamento, nelle localizzazioni sinistre, dei linfonodi interaortocavali viene comunque considerato, in genere, indice di malattia generalizzata;
- *Metastatizzazione a distanza*: la disseminazione a livello epatico, polmonare, cerebrale od osseo è quasi sempre condizione di incurabilità; soltanto per alcune ripetizioni epatiche o polmonari, confinate ed aggredibili chirurgicamente, si può intravedere qualche possibilità di trattamento exeretico presuntivamente radicale.(140)

La stadiazione preoperatoria del paziente con tumore del colon-retto è fondamentale per decidere la migliore strategia operatoria da attuare, per valutare l'obiettivo che l'intervento chirurgico vuole ottenere (curativo o palliativo) e infine anche per avere un'idea sulla prognosi di ogni singolo paziente. La valutazione routinaria che precede ogni intervento di

chirurgia maggiore deve essere quindi completata con i seguenti presidi diagnostici e di laboratorio:

- *Ecografia o TC addominale*: importanti esami diagnostici da eseguire al fine di rilevare la presenza di metastasi epatiche o di dilatazioni ureterali;
- *Radiografia del torace in due proiezioni o TC del torace*: per escludere la presenza di metastasi polmonari;
- *Pancolonscopia*: laddove possibile deve essere sempre eseguita alla ricerca di eventuali neoplasie sincrone (sia adenomi che carcinomi) il cui riscontro cambierebbe la strategia operatoria;
- *Misurazione delle concentrazioni ematiche di CEA e Ca 19.9*: al fine di avere una valutazione iniziale che avrà la sua importanza nel follow-up postoperatorio.(141)

Una resezione radicale con intento curativo è fattibile nell'80-90% dei pazienti con diagnosi di carcinoma coloretale (141).

Un principio fondamentale delle resezioni coliche eseguite in elezione è l'adeguata preparazione del paziente all'intervento in modo da ridurre il contenuto fecale e la carica batterica dell'intestino. Questo, in aggiunta all'utilizzo di antibiotici per via parenterale e di appropriate tecniche anastomotiche, riduce il rischio di sepsi e di morbidità postoperatorie.

La gestione chirurgica deve sempre includere la valutazione delle possibili metastasi epatiche. Sebbene venga accompagnata comunemente dalla palpazione e dall'ispezione, l'ecografia intraoperatoria del fegato ha aumentato la capacità di scoprire le piccole metastasi (142-144). L'indice Doppler di perfusione può essere d'aiuto nel valutare l'interessamento epatico, poiché la malattia altera precocemente il flusso sanguigno epatico (145).

L'estensione della resezione colica è determinata dalla necessità di rimuovere completamente il drenaggio linfatico della porzione di colon colpita dal tumore oltre che dall'imperativo di garantire l'indennità dei margini di resezione (146).

Sotto il profilo tecnico la demolizione, per essere radicale, deve comprendere:

- il segmento intestinale sede della neoplasia, con margini di sicurezza sufficientemente ampi sia a monte (e ciò è sempre possibile) che a valle (più problematico soprattutto per quanto riguarda i tumori del retto). La garanzia di avere dei margini liberi da malattia viene da resezioni praticate ad almeno 5 cm di distanza dal tumore, sia in sede prossimale che distale, per quanto riguarda il colon; per il retto invece sono sufficienti 1,5-2 cm, in quanto è stato stimato che la diffusione intraparietale distale (e anche quella prossimale, meno importante però ai fini della scelta dell'intervento da eseguire e della conseguente possibilità di conservare la funzione sfinteriale) raramente supera 1,5-2 cm (solo nel 2% dei casi e ciò corrisponde alle forme anaplastiche che sono quelle più aggressive). In ogni caso, la radicalità dell'intervento di neoplasie che interessano il retto deve essere garantita dalla completa asportazione del mesoretto (TME: Total Mesorectal Excision), tessuto adiposo perirettale ricco di linfonodi e vasi linfatici e possibile sede di recidiva locale (76,140);
- il relativo mesentere con le stazioni di drenaggio linfatico distrettuale, fino a quelle intermedie almeno, nel rispetto della vascolarizzazione del colon residuo(140). Resezioni segmentarie senza un'estesa resezione del mesentere sono praticabili talvolta con intento palliativo.

Nella pratica clinica si eseguono interventi chirurgici standardizzati, con limiti di exeresi ben definiti e tecnica codificata, che variano in base alla sede del tumore (140):

- Nei *tumori del colon destro* viene praticata la resezione dell'ultima ansa ileale (10 cm distali dell'ileo), del cieco, del colon ascendente e della porzione prossimale del colon trasverso; inoltre vengono generalmente recise l'arteria ileocolica, l'arteria colica destra e i rami destri dell'arteria colica media. La continuità intestinale viene ristabilita mediante un'anastomosi ileo-colica. L'intervento eseguito prende il nome di "**emicolectomia destra**".
- Un tumore compreso tra la flessura epatica e la flessura splenica (*tumori del colon trasverso*) richiede una "**colectomia trasversa**" o una "**colectomia destra estesa**". Nella colectomia trasversa viene rimosso il colon trasverso, il grande omento ad esso attaccato, l'arteria colica media e i linfatici che la affiancano.
- Nei *tumori del colon sinistro* viene praticata una "**emicolectomia sinistra**" per cui la flessura splenica del colon viene anastomizzata alla porzione superiore del retto; l'arteria mesenterica inferiore viene legata vicino alla sua origine dall'aorta.
- I *tumori del sigma distale* sono generalmente resecati con l'arteria mesenterica inferiore vicino alla sua origine dall'aorta e con i vasi che servono il sigma-colon. L'anastomosi viene creata tra l'area della flessura splenica e il retto superiore.(147)
- Nei *tumori del retto* gli interventi chirurgici radicali possibili sono essenzialmente due: la "**resezione anteriore**" e "**l'amputazione addomino-perineale secondo Miles**". Quest'ultima in passato costituiva l'intervento classico per i tumori del retto e consisteva nell'asportazione del colon discendente distale, del sigma, del retto e dell'ano nella sua interezza (canale anale con la cute circostante,

apparato sfinteriale, muscoli elevatori e tessuto cellulo-adiposo delle fosse ischio-rettali e pelvi-rettali), con colostomia definitiva in fossa iliaca sinistra. Era dunque un intervento molto demolitivo e gravato da una certa mortalità operatoria (circa 15%). Oggi l'amputazione addomino-perineale trova indicazione solo per quei tumori del retto inferiore che distano meno di 3-4 cm dalla rima anale e per i quali non è possibile la conservazione della funzione sfinteriale. Infatti, grazie all'avvento delle suturatrici meccaniche, all'affinarsi delle tecniche chirurgiche e alla possibilità di nutrizione parenterale totale anche prolungata, il limite inferiore dell'anastomosi coloretale, un tempo fissato a 12 cm dal margine anale, è stato abbassato a 3-4 cm e per questo motivo oggi vi è la tendenza a ricorrere sempre più frequentemente alla resezione anteriore del retto che comporta l'exeresi della metà distale del colon discendente, del sigma e di un'ampia porzione del retto, con preservazione dello sfintere mediante un'anastomosi coloretale bassa o addirittura colo-anale (76,140). La radicalità di questo intervento è garantita solo da una completa escissione del mesoretto (come sostenuto e dimostrato da Heald (148) e da Enker (149)) e dunque è fondamentale l'esperienza del chirurgo. La decisione definitiva sulla conservazione dello sfintere però può essere presa solo durante l'esplorazione chirurgica, dato che essa dipende dalla situazione individuale e dall'effettiva estensione della neoplasia. Per la gran parte dei chirurghi vi deve essere una distanza minima di 1 cm tra il margine inferiore del tumore e la linea dentata, in modo che la distanza dalla rima anale sia di almeno 3-4 cm. Nei pazienti anziani o con condizioni generali scadute, una valida alternativa è costituita dall'intervento secondo Hartman, che consiste nella resezione per via anteriore del tratto di sigma o retto

sede del tumore, la confezione di una stomia con il moncone prossimale in fossa iliaca destra e la chiusura e l'affondamento nella pelvi del moncone distale; tale intervento, inoltre, non preclude la possibilità di una successiva ricanalizzazione (in questo caso la stomia è solo temporanea e non definitiva come nell'amputazione addomino-perineale)(76).

*Estensione della resezione linfonodale:* un'adeguata linfadenectomia è estremamente importante per due ragioni: per molti pazienti con linfonodi positivi la resezione chirurgica può, già di per sé, essere curativa e, come già detto precedentemente, l'asportazione di un congruo numero di linfonodi (almeno 13-14) è fondamentale anche per una corretta stadiazione (116).

*Interessamento degli organi adiacenti:* le aderenze che possono riscontrarsi tra la zona del tumore e gli organi adiacenti non devono essere sezionate. Nella metà dei casi infatti le aderenze sono causate dall'invasione degli organi adiacenti da parte di un carcinoma colico "bulky" trasmurale (150). La separazione delle aderenze può aumentare le recidive e ridurre la sopravvivenza.

La resezione, in caso di coinvolgimento di organi adiacenti, deve avvenire in continuità con quella del tratto di colon colpito dal tumore primitivo. In questi casi una resezione radicale può ancora essere curativa nel 20-50% dei pazienti(150).

*Colectomia laparoscopica:* le tecniche di chirurgia laparoscopica sono sempre più diffusamente impiegate nella gestione delle patologie coloretali benigne e maligne (151). Con queste tecniche si ottengono

ottimi risultati specie se praticate da operatori con notevole esperienza di chirurgia laparoscopica.

Anche la valutazione dell'eventuale interessamento epatico può essere fatta con l'ecografia intraoperatoria laparoscopica (152,153).

La colectomia laparoscopica ha i maggiori vantaggi nella riduzione del tempo di ricovero e nella più precoce rialimentazione postoperatoria (154).

Le complicanze di un intervento di chirurgia laparoscopica coloretale sono assimilabili a quelle della chirurgia in laparotomia, come dimostrato da un ampio studio randomizzato statunitense (155). Le complicanze più caratteristiche della chirurgia laparoscopica sono: danno intestinale da cauterizzazione, ipercapnia, danno ureterale, sviluppo di ernia attraverso le porte di ingresso (156). Un problema relativamente poco frequente è legato all'incapacità da parte del chirurgo di localizzare una piccola lesione per la perdita della possibilità di palpare l'intestino. A questo proposito sono molto interessanti i recenti dati sulle tecniche di chirurgia laparoscopica hand-assisted nell'esperienza di Pietrabissa e coll.(157).

I dati disponibili sulle estensioni delle linfadenectomie e sull'indennità da malattia dei margini di resezione suggeriscono che l'intervento in laparoscopia offre risultati analoghi alla chirurgia aperta dal punto di vista oncologico (147,158).

Alcuni studi hanno documentato recidive a livello delle porte di ingresso dei trocar con percentuali variabili tra l'1% e il 3,8%. Questi valori sono però del tutto sovrapponibili a quelli delle recidive sulle incisioni laparotomiche in chirurgia aperta (155).

Un interessante studio, per quanto retrospettivo, è quello del COST (Clinical Outcomes of Surgical Therapy) Study Group del 1996 (155) che ha analizzato una casistica di 372 pazienti operati con tecnica laparoscopica, concludendo che l'approccio laparoscopico al carcinoma



colorettale offre gli indubitabili vantaggi della tecnica meno invasiva con un risultato oncologico apparentemente sovrapponibile con quello della chirurgia tradizionale.

Prima di estendere le pratiche di chirurgia laparoscopica a tutti i pazienti affetti da carcinoma colorettale, sono necessarie ulteriori conferme da importanti studi prospettici randomizzati che confrontino i risultati dei due approcci in termini di sopravvivenza libera da malattia e di sopravvivenza globale.

Nel 2002 è stato pubblicato un nuovo articolo dello stesso gruppo che ha studiato, in un trial randomizzato, la qualità di vita a breve termine nei pazienti sottoposti ad un intervento tradizionale o ad un intervento di chirurgia laparoscopica, evidenziando un leggero beneficio a favore dei pazienti inclusi nel braccio sperimentale (159).

*Ruolo della chirurgia nei tumori del colon-retto localmente avanzati:* in caso di tumori localmente avanzati non operabili la chirurgia trova spazio essenzialmente per interventi palliativi di deviazione intestinale (con anastomosi colica termino-terminale e conseguente ricanalizzazione dell'intestino o con confezione di una stomia permanente) e in casi molto selezionati è possibile la rimozione di recidive pelviche isolate.

Attualmente la chirurgia costituisce anche il trattamento di scelta per le metastasi epatiche. La loro rimozione completa, contemporanea o successiva all'intervento sul tumore primitivo, può essere addirittura curativa, con sopravvivenza riportata a cinque anni tra il 30% e il 45%, molto maggiore di quanto raggiungibile con qualsiasi terapia medica. La maggior parte dei pazienti però non è candidabile per questo tipo di terapia, in quanto le lesioni epatiche sono numerose (>3), diffuse o di grosse dimensioni (76).

*Terapia delle complicanze:* prevalentemente chirurgica è la terapia delle complicanze, o almeno il primo approccio in urgenza. La resezione del segmento intestinale interessato, il lavaggio e il drenaggio della cavità peritoneale e un'adeguata profilassi antibiotica costituiscono il primo approccio terapeutico in caso di perforazione, emorragia od occlusione intestinale. In tutti i casi si preferisce confezionare una stomia con il moncone prossimale, riservando, se indicato, la ricanalizzazione dell'intestino ad un tempo successivo (circa un mese dopo).(76)

## **1.9 CENNI DI RADIOTERAPIA ADIUVANTE**

Il tumore del retto è caratterizzato da una storia naturale un po' diversa rispetto al tumore del colon. Infatti, a causa della ricca rete linfatica presente nel tessuto adiposo perirettale la neoplasia, dopo intervento chirurgico, può recidivare non solo a distanza ma anche localmente per la persistenza di cellule neoplastiche a livello dei vasi linfatici del mesoretto. Per questo motivo la chirurgia è considerata radicale e curativa solo in seguito alla completa asportazione del mesoretto (Total Mesorectal Excision). Nonostante la radicalità della chirurgia, l'incidenza delle recidive locali fondamentalemente dipende dallo stato di diffusione della malattia al momento dell'intervento: nelle neoplasie intraparietali (T1-T2) è inferiore al 5-10%, in presenza di invasione extraparietale (T3) sale al 15-30%, fino ad arrivare al 35-45% quando è presente anche l'interessamento dei linfonodi locoregionali (N+). Inoltre le recidive locali sono molto più frequenti nelle neoplasie localizzate a livello del retto extraperitoneale; in questo caso manca infatti una barriera importante che è quella del peritoneo.

I tumori del retto intraperitoneale invece si comportano come i tumori del sigma, o più in generale del colon, dando luogo preferenzialmente a metastasi peritoneali o epatiche.

Queste osservazioni hanno costituito il razionale per l'introduzione, fin dagli anni Sessanta, nella strategia terapeutica del cancro del retto extraperitoneale, di terapie adiuvanti principalmente mirate a ridurre l'incidenza di recidive locali.(6)

*Radioterapia adiuvante:* dalla seconda metà degli anni Ottanta si sono susseguiti numerosi studi randomizzati che hanno confrontato la radioterapia postoperatoria con il solo follow-up dopo chirurgia radicale

(160-166). I pazienti inclusi in questi studi presentavano evidenza patologica di infiltrazione extramurale del tumore e/o di interessamento dei linfonodi locoregionali. In tutti gli studi, nel gruppo di pazienti trattati con la radioterapia l'incidenza di recidive locali è risultata inferiore, ma solo nello studio MRC III tale differenza è risultata significativa (165).

Si può dunque concludere che la sola radioterapia postoperatoria ha una certa capacità di incidere sulle recidive locali ma non offre vantaggi in termini di sopravvivenza e inoltre si associa ad una tossicità non trascurabile. Per queste ragioni non può essere considerata una strategia raccomandabile nel cancro del retto radicalmente operato.

*Associazione postoperatoria di radio- e chemioterapia:* è ormai dimostrato l'effetto potenziante del danno cellulare da radiazioni da parte del 5-fluorouracile (5-FU), riconducibile all'inibizione dei fenomeni di riparazione del danno subletale attraverso la deplezione della timidilato sintetasi e alla sincronizzazione in fase S (167).

L'associazione dunque di questo effetto radiosensibilizzante del 5-FU alla sua dimostrata efficacia nel trattamento dei tumori coloretali ha fornito il razionale per l'impiego di questo farmaco insieme alla radioterapia nel cancro del retto.

In tre studi (164,168,169) l'associazione di radio e chemioterapia è stata confrontata o con il follow-up o con la sola radioterapia: la combinazione ha dimostrato un vantaggio significativo sia nel ridurre le recidive locali sia nel prolungare la sopravvivenza. Questa maggior efficacia dell'associazione di radio- e chemioterapia dopo intervento chirurgico si accompagna però ad un aumento di effetti tossici acuti e tardivi rispetto all'uso singolo di chemioterapia o radioterapia.

Inoltre due studi dell'NSABP hanno dimostrato che la chemioterapia postoperatoria da sola è associata ad un maggior rischio di recidiva

locale rispetto alla sola radioterapia postoperatoria o alla combinazione dei due trattamenti (163,170).

Dunque l'uso concomitante di radioterapia e 5-FU rappresenta uno schema efficace di trattamento adiuvante nel cancro del retto in II e III stadio, seppure con una morbilità non trascurabile.

L'infusione protratta di 5-FU durante tutto il corso della radioterapia costituisce la modalità più efficace e meglio tollerata di combinazione. O'Connell et al. hanno infatti confrontato l'associazione tra radioterapia e somministrazione di 5-FU infusione o in bolo, dimostrando che l'infusione continua di 5-FU è associata ad un minor rischio di recidiva tumorale (37% vs 47%,  $p=0,01$ ) e ad un incremento della sopravvivenza globale a 4 anni (70% vs 60%,  $p=0,005$ )(171).

E' interessante sottolineare che il tasso di recidiva locale non è significativamente differente nei due gruppi e dunque la causa dell'incremento della sopravvivenza globale è dovuta ad una maggiore efficacia del trattamento nel controllo delle recidive a distanza.

Infine due successivi studi condotti in Nord America hanno dimostrato che l'aggiunta di leucovorin (LV) al 5-FU durante la radioterapia non migliora né la sopravvivenza libera da malattia, né la sopravvivenza globale (172,173).

*Radioterapia neoadiuvante:* in tutti gli studi randomizzati disponibili la selezione dei pazienti si è basata sul giudizio chirurgico di resecabilità per l'assenza delle tecniche di imaging intrarettale. Dunque la composizione delle casistiche risulta in questo caso diversa da quella degli studi di radioterapia postoperatoria, in cui invece lo stadio della malattia è ben noto (stadio patologico).

Tra i pazienti selezionati prima della chirurgia vi è infatti una quota variabile di soggetti con malattia precoce intraparietale e soggetti con malattia metastatica occulta.

L'analisi di otto studi randomizzati di radioterapia preoperatoria versus la sola chirurgia (174-181) dimostra una riduzione dell'incidenza delle recidive locali che raggiunge in tutti, tranne uno (175), la significatività statistica.

La riduzione delle recidive locali si è tradotta in un vantaggio anche sulla sopravvivenza solo nello Swedish Rectal Cancer Trial (181).

La tossicità associata alla radioterapia preoperatoria è risultata modesta in tutti gli studi e non ha aumentato la morbilità chirurgica; inoltre la percentuale di deiscenze anastomotiche e la mortalità perioperatoria sono risultate sovrapponibili alla sola chirurgia; mentre il lieve aumento delle infezioni della ferita riveste solamente un'importanza clinica modesta.

Dunque la radioterapia neoadiuvante permette di:

- aumentare la resecabilità del tumore;
- effettuare interventi chirurgici più conservativi;
- limitare la possibilità di disseminazione intraoperatoria di cellule neoplastiche;
- sterilizzare eventuali micrometastasi sul margine di resezione o a livello linfonodale.

Un solo studio, l'Uppsala trial, condotto in Svezia, ha confrontato direttamente la radioterapia preoperatoria con la radioterapia postoperatoria: nonostante le maggiori dosi impiegate nel braccio di radioterapia postoperatoria si è ottenuto un significativo vantaggio con il trattamento preoperatorio in termini di recidive locali (12% vs 21%,  $p < 0,02$ ) (182).

Dal punto di vista generale, la radioterapia postoperatoria presenta il vantaggio di essere somministrata quando è ben noto lo stadio della malattia, evitando il pericolo di sovratrattamento e con buona definizione del letto da irradiare; d'altro canto, però, c'è maggior rischio di irradiare le anse del piccolo intestino ed è gravata da maggiori effetti collaterali (diarrea, proctiti, deiscenza di suture chirurgiche).

La radioterapia preoperatoria ha invece il vantaggio di agire su tessuti meglio ossigenati e quindi più radiosensibili, di evitare l'irradiazione del tenue e di ridurre il volume di grosse masse tumorali, consentendo interventi più conservativi, possibilmente con il risparmio della funzione sfinteriale. Lo svantaggio maggiore potrebbe essere quello del sovratrattamento in caso di tumori poco invasivi o di un trattamento inutile nei casi molto avanzati o metastatici; una corretta stadiazione del tumore primitivo con l'ecografia transrettale e della situazione a distanza con la TAC consente comunque di rendere minimo questo problema (76).

*Associazione preoperatoria di radio e chemioterapia:* negli anni Novanta diversi studi di fase II non randomizzati hanno valutato questa opzione terapeutica. I risultati di questi studi sono così riassumibili:

- l'associazione concomitante di radioterapia e 5-FU è applicabile come trattamento preoperatorio con una compliance elevata e non comporta un aumento significativo della morbilità perioperatoria;
- nel 75-80% dei pazienti il trattamento determina una regressione obiettiva importante del tumore documentabile all'esame del pezzo operatorio;
- la riduzione del volume tumorale ha consentito una resezione radicale nel 70-80% dei T4 e l'esecuzione di interventi con conservazione dello sfintere nel 75-89% dei casi.

Nel 2004 il German Rectal Cancer Study Group ha pubblicato i risultati di uno studio randomizzato che ha confrontato, in 823 pazienti con carcinoma del retto in stadio T3 e T4 o linfonodi positivi, l'associazione di chemio e radioterapia preoperatoria con l'associazione postoperatoria, standard di trattamento fino a quel momento.

Il gruppo di pazienti sottoposto a terapia preoperatoria ha ricevuto una dose totale di radiazioni di 50,4 Gy in 28 frazioni con un'infusione continua di 120 ore di 5-FU alla dose di 1000 mg/m<sup>2</sup>/die durante la prima e la quinta settimana di radioterapia. Un mese dopo la chirurgia, lo stesso gruppo di pazienti ha ricevuto una chemioterapia adiuvante, consistente in 4 cicli di 5-FU in bolo alla dose di 500 mg/m<sup>2</sup>/die per 5 giorni ogni 4 settimane.

Il gruppo di pazienti sottoposto invece alla chirurgia come trattamento iniziale, ha ricevuto in fase postoperatoria lo stesso schema di chemioradioterapia e la successiva somministrazione di 5-FU in bolo, con l'aggiunta di un boost di radiazioni alla dose totale di 5,4 Gy in corrispondenza del letto tumorale.

Questo studio ha dimostrato che la chemioradioterapia preoperatoria raddoppia il tasso di interventi chirurgici con la preservazione della funzione sfinteriale e allo stesso tempo diminuisce i tassi di recidiva locale e di tossicità sia acuta che a lungo termine. Nonostante ciò non è stata osservata alcuna differenza in sopravvivenza libera da malattia e in sopravvivenza globale tra i due bracci di trattamento (tabella 1.9a). Infine in questo studio è stato riscontrato che, nonostante tutti i pazienti siano stati sottoposti ad un'ecografia endorettale preoperatoria, circa il 20% di coloro destinati alla chirurgia come primo trattamento, si sono rivelati appartenere ad uno stadio I in seguito alla valutazione istopatologica del pezzo operatorio. Questo implica verosimilmente che anche un 20% circa di pazienti nel braccio di trattamento preoperatorio appartengano in



realità ad uno stadio I di malattia e che quindi siano probabilmente sottoposti ad un sovratrattamento. Inoltre il trattamento preoperatorio è associato ad una minor tossicità acuta e a lungo termine.

**Tabella 1.9a: Sicurezza ed efficacia della chemioradioterapia preoperatoria vs la chemioradioterapia postoperatoria nei pazienti con carcinoma rettale in stadio II e III. Risultati del German Rectal Cancer Study Group.\***

	CT-RT preoperatoria(%)	CT-RT postoperatoria(%)	p
Sopravvivenza globale <sup>1</sup>	76	74	0,80
Sopravvivenza libera da malattia <sup>1</sup>	68	65	0,32
Recidive locali <sup>1</sup>	6	13	0,006
Tossicità acuta <sup>2</sup>	27	40	0,001

**Sicurezza ed efficacia della CT-RT preoperatoria vs CT-RT postoperatoria (Tab.1.9a cont.)\***

	CT-RT preoperatoria(%)	CT-RT postoperatoria(%)	p
Tossicità a lungo termine <sup>3</sup>	14	24	0,01
Chirurgia con preservazione dello sfintere	39	19	0,004

**Note:**

- 1) I tassi di sopravvivenza e recidiva sono stati determinati a 5 anni

\* Modificata da *Gastrointestinal oncology, principles and practice* Kelsen et al. 2002, pag.726.

- 2) Percentuale di pazienti che sviluppa eventi avversi di grado 3 o 4 durante il trattamento (es. diarrea e proctiti)
- 3) Percentuale di pazienti con un qualsiasi evento avverso di grado 3 o 4 documentato dopo 1,3 e 5 anni dalla fine del trattamento (es.stenosi a livello dell' anastomosi)
- 4) Sottogruppo di 194 pazienti candidati ad un'amputazione addomino-perineale con colostomia definitiva in seguito ad una valutazione chirurgica preoperatoria.

*Raccomandazioni e futuri quesiti sul trattamento del carcinoma rettale:*

l'attuale management clinico del carcinoma rettale è basato su un approccio multidisciplinare, che prevede il coinvolgimento di diverse figure specialistiche, dal gastroenterologo, all'oncologo, dal radioterapista, al radiologo, fino al chirurgo. Una determinazione accurata e precoce della sede del tumore e della stadiazione TNM risulta essere particolarmente importante al fine della scelta del miglior trattamento da intraprendere, sia per quanto riguarda il tipo di intervento chirurgico, sia per quanto riguarda l'eventuale bisogno di chemioradioterapia. Per i pazienti con carcinoma rettale in stadio II e III, i dati dei diversi studi clinici dimostrano l'efficacia di un trattamento preoperatorio concomitante di radioterapia e infusione continua di 5-FU, e l'importanza di una resezione chirurgica accompagnata dall'escissione totale del mesoretto (TME). La chemioradioterapia preoperatoria e la chirurgia sono poi tipicamente seguite da quattro mesi di chemioterapia adiuvante.

I dati attuali non sono in grado di dimostrare l'efficacia di bevacizumab, capecitabina, cetuximab, irinotecano od oxaliplatino nel trattamento adiuvante del carcinoma rettale (tabella 1.9b)

**Tabella 1.9b: Raccomandazioni sul trattamento del carcinoma rettale in stadio II e III.\***

- Determinazione accurata della sede del tumore e della stadiazione TNM; fondamentale per programmare il trattamento ideale.
- Indicato un trattamento chemioradioterapico preoperatorio.
- Importanza dell'escissione totale del mesoretto durante la resezione chirurgica.
- Importanza dell'esperienza del chirurgo.
- Assenza di indicazioni all'uso di bevacizumab, capecitabina, cetuximab, irinotecano od oxaliplatino negli schemi di trattamento perioperatorio.

Diverse domande restano ancora senza risposta, come ad esempio se la capecitabina possa essere utilizzata al posto del 5-FU e.v. o se l'aggiunta di altri farmaci citotossici e delle nuove targeted-therapies nei regimi attuali di trattamento possa diminuire la morbidità e la mortalità associate alla malattia. Diversi studi clinici in corso stanno cercando di rispondere proprio a queste domande (tabella 1.9c).

---

\* Modificata da: Wolpin BM et al. Adjuvant Treatment of Colorectal Cancer. *CA Cancer J Clin* 2007; 57:168-185.

**Tabella 1.9c: Studi clinici in corso sul trattamento adiuvante del carcinoma rettale\*.**

<b>Studio clinico</b>	<b>Setting</b>	<b>Randomizzazione</b>
NSABP R-04	CT-RT preoperatoria	5-FU vs capecitabina con o senza oxaliplatino
Accord-12	CT-RT preoperatoria	Capecitabina vs capecitabina+oxaliplatino
RTOG 0247	CT-RT preoperatoria	capecitabina+irinotecano vs capecitabina+oxaliplatino
French Intergroup R98	CT adiuvante	5-FU/LV vs 5-FU/LV+irinotecano
US Gastrointestinal Intergroup	CT adiuvante	5-FU/LV+oxaliplatino vs 5-FU/LV+oxaliplatino+bevacizumab

---

\* Modificata da: Wolpin BM et al. Adjuvant Treatment of Colorectal Cancer. *CA Cancer J Clin* 2007; 57:168-185.

## **1.10 CENNI DI CHEMIOTERAPIA ADIUVANTE**

Una resezione chirurgica curativa dal punto di vista macroscopico è possibile nel 70-80% dei casi di carcinoma coloretale. Tuttavia, senza alcun trattamento aggiuntivo, il 50% circa dei pazienti sviluppa una ripresa di malattia per la presenza di micrometastasi fin dal momento dell'intervento chirurgico (184).

Questa osservazione sollevò, fin dagli anni Cinquanta, un grande interesse per la chemioterapia adiuvante nel trattamento dei pazienti a maggior rischio di ricaduta.

*Fluorouracile endovenoso:* la pietra miliare del trattamento sistemico del tumore del colon-retto è rappresentata dal 5-fluorouracile (5-FU), anche se in realtà per molti anni questo farmaco è stato considerato inefficace come terapia adiuvante. Studi clinici pubblicati negli anni Settanta infatti non dimostrarono un beneficio in sopravvivenza per l'utilizzo del 5-FU in adiuvante (185-188), e una metanalisi di tutti i trials controllati randomizzati pubblicata nel 1988 dimostrò solo un piccolo, ma non statisticamente significativo, vantaggio per la terapia adiuvante (189). Questi studi erano però caratterizzati da campioni troppo piccoli e troppo eterogenei e da una scarsa compliance al trattamento da parte dei pazienti; per questo non sono riusciti a dimostrare definitivamente lievi differenze in termini di sopravvivenza tra un trattamento adiuvante e il solo follow-up, anche se un certo trend a favore dei bracci che prevedevano il trattamento medico è sempre emerso.

Il trattamento adiuvante con 5-FU è stato rivalutato in associazione al levamisolo (LEV), un farmaco attivo per os con proprietà antielmintiche ma anche immunomodulatorie (190-192). Il North Central Cancer Treatment Group (NCCTG)(193) e successivamente l'Eastern

Cooperative Oncology Group (ECOG)(194,195) hanno paragonato la somministrazione di 5-FU e LEV con la sola osservazione. Lo studio NCCTG, comprendente 401 pazienti con tumore del colon-retto in stadio II e III, ha dimostrato una riduzione del 31% del tasso di recidive nei pazienti in stadio III che ricevevano 5-FU e LEV (193). Nello studio ECOG, comprendente 1296 pazienti, il trattamento adiuvante con 5-FU e LEV riduceva il rischio di recidiva del 41% ( $p=0,0001$ ) e il rischio di morte del 33% ( $p=0,006$ ) rispetto alla sola chirurgia nei pazienti in stadio III(194). In contrasto, non è stato riscontrato nessun beneficio significativo nei pazienti in stadio II di malattia.

Grazie ai risultati di questi due studi, nel 1990, il National Cancer Institute Consensus Conference ha raccomandato l'utilizzo del 5-FU e LEV come standard di trattamento adiuvante nei pazienti operati radicalmente per carcinoma del colon-retto in stadio III (196).

In seguito è stato dimostrato che l'attività antitumorale del 5-FU veniva aumentata dalla combinazione con leucovorin (LV), un acido folinico levogiro in grado di stabilizzare l'interazione del 5-FU con la timidilato sintetasi (TS) (197,198).

Perciò la combinazione di 5-FU e LV è stata estesamente studiata nel setting adiuvante dove è stato possibile ottenere un vantaggio significativo sia in termini di sopravvivenza libera da malattia che di sopravvivenza globale verso la sola chirurgia (199-203).

Un'analisi di 7 studi randomizzati ha dimostrato un incremento nella sopravvivenza libera da malattia a 5 anni dal 42% al 58% e nella sopravvivenza globale a 5 anni dal 51% al 61% nei pazienti in stadio III (204).

Studi successivi hanno dimostrato che il trattamento adiuvante con 5-FU e LV somministrato per 6 mesi risulta equivalente al trattamento con 5-

FU e LEV per 12 mesi e che l'aggiunta di LEV al 5-FU e LV non determina un aumentato beneficio (205-208).

Nello studio NCCTG 89-46-51 (206), pazienti con tumori coloretali in stadio II e III radicalmente operati sono stati randomizzati a ricevere una chemioterapia adiuvante con 5-FU, LV e LEV oppure il trattamento standard con 5-FU e LEV. Inoltre i pazienti venivano ulteriormente randomizzati a ricevere il trattamento del braccio a cui erano stati assegnati per 6 o per 12 mesi. Il regime standard si è dimostrato inferiore all'associazione con LV nel trattamento protratto non oltre 6 mesi (sopravvivenza a 5 anni 60% vs 70%;  $p < 0,01$ ), mentre non si sono registrate differenze significative tra i due trattamenti se somministrati per 12 mesi.

Nello studio NSABP C-04 (205), pazienti in stadio B e C di Dukes sono stati randomizzati a ricevere una somministrazione settimanale di 5-FU e LV oppure il regime standard con 5-FU e LEV oppure un'associazione di 5-FU, LV e LEV somministrata settimanalmente. Questo studio ha dimostrato un piccolo, ma statisticamente significativo, vantaggio in sopravvivenza libera da malattia (DFS: 65% vs 60%;  $p = 0,04$ ) ed un trend positivo in sopravvivenza globale (OS: 74% vs 70%) in favore di un trattamento adiuvante con 5-FU in bolo e LV rispetto alla terapia standard con 5-FU e LEV. Il braccio con tutti e tre gli agenti farmacologici non aggiungeva nulla né in termini di sopravvivenza libera da malattia né in termini di sopravvivenza globale al trattamento con soli 5-FU e LV.

Questi risultati sono stati confermati anche da un altro studio randomizzato, l'INT-0089 (207), condotto su 3759 pazienti operati radicalmente per tumore del colon-retto in stadio B o C di Dukes. Questo studio ha dimostrato l'equivalenza in termini di efficacia tra una terapia per 12 mesi con 5-FU e LEV ed un trattamento con 5-FU e LV per 6 mesi; e non ha rilevato differenze tra il braccio con LV a basse dosi e

quello con LV ad alte dosi. Inoltre è stata confermata la conclusione dello studio dell'NSABP che dimostrava come la combinazione di 5-FU, LV e LEV non portava alcun vantaggio al semplice trattamento con 5-FU e LV. Similmente, uno studio tedesco(208) condotto in 680 pazienti in stadio III, pubblicato nel 2001, ha confermato la superiorità della combinazione di 5-FU e LV nei confronti dell'associazione tra 5-FU e LEV sia in termini di sopravvivenza libera da malattia (80 vs 69 mesi;  $p=0,012$ ) che di sopravvivenza globale (89 vs 79 mesi;  $p=0,003$ ).

Questi studi comunque non hanno dimostrato alcuna superiorità di uno specifico schema di somministrazione del 5-FU rispetto agli altri, sebbene siano emersi diversi profili di tossicità(209-212).

Per la schedula "Mayo Clinic" (5-FU: 425 mg/m<sup>2</sup> in bolo, giorni 1-- 5; LV: 200mg/m<sup>2</sup> in bolo, giorni 1--5, ogni 4-5 settimane per un totale di 6 cicli) le tossicità più frequenti sono rappresentate da neutropenia e stomatite di grado 3-4, insieme anche a vomito (grado 3-4) e lieve alopecia (oggi questo schema è stato superato perché considerato troppo tossico).

Per il regime "Rosewell Park" (5-FU: 500mg/m<sup>2</sup> in bolo; LV: 500mg/m<sup>2</sup> in infusione di 2 ore; somministrati settimanalmente per 6 settimane, ogni 8 settimane per un totale di 4 cicli; durata totale del trattamento: 32 settimane) si sono osservati alti tassi di diarrea di grado 3-4, debilitante per il paziente.

Schedule con somministrazione di 5-FU in infusione continua, come il regime "De Gramont" (5-FU: 400mg/m<sup>2</sup> in bolo nei giorni 1 e 2 + 600 mg/m<sup>2</sup> in infusione continua di 22 ore nei giorni 1 e 2; LV: 200mg/m<sup>2</sup> in infusione di 2 ore nei giorni 1 e 2; ogni 2 settimane) o un'infusione venosa protratta di 5-FU a 300mg/m<sup>2</sup> per 3 mesi (PVI: Protracted Venous Infusion) sono associate ad una minore tossicità ematologia e gastrointestinale, anche se determinano una "hand-foot syndrome"



(eritema, fino ad una dermatite esfoliativa con fissurazioni cutanee a livello del palmo delle mani e della pianta dei piedi).

L'associazione tra il 5-FU in bolo e LV ha dunque rappresentato a lungo lo standard di trattamento adiuvante per i pazienti con carcinoma del colon-retto radicalmente operato in stadio III e in stadio II ad alto rischio. Studi più recenti hanno però dimostrato una equi-efficacia e un miglior profilo di tossicità a favore di regimi di associazione tra LV e 5-FU infusionale rispetto al 5-FU/LV in bolo (210-213).

Più recentemente lo studio di fase III MOSAIC (214) ha dimostrato un vantaggio della CT adiuvante con 5-FU + LV + LOHP vs 5-FU + LV da soli. Sono stati randomizzati 2246 pazienti, operati per carcinoma coloretale in stadio II o III, formando due bracci ciascuno di 1123 pazienti. Il primo braccio è stato trattato con 5-FU 400 mg/mq e.v. in bolo, g1 + 600 mg/mq e.v. in i.c. di 22h e LV 200 mg/mq e.v. in infusione di 2h, g1. Il secondo braccio è stato trattato con lo stesso schema a cui è stato aggiunto LOHP 85 mg/mq e.v. in infusione di 2h, g1. Il trattamento prevedeva la somministrazione di 12 cicli di chemioterapia con frequenza bisettimanale. 273 pazienti dei 1123 trattati con 5-FU + LV + LOHP hanno avuto tossicità di grado 3 o 4 (21.1%) contro 293 pazienti dell'altro gruppo (26.1%). Con LOHP le maggiori tossicità di grado 3 o 4 riscontrate sono state: neurotossicità periferica (12.4%), neutropenia (28.8%), diarrea (8.3%), nausea e/o vomito (5%). Con i soli 5-FU + LV le maggiori tossicità di grado 3 o 4 sono state neutropenia (3.7%), diarrea (5.1%). Il tasso di sopravvivenza libera da progressione a 3 anni è stato del 78.2% nel primo braccio contro il 72.9% del secondo (p=0.002).

Lo schema FOLFOX è quindi risultato essere più efficace rispetto al solo 5-FU/LV come terapia adiuvante dei pazienti con carcinoma del colon in stadio II e III, con una tossicità accettabile.

*Raccomandazioni e futuri quesiti sul trattamento adiuvante del carcinoma del colon-retto:* i dati attuali raccomandano una terapia adiuvante della durata di 6 mesi basata su 5-FU/LV ed oxaliplatino nei pazienti con carcinoma del colon-retto in stadio III. Tale trattamento risulta essere ugualmente efficace nei pazienti giovani e in quelli anziani.

Se un paziente riceve una fluoropirimidina in monoterapia, la capecitabina rappresenta un'accettabile alternativa alla somministrazione intravenosa di 5-FU/LV.

I dati correnti non supportano l'utilizzo di irinotecano, cetuximab o bevacizumab nel trattamento adiuvante del cancro del colon-retto, al di fuori di trials clinici.

Nei pazienti in stadio II, studi prospettici non hanno dimostrato un beneficio della terapia adiuvante, e le linee guida attuali non ne raccomandano un uso routinario. Nonostante ciò, il trattamento adiuvante per quei pazienti in stadio II ad alto rischio può risultare ragionevole, anche se il suo effettivo valore non è ancora stato validato in modo prospettico (tabella 1.10a).

**Tabella 1.10a: Raccomandazioni sul trattamento adiuvante del carcinoma del colon-retto in stadio II e III.\***

**Pazienti con tumore in stadio III:**

- Dimostrata efficacia della terapia adiuvante basata su 5-FU/LV e oxaliplatino della durata di 6 mesi.
- Uguale efficacia nei pazienti giovani e anziani.
- Simile efficacia tra capecitabina e 5-FU/LV e.v. in monoterapia.
- Assenza di indicazioni all'uso di irinotecano, cetuximab o bevacizumab negli schemi attuali di terapia adiuvante.

## **Pazienti con tumore in stadio II:**

- Assenza di un beneficio in sopravvivenza della terapia adiuvante nei pazienti in stadio II a rischio standard.
- Probabile beneficio per i pazienti ad alto rischio di recidiva, anche se non ancora dimostrato con studi clinici randomizzati di tipo prospettico.

\*Modificata da: Wolpin BM et al. Adjuvant Treatment of Colorectal Cancer. *CA Cancer J Clin* 2007; 57:168-185.

Diverse domande restano ancora senza risposta, come ad esempio se la capecitabina possa essere utilizzata al posto del 5-FU/LV e.v. nei regimi di combinazione di chemioterapia adiuvante (ad es. insieme all'oxaliplatino); o come meglio inserire le nuove targeted-therapies nei trattamenti citotossici attuali; o quali specifici sottogruppi di pazienti in stadio II possano beneficiare realmente di una terapia adiuvante. Alcuni studi clinici in corso stanno cercando di rispondere proprio a queste domande (tabella 1.10b).

**Tabella 1.10b: Studi clinici in corso sulla terapia adiuvante del carcinoma del colon-retto.\***

<b>Studio clinico</b>	<b>Stadio AJCC-UICC</b>	<b>Randomizzazione</b>
ITALY (TOSCA)	III	FOLFOX/XELOX 6 mesi vs FOLFOX/XELOX 3 mesi
QUASAR 2	III	capecitabina + placebo vs capecitabina + bevacizumab
NCCTG N0147	III	FOLFOX vs FOLFOX + cetuximab
PETACC-8	III	FOLFOX vs FOLFOX + cetuximab
NSABP C-08	II, III	FOLFOX vs FOLFOX + bevacizumab
AVANT	II, III	FOLFOX vs FOLFOX + bevacizumab vs XELOX + bevacizumab
ECOG E5202	II	<u>Alto rischio</u> (MSS o MSI-L e 18q LOH)*: FOLFOX vs FOLFOX + bevacizumab <u>Rischio standard</u> : osservazione

\* Note:

- MSS: Microsatellite Stability
- MSI-L: Microsatellite Instability-Low
- 18q LOH: Loss of Heterozygosity at chromosome 18q.

## **1.11 RUOLO DELLA CHEMIOTERAPIA NEL TRATTAMENTO DEL CARCINOMA COLORETTALE METASTATICO**

Benché in quasi il 90% dei casi sia possibile una resezione radicale del tumore primitivo, circa la metà dei pazienti va incontro ad una ripresa di malattia e muore a causa della diffusione metastatica del tumore. I pazienti con carcinoma coloretale avanzato vengono generalmente sottoposti ad un trattamento chemioterapico con intento palliativo.

Per oltre 30 anni il **5-fluorouracile (5-FU)** è stato l'unico farmaco attivo nel carcinoma coloretale disponibile in clinica. Il 5-FU è un analogo fluorinato, monosostituito dell'uracile i cui metabolici attivi sono: 5-fluorodesossiuridina monofosfato (5-FdUMP), 5-fluorodesossiuridina trifosfato (5-dUTP) e 5-fluorouridina trifosfato (5-FUTP).

Come 5-FdUMP si lega all'enzima timidilato sintetasi (TS) e, con il cofattore folato, forma un complesso ternario stabile che impedisce la sintesi della timidina e di conseguenza del DNA; come 5-FdUTP si incorpora nel DNA alterandone la stabilità; come 5-FUTP si sostituisce all'uracile nella sintesi dell'RNA (73).

Una metanalisi (215) di vari studi randomizzati ha dimostrato che un trattamento con 5-FU in monochemioterapia è in grado di indurre remissioni obiettive in circa il 10-15% dei casi, di migliorare la qualità di vita dei pazienti e di prolungare la sopravvivenza mediana dai 5-6 mesi ottenibili con la sola terapia di supporto a 10-12 mesi.

Inoltre, un importante studio randomizzato (216) ha evidenziato che il vantaggio è maggiore quando la chemioterapia viene iniziata precocemente in fase pre-sintomatica.

Nel tentativo di migliorare i risultati della chemioterapia con 5-FU sono state studiate associazioni con altri principi attivi in grado di modularne

l'attività biologica. Una delle associazioni più studiate è stata quella tra 5-FU e leucovorin (LV) il quale permette di aumentare l'inibizione di TS favorendo la formazione e la stabilità del complesso FdUMP-TS(217).

Numerosi studi di fase III (218-221) hanno dimostrato che le risposte ottenute con l'associazione di LV e 5-FU sono superiori a quelle del solo 5-FU, ma un unico studio (197) ha fatto registrare un aumento della sopravvivenza.

Un'altra modalità studiata per migliorare i risultati della terapia con 5-FU è stata l'infusione continua (i.c.). Il 5-FU infatti possiede alcune caratteristiche farmacocinetiche e farmacodinamiche che ne rendono razionale la sua somministrazione in infusione continua e cioè: breve emivita, fase-specificità (fase S), attività non rapidamente citotossica (antimetabolita). Sono stati condotti vari studi clinici che hanno confrontato l'infusione continua del 5-FU rispetto alla somministrazione in bolo. Una metanalisi (222) ha analizzato i risultati relativi a 1219 pazienti inseriti in 6 studi randomizzati (5 studi con 5-FU in bolo non modulato e 1 studio con 5-FU in bolo + LV) ed ha evidenziato come i regimi infusionali siano superiori a quelli in bolo non modulato in termini di remissioni obiettive (22% vs 14%;  $p=0,0002$ ) e, seppure in misura minore, anche in termini di sopravvivenza mediana (12,1 vs 11,3 mesi;  $p=0,04$ ); inoltre nei regimi in bolo si è osservata una maggiore incidenza di tossicità ematologica (31% vs 4%), mentre con i trattamenti infusionali è stata riportata una maggiore frequenza di "hand-foot syndrome".

Dal punto di vista del meccanismo di azione è stato ipotizzato che il 5-FU in bolo e il 5-FU infusionale agiscano prevalentemente su due vie metaboliche differenti, determinando, il primo, una interferenza nella sintesi proteica a causa della sua incorporazione nell'RNA, e il secondo, una inibizione di TS con blocco della sintesi del DNA.

Relativamente al confronto tra 5-FU infusione e 5-FU in bolo modulato sono di particolare interesse due studi randomizzati. In un primo studio (223), De Gramont et al. hanno dimostrato come alte dosi di LV e 5-FU in bolo + infusione siano superiori a basse dosi di LV e 5-FU in bolo in termini di remissioni obiettive (32,6% vs 14,4%;  $p=0,0004$ ) e di sopravvivenza libera da progressione (27,6 vs 22 settimane;  $p=0,0012$ ), ma non in termini di sopravvivenza (62 vs 56,8 settimane;  $p=0,067$ ); il regime in bolo inoltre era associato ad una maggiore incidenza di tossicità di grado 3-4 (23,9% vs 11,1%), in particolare neutropenia, diarrea e mucosite.

Nel secondo studio (224), Sobrero et al. hanno randomizzato 214 pazienti a ricevere 5-FU in bolo + MTX oppure lo stesso trattamento alternato ad una infusione di 5-FU; anche in questo studio si è osservato un vantaggio a favore del regime infusione in termini di remissioni obiettive (36% vs 14%;  $p=0,003$ ) e di sopravvivenza libera da progressione (6,2 vs 4,3 mesi;  $p=0,03$ ) ma non differenze significative in sopravvivenza (14,8 vs 14,1 mesi).

Falcone et al.(225) hanno studiato un trattamento con 5-FU somministrato in infusione continua semi-intermittente in cui il 67% della dose del 5-FU veniva somministrata durante 8 ore del giorno ed il 33% nelle rimanenti 16 ore; questo tipo di infusione viene anche definita “a istogrammi” in quanto il passaggio tra le due differenti velocità di infusione avviene in maniera brusca e non con una curva sinusoidale. L'interesse a studiare questo tipo di infusione era dovuto all'evidenza, in studi preclinici e clinici, che la modulazione circadiana dell'infusione del 5-FU ne riduceva la tossicità permettendo di incrementarne la dose-intensity e l'attività, ma non era però ben chiaro quale fosse il timing di cronoinfusione più vantaggioso e se la somministrazione sinusoidale fosse realmente necessaria. Sono stati pertanto trattati, nell'ambito di

uno studio randomizzato, 113 pazienti affetti da carcinoma colorettales metastatico con 5-FU in infusione di 14 giorni ogni 28, somministrato in infusione costante (27 pazienti), e tre differenti modalità di infusione semi-intermittenti in cui il 67% della dose totale del farmaco era somministrata: tra le ore 00.00 e le 08.00 (29 pazienti), tra ore 08.00 e le 16.00 (29 pazienti) e tra le ore 16.00 e le 24.00 (28 pazienti). Lo studio aveva come obiettivi la valutazione della tossicità e della massima dose tollerabile (MTD) di questi quattro regimi infusionali. Nei pazienti trattati con l'infusione costante si è osservata una maggiore incidenza di diarrea e di stomatite ( $p < 0,01$ ) che ha comportato una minore dose-intensity ( $p < 0,001$ ) e una minore MTD ( $p < 0,01$ ) rispetto ai tre regimi semi-intermittenti. Tra i tre regimi semi-intermittenti, invece, non sono emerse differenze rilevanti in termini di tossicità, dose-intensity e MTD. Questi risultati dimostrano che la tossicità del 5-FU può essere ridotta dalla modulazione circadiana non sinusoidale, ma semi-intermittente della sua somministrazione. Tuttavia, poiché la riduzione della tossicità si ottiene indipendentemente dal tipo di ritmo circadiano utilizzato, se ne deduce che il miglior profilo di tossicità dei regimi semi-intermittenti sia in relazione non tanto a modifiche circadiane della tolleranza al 5-FU, ma alla stessa semi-intermittenza, indipendentemente dal suo ritmo circadiano.

In questi ultimi anni sono stati compiuti importanti progressi nel trattamento del cancro colorettales grazie all'introduzione in clinica di nuovi farmaci, quali le fluoropirimidine orali, l'irinotecano (CPT-11) e l'oxaliplatino (L-OHP).



Le **fluoropirimidine orali** sono dei profarmaci del 5-FU che, grazie alla loro elevata biodisponibilità, possono essere somministrati per os. Le molecole attualmente disponibili in clinica sono la capecitabina e l'UFT.

La **capecitabina**, un profarmaco del 5-FU, sembra avere un'efficacia simile al 5-FU somministrato in bolo ed anche un miglior profilo di tossicità (226,227).

Sono stati condotti due studi multicentrici randomizzati di fase III che hanno confrontato un trattamento di prima linea con capecitabina (1250mg/m<sup>2</sup> per os somministrati 2 volte al giorno; giorni 1• 14, ogni 3 settimane per 8 cicli) allo schema Mayo Clinic costituito dalla associazione 5-FU 425 mg/mq bolo e.v. più leucovorin (LV) 20 mg/mq bolo e.v. per 5 giorni ogni 4 settimane. L'analisi cumulativa effettuata su tutti i 1.207 pazienti randomizzati (228,229) ha dimostrato un tasso di remissioni obiettive significativamente superiore a favore della capecitabina (25.7% vs 16.7%, p<0.0002; confermato da un gruppo di esperti indipendente 22.4% vs 13.2%, p<0.0001), con una equivalente efficacia sia in termini di tempo a progressione (4.6 vs 4.7 mesi) che in termini di sopravvivenza mediana (12.9 vs 12.8 mesi). La capecitabina inoltre ha dimostrato di possedere un miglior profilo di tossicità rispetto al 5-FU/LV con una incidenza significativamente inferiore di diarrea, stomatite, nausea, alopecia e di neutropenia di grado 3 o 4 (p<0.001) e, conseguentemente, è associata ad una incidenza inferiore di episodi di neutropenia febbrile, sepsi ed ospedalizzazione. Un evento avverso che si verifica più frequentemente con la capecitabina è la hand-foot syndrome che però è facilmente gestibile e raramente determina ospedalizzazione o interruzione del trattamento.

La capecitabina è stata inoltre studiata in combinazione con irinotecano od oxaliplatino . I risultati di diversi studi di fase II sembrano indicare che queste combinazioni determinino gli stessi tassi di risposta,

di tempo a progressione e di sopravvivenza rispetto alla combinazione tra 5-FU/LV e.v. e irinotecano od oxaliplatino. Questi dati sembrano dunque suggerire che gli schemi di polichemioterapia contenenti capecitabina possano rimpiazzare i regimi a base di 5-FU/LV (230-238). Uno studio randomizzato di fase III ha confrontato l'associazione di capecitabina + oxaliplatino (XELOX) con il regime FOLFOX-4 come terapia di prima linea nel trattamento del carcinoma coloretale metastatico allo scopo di dimostrare la non inferiorità dello schema contenente capecitabina rispetto allo standard FOLFOX-4. In base ai risultati ottenuti (PFS mediana 8,0 mesi nel primo braccio vs 8,5 mesi nel secondo; sopravvivenza globale mediana 19,8 mesi vs 19,6 mesi) è stata dimostrata una sostanziale equi-efficacia tra i due regimi come trattamenti di prima linea, ed in base a ciò XELOX può esser considerato un'opzione terapeutica routinaria in pazienti appropriati. (239)

Un vasto studio di fase III ha randomizzato 1900 pazienti a ricevere un regime infusionale di 5-FU/LV + oxaliplatino (FOLFOX-4: 5-FU 400mg/m<sup>2</sup> in bolo + 600mg/m<sup>2</sup> in infusione di 22 ore; LV 200mg/m<sup>2</sup> in infusione di 2 ore al giorno 1 e 2; oxaliplatino 85mg/m<sup>2</sup> e.v. al giorno 1; ogni 2 settimane per un totale di 12 cicli) o capecitabina + oxaliplatino (XELOX: capecitabina 1000mg/m<sup>2</sup> per os 2 volte al giorno, giorni 1--14; oxaliplatino 130mg/m<sup>2</sup> e.v. giorno 1; ogni 3 settimane). Questo studio prevede inoltre una seconda randomizzazione: bevacizumab e chemioterapia versus placebo e chemioterapia. I dati preliminari di questo studio dimostrano che i due regimi, XELOX e FOLFOX-4, presentano un'uguale efficacia nel trattamento di prima linea del carcinoma del colon-retto metastatico, in termini di sopravvivenza libera da progressione; anche dal punto di vista di tossicità i due regimi risultano sovrapponibili. Anche con la seconda randomizzazione si è riscontrato un significativo prolungamento della sopravvivenza libera da

progressione nel braccio contenente bevacizumab + chemioterapia (XELOX/FOLFOX) versus il braccio contenente placebo + XELOX o FOLFOX. L'analisi dei sottogruppi ha però dimostrato una differenza statisticamente significativa solo nel regime contenente bevacizumab + XELOX (PFS: 9,3 vs 7,4 mesi;  $p=0,0026$ ) e non in quello con FOLFOX-4 (PFS: 9,4 vs 8,6 mesi;  $p=0,1871$ )(242).

Anche gli studi sull'associazione di capecitabina e irinotecano sembrano dimostrare un'efficacia simile tra questa combinazione e quella contenente 5-FU/LV e.v. + irinotecano. Nonostante ciò il profilo di sicurezza e la dose del regime a base di capecitabina risultano meno chiari. Uno studio dell'EORTC Gastrointestinal Cancer Group ha infatti cercato di rispondere a queste domande comparando l'associazione capecitabina/irinotecano (capecitabina  $1000\text{mg}/\text{m}^2$  per os 2 volte al giorno, giorni 1--14; irinotecano  $250\text{mg}/\text{m}^2$  e.v. giorno 1; ogni 3 settimane) con il regime FOLFIRI.

Lo studio è stato però chiuso a causa di un'inaspettata alta incidenza di eventi tossici nel gruppo di pazienti trattati con capecitabina/irinotecano(243).

Fuchs et al.(240) hanno pubblicato i risultati di uno studio di fase III (BICC-C) in cui sono stati comparati tre differenti regimi contenenti irinotecano nel trattamento di prima linea di pazienti con carcinoma coloretale metastatico al fine di valutarne efficacia e sicurezza. Su un totale di 430 pazienti affetti da carcinoma coloretale metastatico non precedentemente trattati, 144 sono stati randomizzati per ricevere FOLFIRI, 141 IFL e 145 XELIRI. Nel 15,6% dei 145 pazienti trattati con XELIRI si è verificato vomito di grado 3 e 4, diarrea nel 47,5% e disidratazione nel 19,1% (significativamente più frequentemente rispetto ai pazienti in terapia con FOLFIRI). Sebbene la sopravvivenza globale

non sia stata significativamente differente fra i 3 bracci, la PFS mediana è stata nettamente migliore nei pazienti trattati con FOLFIRI rispetto a quelli trattati con XELIRI (rispettivamente 7,6 mesi vs 5,8 mesi;  $p=0,015$ ).

Lo studio CAIRO del Dutch Colorectal Cancer Group ha valutato il regime XELIRI e non si sono riportati importanti problemi per quanto riguarda la tossicità nel braccio di pazienti che ricevono la terapia di combinazione con capecitabina (244).

Dunque i dati ottenuti da questi trials suggeriscono cautela nell'utilizzare le associazioni tra capecitabina e irinotecano al di fuori di studi clinici, mentre l'associazione tra capecitabina e oxaliplatino sembra fattibile ed equi-efficace rispetto al FOLFOX.

Il tegafur uracile (**UFT**) è costituito da una fluoropirimidina orale, il tegafur, e da un inibitore della diidropirimidina deidrogenasi (DPD), l'uracile in rapporto di 1:4. La DPD è un enzima che si trova sulla mucosa intestinale, che determina il catabolismo delle fluoropirimidine. L'uracile dunque, bloccando questo enzima, permette un migliore assorbimento del tegafur e una conseguente maggiore biodisponibilità del farmaco stesso(245).

Due studi randomizzati di fase III hanno confrontato una terapia orale con UFT 300 mg/mq/die e LV 75-90 mg/die per 28 giorni ogni 35 ad una terapia con FU+LV in bolo ev secondo lo schema della Mayo Clinic in pazienti con carcinoma colo-rettale metastatico non pretrattati con chemioterapia. Nel primo studio (246), in cui sono stati arruolati 816 pazienti, il trattamento con FU+LV veniva ripetuto ogni 4 settimane ed è stato osservato un tasso di risposte obiettive simile (12% vs 15%) ed una sopravvivenza globale sovrapponibile (12.4 vs 13.4 mesi) tra i due bracci; il trattamento con UFT+LV si è dimostrato vantaggioso in termini

di tossicità con una incidenza significativamente inferiore di neutropenia febbrile, infezioni e mucositi ( $p < 0.05$ ).

Nel secondo studio (247), in cui sono stati arruolati 380 pazienti, il trattamento con FU+LV veniva riciclato ogni 5 settimane e non sono state osservate differenze statisticamente significative in termini di risposte obiettive e sopravvivenza globale; è stato confermato il miglior profilo tossicologico dell'UFT+LV.

Per quanto riguarda la combinazione di UFT/LV con altri farmaci citotossici, i dati disponibili sono ancora limitati.

Concludendo si può affermare che la capecitabina e l'UFT rappresentano una alternativa al 5-FU in bolo, con interessanti vantaggi in termini di tollerabilità e di praticità di trattamento.

**L'irinotecano (CPT-11)** è un inibitore dell'enzima topoisomerasi I che, grazie al suo innovativo meccanismo di azione, si è rivelato attivo anche in pazienti resistenti al 5-FU (248,249). Due studi di fase III hanno evidenziato come, in pazienti resistenti al 5-FU, una chemioterapia di seconda linea con CPT-11 determina un vantaggio in sopravvivenza e in qualità di vita rispetto alla sola terapia di supporto o ad un trattamento con 5-FU infusione (250,251).

Di particolare rilievo sono i risultati di due trials multicentrici che hanno confrontato un trattamento di prima linea con CPT-11+5-FU+LV verso il solo 5-FU+LV. Nel primo studio, statunitense (252), 683 pazienti sono stati randomizzati a ricevere una combinazione di CPT-11 e 5-FU/LV in bolo (regime IFL) oppure solo 5-FU/LV in bolo o solo CPT-11; nei pazienti trattati con IFL si è osservato un vantaggio statisticamente significativo in remissioni obiettive (39% vs 21%;  $p < 0,0001$ ), in tempo alla progressione (7,0 vs 4,3 mesi;  $p = 0,004$ ) e in sopravvivenza mediana (14,8 vs 12,6 mesi;  $p = 0,042$ ).

Nel secondo studio, europeo (253), si è confrontata in 387 pazienti un'associazione di CPT-11+5-FU infusione e LV (secondo lo schema settimanale "AIO" o bisettimanale "De Gramont") al solo 5-FU/LV; anche in questo caso il braccio con CPT-11 si è rivelato superiore in termini di attività (41% di risposte contro il 23%;  $p < 0,005$ ) e di efficacia con un tempo alla progressione di 6,7 mesi vs 4,4 mesi ( $p < 0,001$ ) e una sopravvivenza globale di 17,4 mesi vs 14,1 mesi ( $p = 0,032$ ). Il dato più interessante che emerge da questi due studi è l'evidenza che trattare pazienti con carcinoma coloretale avanzato con una terapia di prima linea più attiva comprendente CPT-11+5-FU/LV determina un significativo prolungamento della sopravvivenza, nonostante che, in entrambi gli studi, circa 2/3 dei pazienti trattati con solo 5-FU/LV avessero ricevuto una terapia di seconda linea spesso comprendente anche il CPT-11.

L'**oxaliplatino (L-OHP)** è un derivato del platino di terza generazione attivo nel carcinoma coloretale che è stato studiato in questa neoplasia solo negli ultimi dieci anni (254). L'oxaliplatino, in diversi studi, si è rivelato attivo nei pazienti resistenti al 5-FU ed è capace di determinare un beneficio, quando utilizzato in seconda linea, nei pazienti con carcinoma coloretale metastatico. Inoltre uno studio randomizzato di fase III ha dimostrato che la combinazione 5-FU/LV+oxaliplatino (regime FOLFOX) è più attiva del solo 5-FU/LV (regime "De Gramont") o dell'oxaliplatino in monoterapia nel trattamento di seconda linea (256).

Grazie a questi risultati, l'oxaliplatino è stato largamente studiato nei trattamenti di prima linea del carcinoma del colon-retto metastatico. In particolare sono stati condotti, da gruppi cooperativi francesi, due studi randomizzati di fase III che hanno confrontato l'associazione 5-FU/LV+oxaliplatino con il solo 5-FU/LV, utilizzando lo schema infusione

“De Gramont” nell’uno (256) e uno schema cronoinfusione nell’altro (257). Tutti e due gli studi hanno evidenziato che l’aggiunta di oxaliplatino permette di ottenere un maggior tasso di remissioni obiettive (51% vs 22%;  $p < 0,01$  e 53% vs 16%;  $p < 0,001$  rispettivamente) e un più lungo tempo alla progressione (9 vs 6,2 mesi;  $p < 0,01$  e 8,7 vs 6,1 mesi;  $p = 0,048$  rispettivamente), sebbene non si siano osservate differenze statisticamente significative in sopravvivenza globale (16,2 vs 14,7 mesi;  $p = 0,12$  e 19,4 vs 19,9 mesi;  $p = 0,18$  rispettivamente), probabilmente a causa della bassa potenza statistica dei due studi.

L’oxaliplatino e il CPT-11 possiedono differenti meccanismi d’azione ed un diverso spettro di tossicità (neurotossicità cumulativa per l’oxaliplatino; diarrea e alopecia per il CPT-11), per cui l’associazione di questi due composti ha suscitato notevole interesse.

L’oxaliplatino agisce attraverso la formazione di addotti con il DNA ed uno dei principali meccanismi di resistenza a questo farmaco è la loro rapida escissione: tale processo è reso possibile dallo “svolgimento” della doppia elica del DNA mediato dall’enzima topoisomerasi I che è il bersaglio dell’SN-38 (metabolita attivo del CPT-11).

Zeghari-Squalli et al.(258) hanno evidenziato come l’esposizione di linee cellulari HT29 di cancro del colon umano ad oxaliplatino e SN-38 determini un ritardo nella riparazione degli addotti platino-DNA, una più prolungata inibizione della elongazione del DNA indotta da SN-38 ed un più marcato arresto in fase S SN-38 mediato, dimostrando un effetto citotossico sinergico tra le due molecole.

Sono stati condotti vari studi di fase I-II in cui sono stati associati oxaliplatino e CPT-11 con schedula settimanale, bisettimanale e trisettimanale (259-262). L’associazione si è rivelata essere fattibile, le tossicità dose-limitanti sono state neutropenia e diarrea, e nei pazienti

con carcinoma colorettaie metastatico pretrattati con 5-FU sono state ottenute remissioni di malattia nel 54-64% dei casi.

Inoltre sono da segnalare i risultati dello studio dell'intergruppo statunitense N9741 (263) in cui un totale di 796 pazienti con carcinoma colorettaie metastatico non pretrattati sono stati randomizzati a ricevere una chemioterapia secondo il regime IFL di Saltz (CPT-11+5-FU/LV in bolo), oppure secondo lo schema FOLFOX-4 (oxaliplatino+5-FU/LV infusione), oppure secondo lo schema IROX (CPT-11+oxaliplatino). Dopo un follow-up mediano di 17,4 mesi si è evidenziato un vantaggio statisticamente significativo del regime FOLFOX-4 nei confronti del regime IFL in termini di remissioni obiettive (45% vs 31%;  $p=0,02$ ), sopravvivenza libera da progressione (8,7 vs 6,9 mesi;  $p<0,001$ ) e sopravvivenza globale (19,5 vs 14,8 mesi;  $p<0,001$ ).

I dati attualmente disponibili indicano che le associazioni FOLFIRI e FOLFOX sono sostanzialmente equi-efficaci pur avendo un differente spettro di tossicità e che il regime FOLFOX-4 è più efficace del regime IFL (con CPT-11 settimanale e 5-FU in bolo). Peraltro risulta sempre più evidente che il miglior controllo di malattia si ottiene in quei pazienti in cui si riesce ad utilizzare tutti i farmaci attivi (fluoropirimidine, CPT-11, oxaliplatino). A questo proposito sono interessanti i dati di uno studio multicentrico di fase III condotto dal gruppo francese GERCOR(275) in cui 226 pazienti sono stati randomizzati a ricevere in prima linea un trattamento secondo lo schema FOLFIRI (CPT-11 + 5-FU/LV infusione) fino a progressione e quindi una chemioterapia di seconda linea secondo il regime FOLFOX-6 (L-OHP+ 5-FU/LV infusione) (sequenza A) oppure la sequenza inversa (FOLFOX-6 e alla progressione FOLFIRI, sequenza B).



I risultati dimostrano come il trattamento con entrambe le sequenze sia fattibile con attività ed efficacia promettenti. Il tempo alla seconda progressione è stato rispettivamente di 14,2 e di 10,9 mesi ( $p=0,64$ ), il tempo a progressione dopo la prima linea è stato 8,5 mesi per il FOLFIRI e di 8,0 mesi il FOLFOX, il tempo a progressione dopo la seconda linea è stato di 2,5 mesi per il FOLFIRI e di 4,2 mesi per il FOLFOX, la sopravvivenza globale per entrambi i bracci è stata superiore a 20 mesi ( $p=0,9$ ). Il tasso di remissioni obiettive con FOLFIRI è stato del 56% in prima linea e del 4% in seconda linea, mentre per il FOLFOX è stato rispettivamente del 54% e del 15% (in entrambi i casi  $p$  non significativa).

Tra i 109 pazienti che hanno ricevuto FOLFIRI in prima linea, 8 sono stati sottoposti a resezione chirurgica delle metastasi epatiche (7 con R0, cioè con margini di resezione microscopicamente indenni); tra i 111 pazienti che hanno ricevuto FOLFOX in prima linea, 21 sono stati sottoposti a resezione chirurgica delle metastasi epatiche (13 con R0).

Questi dati suggeriscono che la maggioranza dei pazienti può ricevere almeno due linee chemioterapiche ottenendo una sopravvivenza mediana superiore a 20 mesi sia con la sequenza FOLFIRI• FOLFOX che con la sequenza FOLFOX• FOLFIRI.

La terapia medica del cancro coloretale metastatico è pertanto cambiata profondamente negli ultimi anni, muovendosi da una monochemioterapia con 5-FU modulato ad un approccio più aggressivo che prevede l'associazione di due o più agenti attivi (264,265). Le evidenze sopra riportate hanno mostrato che un regime chemioterapico di prima linea molto attivo può permettere, in un sottogruppo di pazienti con cancro del colon-retto metastatico tecnicamente non resecabili

inizialmente, una chirurgia radicale sulle metastasi dopo risposta alla chemioterapia e dunque una chirurgia potenzialmente curativa.

Si è osservato infatti che un 30-40% di pazienti trattati con un regime di prima linea basato su oxaliplatino + 5-FU/LV e successivamente sottoposti a chirurgia radicale sulle metastasi, dopo un follow-up mediano di circa 5 anni, era ancora vivo e, cosa più importante, non presentava evidenza di malattia (266,267).

Questi dati suggeriscono che, in pazienti con cancro coloretale metastatico, un trattamento di prima linea più attivo può essere anche più efficace e la relazione tra la risposta del tumore alla chemioterapia di prima linea e la sopravvivenza è stata dimostrata anche da Buyse M. et al. con una metanalisi, i cui risultati sono stati pubblicati nel 2000(268).

Nel 2002 sono stati pubblicati i risultati di uno studio pilota di fase I-II condotto dall' U.O. di Oncologia Medica dell'Ospedale di Livorno in collaborazione con l'Università degli Studi di Pisa. Tale studio ha arruolato 42 pazienti con cancro del colon-retto metastatico, che hanno ricevuto CPT-11 alla dose di 125-175mg/m<sup>2</sup> e.v. al giorno 1, oxaliplatino alla dose di 100mg/m<sup>2</sup> e.v. al giorno 1, LV alla dose di 200mg/m<sup>2</sup> e.v. al giorno 1 e 5-FU alla dose di 3800mg/m<sup>2</sup> e.v. in infusione continua cronomodulata di 48 ore dal giorno 1 al giorno 3 (FOLFOXIRI).

La nuova combinazione ha dimostrato un'elevata attività antitumorale (risposte obiettive: 71,4%) e una promettente efficacia (PFS mediana: 10,4 mesi, OS mediana: 26,5 mesi). D'altra parte, a causa della neutropenia, che è risultata la tossicità più rilevante (di grado 3 NCI nel 31% dei pazienti; di grado 4 nel 55%), il 32% dei cicli di trattamento è stato effettuato con il supporto di fattori di crescita granulocitari (G-CSF).

Inoltre, il 35% dei cicli ha richiesto riduzioni di dose di almeno un farmaco ed il 16% dei cicli sono stati rinviati di almeno una settimana. Di conseguenza la dose-intensity media è risultata pari al 78% di quella pianificata (272).

Per aumentare quindi la fattibilità del trattamento è stato condotto un successivo studio di fase II in cui 32 pazienti affetti da carcinoma coloretale metastatico sono stati trattati con un regime FOLFOXIRI “semplificato”, comprendente CPT-11 alla dose di 165mg/m<sup>2</sup> e.v. al giorno 1, oxaliplatino alla dose di 85mg/m<sup>2</sup> e.v. al giorno 1, LV alla dose di 200mg/m<sup>2</sup> e.v. al giorno 1 e 5-FU alla dose di 3200mg/m<sup>2</sup> e.v. in infusione continua di 48 ore dal giorno 1 al giorno 3.

I risultati hanno evidenziato che la schedula semplificata ha mantenuto un'elevata attività (risposte obiettive: 72%) ed efficacia (PFS mediana: 10,8 mesi, OS mediana: 28,4 mesi), dimostrandosi allo stesso tempo meglio tollerata (soprattutto per quanto riguarda diarrea e neutropenia), e più fattibile (dose-intensity media 88%). Inoltre, al termine del trattamento chemioterapico, una resezione chirurgica delle metastasi residue è stata valutata in 15 pazienti (47%) ed 8 pazienti (25%) sono stati sottoposti ad una resezione chirurgica radicale R0(273).

Grothey et al.(271) nel 2004 hanno analizzato sette studi randomizzati di fase III condotti in pazienti con carcinoma coloretale metastatico ed hanno dimostrato che la sopravvivenza globale mediana riportata nei diversi lavori correla in modo significativo ( $p=0,0008$ ) con la percentuale di pazienti che hanno ricevuto, nel corso delle diverse sequenze di trattamento, tutti e tre i farmaci attivi (5-FU/LV, CPT-11, L-OHP). Questa osservazione supporta ulteriormente la strategia di integrare i tre farmaci attivi nel trattamento dei pazienti con carcinoma del colon-retto metastatico al fine di massimizzare la sopravvivenza.

Proprio sulle basi di tutto ciò, l'U.O. di Oncologia Medica dell'Ospedale di Livorno ha condotto uno studio randomizzato e multicentrico di fase III al fine di valutare se un'associazione a tre farmaci in prima linea (CPT-11+ L-OHP+5-FU/LV) fosse superiore in termini di attività rispetto ad un regime standard come lo schema FOLFIRI. I dati ottenuti hanno dimostrato, come atteso, che le tossicità sono risultate moderatamente aumentate rispetto alla doppietta FOLFIRI, in particolar modo la neurotossicità e la neutropenia non complicata, anche se la combinazione dei tre farmaci è risultata, in ogni caso, fattibile e generalmente ben tollerata anche in un setting multicentrico.

In termini di attività, il regime FOLFOXIRI si è dimostrato superiore, determinando un incremento nei tassi di risposte tra i più alti mai riportati in nessuno studio randomizzato sulla terapia del cancro del colon-retto metastatico (66% secondo la valutazione degli sperimentatori e 60% secondo una valutazione esterna).

Grazie a questa maggiore attività, nonostante i pazienti arruolati fossero chiaramente considerati non resecabili all'inizio e non fossero selezionati per ricevere una terapia neoadiuvante (il 45-47% presentava infatti un coinvolgimento multiorgano), è stato ottenuto un significativo incremento nel tasso di resezioni chirurgiche radicali sulle metastasi (6% vs 15%;  $p=0,033$ ), e questo risultato è stato particolarmente importante nei pazienti che presentavano un coinvolgimento esclusivamente epatico (12% vs 36%;  $p=0,017$ ). Quindi FOLFOXIRI rappresenta l'unico e significativo fattore predittivo indipendente di risposta obiettiva e di resezione chirurgica R0.

Inoltre FOLFOXIRI ha significativamente incrementato la sopravvivenza libera da progressione di circa 3 mesi (PFS mediana da 6,9 a 9,9 mesi;  $p=0,0009$ ) e ha dimezzato il rischio di progressione precoce.

Infine, anche la sopravvivenza globale, tenendo però conto che questa non costituiva l'end-point primario dello studio e che il numero di pazienti è relativamente basso, è stata significativamente aumentata grazie al regime FOLFOXIRI (OS mediana da 16,7 a 23,6 mesi;  $p=0,042$ ).

Questi risultati dunque supportano fortemente l'ipotesi che un'esposizione, fin da subito, ai tre farmaci è più attiva e probabilmente più efficace rispetto all'utilizzo di una doppietta come il FOLFIRI.

Una chemioterapia di prima linea a tre farmaci attivi secondo lo schema FOLFOXIRI però, avrebbe potuto destare preoccupazioni sui limiti che, dopo progressione, avrebbe potuto avere una chemioterapia di seconda linea. A tale proposito Masi G. et al. hanno valutato i 74 pazienti appartenenti ai due studi di fase II precedentemente analizzati (tasso di risposta globale 71% e 72%; PFS 10,4 e 10,8 mesi; OS 26,5 e 28,4 mesi, rispettivamente)(277,278), al fine di valutare l'efficacia di una terapia di seconda linea, dopo una prima linea secondo il regime FOLFOXIRI. Dei 71 pazienti progrediti, 54 (76%) sono stati sottoposti a chemioterapia di seconda linea (23 pz: FOLFIRI; 16 pz: FOLFOXIRI; 5 pz: 5-FU in infusione protratta; 3 pz: FOLFOX; 3 pz: 5-FU+mitomicina C; 2 pz: CPT-11; 1 pz: CPT-11+L-OHP; 1 pz: raltitrexed).

Diciassette pazienti (24%) non sono stati sottoposti a terapia di seconda linea; questo perché 10 pazienti avevano uno scadente performance status (PS), 4 pazienti si sono rifiutati e 3 pazienti sono deceduti.

Le caratteristiche dei pazienti al momento della terapia di seconda linea erano: M/F 36/18 pazienti; età mediana di 64 anni (range 44-75); ECOG PS  $\geq 1$  in 21 pazienti (39%); sedi multiple di malattia in 33 pazienti (61%). Ogni paziente è stato sottoposto a chemioterapia di seconda linea da un minimo di 1 mese ad un massimo di 8 mesi (mediana di 4,1

mesi). I risultati dello studio sono stati i seguenti: il tasso di risposta globale (52 su 54 pazienti valutabili) è stato del 33%; 19 pazienti (37%) sono andati incontro ad una stabilizzazione di malattia; 16 pazienti (31%) sono andati in progressione. La durata mediana della risposta è stata di 8,1 mesi.

Dopo un follow-up mediano di 15,1 mesi dall'inizio della chemioterapia di salvataggio, la sopravvivenza mediana libera da progressione (PFS) e la sopravvivenza globale (OS) sono state rispettivamente di 6,7 e 15,2 mesi.

In conclusione una chemioterapia di prima linea secondo lo schema FOLFOXIRI non riduce la possibilità di ottenere risposte obiettive e PFS accettabili con una seconda linea di trattamento contenente gli stessi farmaci usati in prima linea(270).

Anche altri studi di fase I-II (274-279) hanno valutato una combinazione simile dei tre farmaci nel trattamento del carcinoma coloretale e non solo, associando CPT-11 e oxaliplatino a differenti schedule di 5-FU/LV, e hanno confermato la fattibilità di questo trattamento, con neutropenia e diarrea come effetti tossici dose-limitanti mostrandone una promettente attività antitumorale nel carcinoma del colon-retto metastatico, rendendo possibile anche una resezione chirurgica radicale delle metastasi in un sottogruppo di pazienti inizialmente non resecabili.

La resezione delle metastasi è infatti attualmente l'unico presidio terapeutico in grado di determinare sopravvivenze a lungo termine, ma al momento è però possibile solo nel 10% dei pazienti. La prognosi dei pazienti con metastasi da carcinoma coloretale inizialmente non operabili può essere migliorata qualora sia possibile eseguire una resezione radicale delle metastasi a seguito di risposta ad un trattamento di chemioterapia neoadiuvante.

Inoltre recentemente un'analisi condotta da Folpercht et al.(280) ha dimostrato una forte correlazione tra l'attività di un trattamento chemioterapico di prima linea nei pazienti con cancro coloretale metastatico e il successivo tasso di resezioni R0 delle metastasi. Dunque una terapia di prima linea contenente tutti e tre i farmaci (CPT-11, L-OHP e 5-FU/LV) potrebbe esporre fin da subito il 100% dei pazienti ad un regime più aggressivo e più attivo rispetto a quello basato sull'utilizzo di soli due farmaci e quindi potrebbe aumentare ulteriormente il tasso di resezioni radicali delle metastasi e migliorare il controllo della malattia a lungo termine.

Masi G. et al.(281) hanno condotto un'analisi retrospettiva sui 74 pazienti appartenenti ai due studi di fase II precedentemente analizzati(271,272). Questi erano pazienti con carcinoma coloretale con metastasi inizialmente non resecabili e lo studio è stato condotto per valutare l'impatto prognostico della resezione chirurgica della malattia metastatica dopo risposta alla chemioterapia. Va ricordato che nel primo studio(271) 42 pazienti erano stati trattati con CPT-11 alla dose di 125-175mg/m<sup>2</sup> e.v. (giorno 1), oxaliplatino alla dose di 100mg/m<sup>2</sup> e.v. (giorno 1), LV alla dose di 200mg/m<sup>2</sup> e.v. (giorno 1), 5-FU alla dose di 3800mg/m<sup>2</sup> e.v. in infusione continua cronomodulata di 48 ore (dal giorno 1 al giorno 3); questo schema (FOLFOXIRI) è stato ripetuto ogni due settimane. Nel secondo studio(273) invece, 32 pazienti erano stati trattati con CPT-11 alla dose di 165mg/m<sup>2</sup> e.v. (giorno 1), oxaliplatino alla dose di 85mg/m<sup>2</sup> e.v. (giorno 1), LV alla dose di 200mg/m<sup>2</sup> e.v. (giorno 1), 5-FU alla dose di 3200mg/m<sup>2</sup> e.v. in infusione continua di 48 ore (dal giorno 1 al giorno 3); questo schema (FOLFOXIRI "semplificato") è stato ripetuto ogni due settimane.

In considerazione dell'elevata attività di questi regimi (tasso di risposte obiettive rispettivamente del 71% e 72% nei due gruppi), 30 dei 74

pazienti (40%) sono stati rivalutati per un approccio chirurgico delle metastasi.

Dei 30 pazienti rivalutati per la chirurgia, 19 (26% dei 74 iniziali) hanno beneficiato di una resezione radicale delle metastasi e più precisamente 4 pazienti sono stati sottoposti ad una epatectomia estesa, 9 ad una epatectomia destra, 3 ad una epatectomia sinistra e 3 ad una resezione segmentale. Inoltre in 5 pazienti è stata attuata anche una rimozione chirurgica delle lesioni extraepatiche e in 7 pazienti la chirurgia è stata associata ad una ablazione intraoperatoria con radiofrequenza.

Le caratteristiche di questi pazienti erano: età media di 66 anni (range 45-73), ECOG PS  $\geq$  1 in 6 pazienti (32%), valori medi di CEA: 10ng/ml (range 1-288), numero medio di metastasi: 3 (range 1-10), interessamento epatico  $\geq$  25% in 12 pazienti (63%). Le sedi delle metastasi erano: fegato in 14 pazienti, fegato e linfonodi in 3 pazienti, fegato e peritoneo in 1 paziente, fegato e polmone in 1 paziente. Le metastasi erano sincrone in 12 pazienti (63%) e metacrone in 7 pazienti (37%) con un intervallo mediano libero da malattia di 12 mesi.

Dopo un follow-up mediano di 34,4 mesi è stata osservata una sopravvivenza mediana libera da progressione di 18,4 mesi; 10 dei 19 pazienti operati sono morti; la sopravvivenza mediana è stata di 36,8 mesi, con un tasso di sopravvivenza a 4 anni del 37%. In 3 pazienti progrediti dopo chirurgia è stato possibile eseguire una nuova resezione chirurgica della malattia metastatica.

La sopravvivenza mediana dei 34 pazienti responsivi alla chemioterapia, ma non sottoposti a resezione chirurgica sulle metastasi, è stata invece di 22,2 mesi ( $p=0,0114$ ).

Il regime FOLFOXIRI ha quindi dimostrato un'elevata attività antitumorale in pazienti affetti da carcinoma coloretale metastatico, permettendo di ottenere un significativo down-staging della malattia



metastatica e rendendo possibile una chirurgia potenzialmente curativa in circa 1/4 dei pazienti con carcinoma coloretale metastatico inizialmente non resecabili (anche per le metastasi extraepatiche). La sopravvivenza dei pazienti resecati è interessante e promettente.

## **1.12 LE METASTASI EPATICHE**

### ***1.12a Caratteri generali***

I *tumori metastatici* costituiscono le lesioni maligne di più frequente riscontro nel fegato. Il fegato è l'organo più interessato da metastasi a distanza, se si escludono le metastasi linfonodali. Studi autoptici hanno rilevato la presenza di metastasi epatiche nel 41% dei pazienti deceduti per cancro, indipendentemente dal tipo di neoplasia.

Nel 50-75% dei casi il fegato è il primo filtro di metastasi provenienti da neoplasie primitive di organi tributari del circolo portale, quali colon, retto, stomaco e pancreas, ma anche organi non tributari quali esofago, mammella, polmone, prostata, testicolo ed ossa, sistema linfatico, cute (melanoma) possono avere nel fegato la sede preferenziale di lesioni metastatiche. Tumori a secrezione endocrina di origine pancreatica (insulinoma, gastrinoma, VIPoma) e di origine intestinale (carcinoidi) possono dare luogo a metastasi epatiche secernenti gli stessi ormoni prodotti dal tumore primitivo. Tali metastasi costituiscono talvolta l'unica sede evidenziabile clinicamente di neoplasie endocrine.

E' raro il rilievo di metastasi solitaria (10-15% in caso di tumori del colon); molto più frequente è la diagnosi di noduli multipli interessanti i due lobi del fegato. Nel 70% dei casi la metastasi è localizzata nel lobo epatico destro e ciò è legato ad una via preferenziale dovuta alla continuazione diretta della vena porta con la diramazione destra

di I ordine, mentre il ramo portale sinistro si dirama ad angolo acuto dal tronco comune.

In una percentuale che varia dal 15 al 25% dei tumori del colon-retto, le metastasi epatiche sono già presenti al momento della diagnosi del tumore primitivo (metastasi sincrone); nei pazienti in cui il tumore primitivo è stato resecato, la probabilità di sviluppare metastasi epatiche entro 3 anni dall'intervento è del 20-40%, a seconda dello stadio del tumore primitivo (metastasi metacrone).

L'aspetto macroscopico della metastasi è quello di una lesione solida, dura, di colorito biancastro al taglio, con estese aree di tessuto necrotico, presenti soprattutto nelle lesioni di grosse dimensioni.

### ***1.12b Valutazione clinica e strumentale***

Le metastasi epatiche sono, solitamente, completamente asintomatiche. Infatti, insorgendo su di un fegato sano, non affetto da malattie croniche, le metastasi danno origine ad una sintomatologia caratteristica della insufficienza epatica solo in uno stadio avanzato, qualora venga sostituito il 90% del parenchima epatico funzionante. Solo metastasi di grosse dimensioni vengono apprezzate alla palpazione come masse sottocostali in ipocondrio destro o in epigastrio, dure, non dolenti, mobili con gli atti respiratori.

Anche gli indici di funzionalità epatica si modificano, in maniera aspecifica, a seconda della quantità di parenchima sostituito; aumenti dei valori sierici di fosfatasi alcalina, di gammaGT e di lattico-deidrogenasi sono considerati i test più attendibili di una possibile presenza di metastasi epatiche.

Dal momento che la maggior parte delle metastasi epatiche proviene

dal tratto gastrointestinale, il *CEA* sierico costituisce il marcatore tumorale più attendibile; un *CEA* elevato è presente nell'80% dei pazienti con metastasi epatiche.

I valori più elevati si riscontrano in pazienti che oltre al tumore primitivo presentano metastasi epatiche sincrone. Dopo un intervento di resezione del tumore primitivo, una nuova elevazione del *CEA* indica la presenza di una recidiva tumorale, con maggiore probabilità, in sede epatica.

L'*alfa-fetoproteina* non si eleva in caso di metastasi epatica da neoplasie non primitive del fegato.

Talvolta la diagnosi di metastasi epatica viene posta occasionalmente durante l'esecuzione di una ecografia epatica richiesta per altri motivi; si tratta spesso di tumori asintomatici del colon o del pancreas in cui la evidenziazione di metastasi epatiche precede la diagnosi della malattia primitiva.

Molto spesso le metastasi epatiche metacrone vengono riscontrate nel corso degli esami di follow up di pazienti sottoposti a resezione per tumori del colon, dello stomaco o del pancreas.

Per semplicità di esecuzione, possibilità di ripetizione frequente e basso costo, l'esame più comunemente utilizzato nella ricerca di metastasi epatiche è l'ecografia. Agli ultrasuoni le metastasi appaiono come noduli solidi con caratteristiche variabili: possono infatti essere iso-, ipo- o iperecogeni e talvolta assumere l'aspetto "a bersaglio" per la presenza di una zona ipoecogena centrale, dovuta alla necrosi, ed un orletto periferico iperecogeno.

Se il completamento delle indagini diagnostiche non mette in evidenza un tumore primitivo, bisognerà sempre eseguire una biopsia della lesione epatica per la diagnosi istologica, poiché i reperti

ecografici non sono spesso specifici.

Per quanto riguarda l'indicazione all'intervento chirurgico, in termini di identificazione del numero, dimensioni minime della lesione, sede e rapporto con le strutture vascolari, l'ecografia sembrerebbe più sensibile e specifica della TC (come mostrato in tabella).

**Accuratezza delle metodiche d'indagine nella diagnosi di metastasi epatiche\***

	<b>Dimensione minima della lesione (cm)</b>	<b>Sensibilità (%)</b>	<b>Specificità (%)</b>
US preoperatoria	1-2	60-80	60-70
TC	3-5	40-60	50-60
angiografia	3-5	40-50	80-90
US intraoperatoria	0,5-1	90-95	80-90

\*Da *Chirurgia* Dionigi R. 3°edizione 2002, pag.1263

Anche all'esame TC le metastasi epatiche possono rivelarsi come lesioni con densità variabile (spesso il fegato appare costellato da lesioni epatiche di densità ridotta rispetto al parenchima circostante, in parte confluenti tra loro); la sensibilità e la specificità della TC sono spesso inferiori a quelle di un'ecografia eseguita da persona esperta.

L'angiografia non viene più utilizzata nella diagnosi di metastasi epatiche se non come valutazione in vista di un intervento di resezione epatica o prima del posizionamento di un catetere per chemioterapia loco-regionale; un'angiografia selettiva dell'arteria epatica viene eseguita come mezzo diagnostico-terapeutico per permettere una embolizzazione selettiva dell'arteria epatica con

*Lipiodol*. Al controllo TC successivo, si osserverà una distribuzione caratteristica del mezzo di contrasto alla periferia della lesione, mentre l'area necrotica centrale non verrà contrastata.(269)

### **1.12c Trattamento delle metastasi epatiche da carcinoma coloretale**

Nella storia naturale del carcinoma coloretale il fegato è il sito predominante delle metastasi nella maggioranza dei pazienti. Il 25% dei pazienti ha infatti già interessamento del fegato al momento della diagnosi, mentre un altro 25% lo svilupperà nel decorso della malattia. Numerosi studi hanno mostrato che la presenza di metastasi è il fattore prognostico fondamentale per la sopravvivenza (137-138). La prognosi naturale dei pazienti con metastasi epatiche da carcinoma coloretale non trattati è povera e la maggior parte dei pazienti muore entro i primi 2 anni dalla scoperta delle metastasi epatiche.

Dal punto di vista terapeutico la chirurgia riveste un ruolo fondamentale, tanto da risultare l'unico trattamento curativo (139). Numerose casistiche retrospettive indicano una sopravvivenza mediana di 25-40 mesi e una sopravvivenza a 5 anni del 25-30% nei pazienti con resezione chirurgica R0 (140). Attualmente però la resezione chirurgica è attuabile solo nel 10-25% dei pazienti (141-142-143). Il potenziale ruolo della resezione chirurgica delle metastasi epatiche da carcinoma colo-rettale è stato dimostrato per la prima volta da Wilson a Adson (144) che dal 1949 al 1972 hanno sottoposto a resezione chirurgica 60 pazienti con metastasi epatiche da carcinoma colo-rettale osservando una sopravvivenza a 5 e a 10 anni rispettivamente del 28% e del 19%, mentre per i pazienti con metastasi solitarie del 42% e del 28%. Più recentemente Fong e coll. (139) ha rivalutato una casistica di oltre 2500 interventi di resezione di metastasi epatiche da carcinoma colo-rettale eseguita in vari centri

nell'arco di tre decenni, evidenziando una sopravvivenza a 5 anni del 20-39% con una mortalità operatoria <10%. In una successiva analisi di 1001 pazienti sottoposti a resezione di metastasi epatiche da carcinoma colo-rettale tra il 1985 e il 1998 gli stessi autori hanno riportato una sopravvivenza a 5 anni del 37% e a 10 anni del 22%, con una mortalità operatoria del 2.8% . Da questa analisi gli stessi Autori hanno ricavato delle variabili che rappresentano indipendentemente fattori prognostici di ricorrenza dopo la resezione epatica:

- malattia extraepatica
- margini positivi
- dimensioni del tumore >5 cm
- tumori multipli
- interessamento linfonodale a partenza dal tumore primario
- intervallo libero <12 mesi (dalla resezione del tumore primario alla scoperta delle metastasi epatiche)
- CEA >200 ng/ml

Una ulteriore analisi retrospettiva della Associazione Francese di Chirurgia (145), effettuata su 1818 pazienti sottoposti a resezione chirurgica radicale di metastasi epatiche da carcinoma colo-rettale ha evidenziato una sopravvivenza a 5 anni del 26%.

Complessivamente questi dati dimostrano che attualmente, in centri esperti, la resezione chirurgica delle metastasi epatiche può essere eseguita senza eccessivi rischi operatori e potenzialmente permette di ottenere sopravvivenze a lungo termine anche in pazienti con malattia avanzata. Tuttavia va tenuto in considerazione il fatto che, dopo la resezione chirurgica, si osservano recidive di malattia in quasi il 70% dei casi. Inoltre, sebbene vi siano evidenze che una seconda resezione epatica sia fattibile e permetta di ottenere risultati comparabili a quelli

ottenibili con la resezione primaria (146-147), solo nel 35% circa dei pazienti operabili (che sono soltanto il 20-25% dei pazienti con metastasi epatiche da carcinoma colo-rettale) si ottengono sopravvivenze superiori a 5 anni.

Negli ultimi anni l'approccio terapeutico al paziente con carcinoma coloretale metastatico è quindi cambiato profondamente. Infatti da una monochemioterapia con 5-FU modulato da leucovorin si è passati a trattamenti chemioterapici più aggressivi che prevedono l'associazione di fluoropirimidine con nuovi farmaci come l'oxaliplatino e l'irinotecano che hanno permesso di incrementare i tassi di remissione obiettive dal 10-20% al 40-60% (148). La possibilità di impiegare regimi chemioterapici più attivi, che determinano un *downstaging* della malattia metastatica a livello epatico, ha permesso di valutare l'impatto della resezione chirurgica delle metastasi epatiche in pazienti con carcinoma coloretale, inizialmente ritenuti non operabili. In particolare Giacchetti e coll. (133) hanno pubblicato una analisi retrospettiva eseguita su 151 pazienti con metastasi epatiche da carcinoma coloretale non operabili, trattati con uno schema infusionale contenente 5-FU, leucovorin e oxaliplatino. Gli autori hanno osservato un tasso di remissioni obiettive del 59% con una sopravvivenza mediana libera da progressione di 12 mesi ed una sopravvivenza a 5 anni del 28%; in 77 pazienti (51%), grazie al *downstaging* ottenuto con la chemioterapia, è stato possibile eseguire una resezione epatica che è stata macroscopicamente radicale in 58 di questi ed ha permesso di ottenere una sopravvivenza a 5 anni del 50% che correla favorevolmente con la prognosi dei pazienti operabili fin dall'inizio. Risultati analoghi sono stati riportati anche da altri autori ed in particolare dal gruppo dell'Hôpital Paul Brousse (149) che ha pubblicato i risultati ottenuti su una casistica di 701 pazienti, con

metastasi epatiche da carcinoma coloretale non operabili, trattati con 5-FU, leucovorin ed oxaliplatino tra il 1988 ed il 1996. Tra questi pazienti 95 sono stati sottoposti a resezione epatica dopo chemioterapia ed è stata osservata una sopravvivenza a 5 anni del 35%. A questo proposito sono interessanti i dati di uno studio multicentrico di fase III condotto dal gruppo francese GERCOR(275), in cui 226 pazienti con carcinoma del colon-retto metastatico sono stati randomizzati a ricevere in prima linea un trattamento secondo lo schema FOLFIRI e in seguito a progressione un trattamento di seconda linea secondo lo schema FOLFOX (sequenza A), oppure la sequenza inversa (sequenza B). Tra i 109 pazienti che hanno ricevuto FOLFIRI in prima linea, 8 sono stati sottoposti a resezione chirurgica delle metastasi epatiche (7 con R0); tra i 111 pazienti che invece hanno ricevuto FOLFOX in prima linea, 21 sono stati sottoposti a resezione chirurgica delle metastasi epatiche (13 con R0).

Recentemente un'analisi condotta da Folpercht et al.(280) ha dimostrato una forte correlazione tra l'attività di un trattamento chemioterapico di prima linea nei pazienti con cancro coloretale metastatico e il successivo tasso di resezioni R0 delle metastasi. Dunque una terapia di prima linea contenente tutti e tre i farmaci attivi (CPT-11, L-OHP e 5-FU/LV) potrebbe esporre fin da subito il 100% dei pazienti ad un regime più aggressivo e più attivo rispetto a quello basato sull'utilizzo di soli due farmaci e quindi potrebbe aumentare ulteriormente il tasso di resezioni radicali delle metastasi e migliorare il controllo della malattia a lungo termine.

In considerazione di quanto detto sin qui, sono stati intrapresi vari studi, fra cui quello già riportato promosso dall'U.O. di Oncologia Medica dell'Ospedale di Livorno in cui si è dimostrato che un'associazione di 3 farmaci secondo il regime FOLFOXIRI ha un'elevata attività antitumorale



in pazienti affetti da carcinoma coloretale metastatico, tale da determinare un significativo downstaging della malattia metastatica e rendendo possibile una chirurgia potenzialmente curativa in pazienti inizialmente non resecabili. Pertanto, sembra sempre più evidente che pazienti con metastasi epatiche inizialmente non resecabili (80% dei casi) possano essere riportati alla resecabilità (tassi di resezione fino al 12-22%) dopo risposta a regimi di chemioterapia sempre più attivi e aggressivi (grazie alle diverse combinazioni di 5-FU/LV, CPT-11 e L-OHP)(280,281,282,283). I pazienti sottoposti ad una resezione radicale delle metastasi epatiche possono raggiungere un importante tasso di sopravvivenza a 5 anni del 30-35%, con una sopravvivenza mediana che varia da 33 a 46 mesi, al costo di una mortalità perioperatoria dell'1-2% in centri chirurgici esperti (283-285). E' interessante notare come la prognosi dei pazienti operati sulle metastasi dopo risposta ad una terapia neoadiuvante sia simile a quella dei pazienti resecabili fin da subito(257).

Un ulteriore tentativo che è stato fatto per incrementare la prognosi dei pazienti sottoposti a resezione di metastasi epatiche da carcinoma coloretale è stato l'utilizzo della chemioterapia "adiuvante" postoperatoria. L'utilizzo della chemioterapia "adiuvante" sistemica non è stato mai adeguatamente studiato in pazienti sottoposti a resezione epatica e pertanto non ne è noto l'impatto prognostico. Vi sono invece dati di studi randomizzati che hanno valutato l'utilizzo di un trattamento chemioterapico "adiuvante" per via intrarteriosa epatica con o senza l'aggiunta di un trattamento sistemico. Oggi l'infusione intra-arteriosa epatica può essere praticata utilizzando tecniche diverse: un *port* arterioso può essere inserito sia con tecnica chirurgica che radiologica e connesso con una pompa elettronica esterna portatile, oppure si può posizionare chirurgicamente una pompa totalmente impiantabile. Il

razionale per l'applicazione di questa metodica è basato sulle seguenti osservazioni:

- il fegato è spesso la prima e unica sede di malattia metastatica;
- le metastasi epatiche, quando superano il millimetro di diametro, sono irrorate principalmente dall'arteria epatica mentre gli epatociti ricevono l'80% del flusso sanguigno dalla vena porta;
- alcuni farmaci hanno un elevato effetto di "primo passaggio" nel fegato con una significativa estrazione del farmaco dovuta all'attività metabolica degli epatociti. Si osserva pertanto una elevata concentrazione locale del farmaco e una bassa o nulla concentrazione sistemica con tossicità spesso assente.

Questa metodica ha comunque dei limiti: il primo è il rischio di una progressione extraepatica, dal momento che solo il fegato riceve una concentrazione adeguata del farmaco. Questo si osserva nel 50-70% dei pazienti dopo un anno di trattamento ed è caratterizzato dalla presenza di siti inusuali di ricorrenza, come la pelle, il cervello, le ossa e le ghiandole surrenali (155). Questo dato rende evidente la necessità di associare alla terapia intrarteriosa la terapia sistemica, in modo da trattare il fegato e da prevenire il possibile sviluppo di metastasi extraepatiche. Un secondo importante limite della terapia endoarteriosa è il rischio di effetti collaterali epatobiliari che si osservano principalmente con fluorodesossiuridina. Il rischio è correlato con la dose e con la durata di somministrazione. Un attento follow-up dei pazienti con particolare attenzione per la funzionalità epatica e l'utilizzo nel protocollo di infusione del desametasone può ridurre i rischi di complicazioni biliari.

Un primo studio randomizzato europeo (286) ha valutato un trattamento adiuvante con 5-FU/LV attraverso l'arteria epatica su 226 pazienti sottoposti a resezione epatica senza dimostrare un incremento della

sopravvivenza rispetto alla sola chirurgia. Un secondo studio americano(287) ha randomizzato 156 pazienti sottoposti a resezione epatica a ricevere una chemioterapia postoperatoria con fluorodesossiuridina e desametasone in arteria epatica e 5-FU/LV per via sistemica o solo una terapia sistemica con 5-FU/LV. Con il trattamento combinato si è osservato un incremento della sopravvivenza a 2 anni dal 69% all'85% ( $p=0,023$ ) ed un incremento della sopravvivenza libera da progressione epatica dal 57% all'89% ( $p=0,000012$ ). Vi è infine un terzo studio (288) che ha confrontato la resezione epatica da sola alla resezione epatica seguita da una chemioterapia intrarteriosa con fluorodesossiuridina e sistemica con 5-FU dimostrando un incremento della sopravvivenza libera da progressione a 3 anni (dal 34% al 58%;  $p=0,039$ ), ma nessun vantaggio in termini di sopravvivenza globale, questo anche in relazione alla bassa potenza statistica di questo studio.

Un presidio terapeutico diverso dalla chirurgia nel trattamento delle metastasi epatiche da carcinoma coloretale è la diatermoablazione a radiofrequenze (RFA). Tale metodica si è progressivamente sviluppata a partire dalla seconda metà degli anni Novanta e, recentemente, è stata approvata dalla FDA per il trattamento delle metastasi epatiche. Attraverso speciali sonde viene condotta a livello dei tessuti corrente alternata; questa corrente, agitando gli ioni, provoca calore, tanto da innalzare la temperatura tissutale fino a 100°C. Vi sono numerose pubblicazioni che dimostrano che le radiofrequenze sono in grado di indurre necrosi coagulativa a livello dell'area tumorale trattata e sono associate ad una morbilità modesta, con tassi che variano dallo 0% al 30% circa nelle varie casistiche (289,290). L'ampiezza della zona di necrosi coagulativa dipende da numerose variabili; le più importanti, oltre

al tipo di sonda utilizzata sono la temperatura raggiunta, la durata dell'ablazione e la vascolarizzazione del tessuto. Infatti l'alto flusso sanguigno attraverso il sistema portale provoca il raffreddamento del tessuto, diminuendo quindi l'effetto necrotico. Questo effetto limita perciò l'ampiezza dell'ablazione, che può raggiungere circa 3.5 cm. Per questo motivo si stanno studiando metodiche che permettano di migliorare l'effetto di necrosi durante la radiofrequenza; fra queste la più importante è l'occlusione dell'arteria epatica mediante catetere con palloncino terminale (tecniche di *stop flow*) (152). Il tasso di complicazioni di questa metodica è generalmente basso (minore del 5%). Fra le più comuni troviamo il sanguinamento, la necrosi dei tessuti adiacenti al fegato, l'infezione del tessuto sottoposto ad ablazione e in alcuni casi l'inseminamento del tumore (prevalentemente a livello della cute).

La RFA inoltre è una metodica estremamente versatile che può essere utilizzata attuando procedure diverse. Può essere infatti utilizzata per via percutanea (il cui principale vantaggio è la minima invasività), oppure per via laparoscopica o a cielo aperto (con una migliore valutazione di eventuali localizzazioni extraepatiche e di lesioni epatiche di dimensioni inferiori al centimetro). In quest'ultimo caso può anche essere associata alla chirurgia. Tuttavia vi sono aspetti riguardanti le radiofrequenze che necessitano di essere maggiormente studiati. Infatti i tassi di ripresa dopo RFA sono piuttosto elevati (variano dal 12% al 64% nelle varie casistiche) e non è noto se l'aggiunta di un trattamento chemioterapico possa essere vantaggiosa in termini di efficacia, inoltre non vi sono sufficienti dati che permettano di valutare l'impatto delle RFA sulla sopravvivenza, né tanto meno esistono studi di confronto tra resezione chirurgica e RFA. In una review sistematica, del 2002, di studi che hanno valutato l'utilizzo delle radiofrequenze in pazienti con metastasi epatiche non resecabili, Seidenfeld et al.(291) hanno potuto individuare solo 7

pubblicazioni, della fine degli anni Novanta, per un totale di 150 pazienti trattati, in cui vengono riportati dati di sopravvivenza libera da progressione o di sopravvivenza globale, con un follow-up mediano che oscilla tra i 5 e i 12 mesi. Sei studi riportano la percentuale di recidive epatiche (12-64%), 5 studi riportano sopravvivenze ad 1 anno (78-94%), ma solo 2 studi riportano sopravvivenze a 2 anni (56-89%) e nessuno studio riporta dati di sopravvivenza mediana. Infine non vi sono dati sui risultati della RFA utilizzata in combinazione con altri trattamenti.

Nel 2001 Solbiati et al.(292) hanno pubblicato i risultati a lungo termine di una casistica di 117 pazienti con metastasi epatiche da carcinoma coloretale trattati con RFA riportando una sopravvivenza ad 1, 2 e 3 anni rispettivamente del 93%, 69% e 46% ed una sopravvivenza mediana di 36 mesi. Attualmente perciò non si può ancora concludere che la RFA rappresenti un'alternativa alla resezione epatica; sono infatti ancora in corso trials clinici internazionali che coinvolgono un grande numero di pazienti. Oggi l'interesse e l'attenzione per questa tecnica è soprattutto in relazione al fatto che nella maggior parte dei pazienti con metastasi epatiche la diffusione della malattia è tale che l'intervento di resezione non può essere preso in considerazione e dunque rappresenta una valida opzione al trattamento di questo gruppo di pazienti(293).

Un gruppo multidisciplinare di esperti, comprendente chirurghi, oncologi medici, radiologi e radioterapisti, ha recentemente creato un modello decisionale, sotto forma di un programma computerizzato (definito **OncoSurge**) che cerca di aiutare oncologi e chirurghi nel definire l'approccio di trattamento ottimale (resezione, ablazione locale e chemioterapia) per ogni singolo paziente con carcinoma del colon-retto con metastasi confinate al fegato (294). Le tre modalità di trattamento possono essere variabilmente combinate in relazione alle caratteristiche

del paziente e del tumore, che rappresentano lo “starting point” dell’algoritmo decisionale. Ogni successiva decisione varia in base alla risposta ottenuta dalla strategia terapeutica precedente.

Le indicazioni alla chirurgia delle metastasi epatiche sono riassunte nella tabella 1.12a. Le controindicazioni assolute alla chirurgia sono: malattia extraepatica non resecabile, insufficienza epatica, coinvolgimento epatico maggiore del 70% o paziente “unfit” per la chirurgia.

Per quanto riguarda l’ablazione locale (radiofrequenza e crioterapia), questa procedura trova poche indicazioni nel trattamento delle metastasi epatiche, ma viene comunque considerata appropriata nei casi di malattia localizzata esclusivamente al fegato con meno di 4 metastasi con un diametro massimo di 4cm, nei pazienti in cui la resezione chirurgica è controindicata a causa di uno scarso performance status o di un alto rischio operatorio. La chemioterapia preoperatoria è considerata appropriata quando il volume delle metastasi supera il criterio di resecabilità e, quindi l’unica chance di eseguire una chirurgia radicale è data dalla risposta tumorale al trattamento chemioterapico. Sfortunatamente questo accade solo nel 15-20% dei pazienti; in ogni caso è importante utilizzare regimi di combinazione, perché più attivi e dunque correlati ad un maggior tasso di resecabilità(280). Oggi sono considerati appropriati gli schemi FOLFOX e FOLFIRI (282,266,267,284) e, proprio per questo si sono studiati comunque anche regimi più aggressivi che utilizzano fin da subito i tre farmaci (FOLFOXIRI)(272,273,281).

Per quanto riguarda invece la chemioterapia postoperatoria, sempre secondo il programma OncoSurge, questa è indicata in tutti i pazienti indipendentemente dal fatto che la chirurgia sia stata radicale o meno (R0 o R1) e viene consigliato l’utilizzo della stessa doppietta di farmaci

se questa è stata efficace nel preoperatorio; altrimenti, in caso contrario, verrà somministrato il regime precedentemente non utilizzato. Anche qui lo schema comprendente tutti e tre i farmaci può essere preso in considerazione ma soprattutto nei casi di resezione incompleta (R1); mentre la somministrazione di solo 5-FU/LV non è considerata adeguata in nessun setting di trattamento. Bisogna anche notare che quando il modello OncoSurge è stato creato, i risultati dei grandi studi sui farmaci biologici non erano ancora disponibili, quindi le targeted-therapies non sono state incluse nel programma.

Concludendo si può affermare che è certamente corretto procedere immediatamente con la resezione chirurgica quando possibile, però è anche necessario ricordare che fino all'80% di questi pazienti possono ricadere e morire per la malattia. Quindi dovrebbe essere considerato ogni trattamento sistemico che cerchi di ridurre la possibilità di recidiva. Perciò, probabilmente il migliore approccio per questi pazienti è di iniziare una chemioterapia per un breve periodo di tempo (circa 2 mesi) per testare la loro chemiosensibilità e, dopo una valutazione della risposta al trattamento, procedere alla chirurgia. Il rischio di questo approccio è che un paziente potenzialmente curabile potrebbe essere perduto a causa di una progressione precoce di malattia. In ogni caso, fino a che il tasso di progressione precoce durante il trattamento con una doppietta di farmaci resta del 10%, il rischio è ben bilanciato dal potenziale beneficio di usare un regime di chemioterapia attivo nel consolidare i risultati nel periodo postoperatorio.

Lo studio EORTC 40983 di fase III ha valutato proprio questo, e cioè ha confrontato un approccio chirurgico associato o meno a chemioterapia neoadiuvante ed adiuvante in pazienti con metastasi epatiche reseccabili da tumore del colon-retto, in particolare ha valutato una strategia terapeutica comprendente 3 mesi di FOLFOX preoperatorio e 3 mesi di

FOLFOX postoperatorio con la sola terapia chirurgica immediata. I criteri di arruolamento includevano: assenza di malattia extra-epatica e non precedente chemioterapia con oxaliplatino. Su 365 pazienti reclutati, il 94% aveva da 1 a 3 metastasi e il 42% aveva una malattia allo stadio II. Questo studio ha dimostrato che una chemioterapia preoperatoria con FOLFOX4 ha incrementato del 9,2% la sopravvivenza libera da progressione a 3 anni. In tutti i pazienti randomizzati per il trattamento in studio è stata dimostrata un'efficacia della chemioterapia indipendente dai diversi timing con cui è stato eseguito l'intervento chirurgico, in quanto questa è risultata compatibile con gli interventi di chirurgia maggiore sul fegato (mortalità operatoria <1% e complicanze reversibili lievemente superiori in chi aveva fatto terapia preoperatoria). Infatti il modesto aumento del rischio dell'intervento chirurgico post terapia non sembra aver compromesso il potenziale beneficio di quest'ultima. Dunque, questo studio, ha dimostrato che un trattamento chemioterapico pre- e postoperatorio può essere un'opzione terapeutica ottimale per i pazienti con carcinoma del colon-retto e metastasi epatiche resecabili fin da subito in quanto nel complesso ne aumenterebbe la sopravvivenza (295).



**Tabella 1.12a: Indicazioni per il trattamento chirurgico locale delle metastasi epatiche in pazienti con malattia confinata al fegato (OncoSurge program).\***

<b>Intervento terapeutico</b>	<b>Condizioni richieste</b>
Resezione chirurgica immediata	Margini di resezione adeguatamente definiti radiologicamente e assenza di adenopatia portale
Resezione post-CT, indipendentemente dalla risposta tumorale	≤ 4 metastasi e coinvolgimento unilobare del fegato
Resezione post-CT, solo dopo diminuzione del volume tumorale	> 4 metastasi o coinvolgimento bilobare del fegato
Ablazione locale	≤ 4 metastasi e diametro massimo < 4cm e paziente non idoneo o rifiutante un trattamento chirurgico

\*Modificata da: Poston GJ, Adam R, Alberts S et al. OncoSurge: a strategy for improving resectability with curative intent in metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 7125-7134.

---

\* Modificata da: Wolpin BM et al. Adjuvant Treatment of Colorectal Cancer. *CA Cancer J Clin* 2007; 57:168-185.

### **1.13 FARMACI A BERSAGLIO MOLECOLARE**

Durante l'ultimo decennio, nella ricerca di nuovi farmaci in oncologia si è realizzato un importante cambiamento strategico. Allo sviluppo di farmaci antitumorali più tradizionali, che esercitano la propria attività citotossica in modo relativamente poco selettivo, si è affiancato un nuovo ambito di ricerca legato all'individuazione, nella cellula neoplastica, di un target molecolare coinvolto nei meccanismi di crescita e di progressione e alla successiva sintesi di un agente in grado di inibirlo. Questo nuovo metodo ha portato a sperimentare in clinica decine di agenti cosiddetti "a bersaglio molecolare specifico" o "target-oriented" e, per alcuni di questi, è stata dimostrata una sicura attività ed efficacia in determinate neoplasie. In particolare, per quanto riguarda il cancro del colon-retto, le molecole che ad oggi hanno prodotto i risultati più promettenti sono due: gli anticorpi anti VEGF (Bevacizumab) e gli anticorpi anti EGFR (Cetuximab).

Il **bevacizumab (BV)** è un anticorpo monoclonale chimerico (per il 93% umano e per il 7% murino) diretto contro il *Vascular Endothelial Growth Factor* (nello specifico VEGF-A). Il VEGF-A, anche conosciuto come fattore della permeabilità vascolare o semplicemente come VEGF, con gli altri membri della sua famiglia (B,C,D ed E) è uno dei fattori più importanti coinvolti nel processo di angiogenesi tumorale e svolge il suo effetto legandosi a recettori (VEGFR 1 e 2) situati prevalentemente sulla superficie delle cellule endoteliali. Questi recettori mostrano molte caratteristiche in comune con altri membri della famiglia dei recettori dotati di attività tirosinchinasica, inclusi molti domini extracellulari Ig-like, una regione transmembrana, e un dominio intracellulare con attività

tirosinchinasica. Il legame di VEGF con il recettore ne determina l'attivazione mediante fosforilazione e, di conseguenza, l'innescò di una serie di eventi a cascata che promuovono in senso positivo il processo neoangiogenetico(317-320). L'importanza critica del VEGF durante la cancerogenesi è stata illustrata da un notevole numero di osservazioni: è stato dimostrato che il VEGF può essere prodotto dalla cellula neoplastica e che l'aumento della sua espressione correla, dal punto di vista clinico, con una prognosi più sfavorevole(321); l'espressione di VEGF è elevata nei tessuti o nel circolo in molti tumori solidi(350); è stata riscontrata una correlazione significativa tra i livelli plasmatici di VEGF e lo stadio di malattia o la metastatizzazione(351); esperimenti preclinici hanno dimostrato che gli anticorpi anti-VEGF hanno inibito la crescita di linee cellulari tumorali umane iniettate in topo nude (352).

Il bevacizumab è in grado, legandosi in modo specifico al VEGF-A, di impedirne il legame con il recettore e di inibire quindi, in definitiva, il processo neoangiogenetico. Il primo studio di fase I su bevacizumab iniziò nel 1997 (357). Vennero arruolati venticinque pazienti con tumori solidi misurabili o valutabili (sarcoma = 8, carcinoma a cellule renali (CCR)= 7, neoplasia mammaria = 5, neoplasia polmonare = 2) e vennero programmati cinque livelli di dosaggio: 0.1, 0.3, 1.0, 3.0, e 10.0 mg/Kg. Bevacizumab veniva somministrato endovena per 90 minuti nei giorni 0, 28, 35 e 42. Uno dei pazienti con CCR ottenne una minima risposta con una riduzione di circa il 25 % della somma dei diametri perpendicolari delle metastasi polmonari e linfonodali; il 48% dei rimanenti pazienti raggiunse la stabilizzazione della malattia. Bevacizumab mostrò un profilo farmacocinetico lineare e un tempo di dimezzamento di 21 giorni. Venne dunque intrapreso uno studio di fase Ib nel quale bevacizumab veniva somministrato in combinazione con alcuni farmaci citotossici standard (doxorubicina, carboplatino, paclitaxel, 5-

fluorouracile/leucovorin). Bevacizumab venne somministrato alla dose di 3 mg/Kg settimanalmente per 8 settimane. Questo studio dimostrò che aggiungendo l'anticorpo anti VEGF l'incidenza degli eventi avversi conosciuti correlati ai farmaci citotossici non aumentava significativamente (358).

Nel corso degli studi clinici condotti con il bevacizumab, sono state osservate delle tossicità caratteristiche, quali: proteinuria, ipertensione, sanguinamento e fenomeni tromboembolici (322). La proteinuria asintomatica è risultata essere una delle tossicità più frequentemente osservate durante il trattamento con il bevacizumab, anche se questa non ha comportato generalmente un'interruzione del trattamento(322). Un possibile meccanismo ipotizzato è che il bevacizumab possa interferire con i meccanismi di riparazione del VEGF sull'endotelio del glomerulo(323). Questo potrebbe essere confermato dal fatto che nei pazienti che hanno interrotto il trattamento per lo sviluppo di una sindrome nefrosica, e sottoposti a biopsia renale, è stata osservata una glomerulonefrite membranoproliferativa.

Anche l'ipertensione è risultata essere un evento molto frequente durante il trattamento con il bevacizumab. Il meccanismo chiamato in causa sembra essere la ridotta produzione di ossido nitrico (NO), un vasodilatatore che determina ipotensione e la cui sintesi è indotta dal VEGF(324-326). Benché negli studi un quadro ipertensivo compaia nella maggioranza dei pazienti, esso è generalmente ben controllato con i comuni farmaci anti-ipertensivi e raramente ha determinato l'interruzione del trattamento.

Anche l'epistassi è stata un evento frequentemente osservato, anche se non ha comportato interruzioni del trattamento.

Eventi più importanti descritti, seppur rari, sono stati invece sanguinamenti di grado severo, perforazioni intestinali (1-1,5% dei

pazienti trattati) e fenomeni tromboembolici (in particolare il rischio di trombosi arteriosa aumenta nei pazienti sopra i 65 anni e nei pazienti con pregressa trombosi).

Sono stati pubblicati nel 2004 i risultati di un importante studio clinico che hanno dimostrato la maggiore efficacia di un trattamento chemioterapico in combinazione con il bevacizumab rispetto alla sola chemioterapia in pazienti con diagnosi di carcinoma del colon-retto metastatico (327). Lo studio è stato disegnato da Hurwitz H. et al. alla luce dei risultati di uno studio clinico pilota randomizzato di fase II (328) che confrontava, in pazienti con carcinoma coloretale metastatico, un regime contenente 5-FU/LV somministrati in bolo settimanale (regime "Rosewell Park") verso lo stesso regime con in più il bevacizumab alla dose di 5mg/kg oppure alla dose di 10mg/kg somministrato ogni due settimane.

I risultati hanno dimostrato, per il braccio contenente il bevacizumab alla dose di 5mg/kg (low-dose bevacizumab) un vantaggio statisticamente significativo in termini di risposte obiettive (40% vs 17%;  $p=0,029$ ) e in termini di tempo a progressione (PFS mediana di 9 mesi vs 5,2 mesi;  $p=0,005$ ) rispetto al solo regime con 5-FU/LV in bolo ed un vantaggio in termini di sopravvivenza sempre per il braccio contenente bevacizumab, anche se non veniva raggiunta la significatività statistica.

Nel gruppo di pazienti che ricevevano bevacizumab alla dose di 10mg/kg invece, si è osservata una modesta superiorità rispetto alla sola chemioterapia (5-FU/LV) e soprattutto un'inferiorità rispetto al braccio contenente una più bassa dose di bevacizumab.

Alla luce di questi risultati è stato quindi condotto uno studio clinico randomizzato di fase III(327) dove 813 pazienti con cancro del colon-

retto metastatico sono stati randomizzati a ricevere in prima linea o una combinazione contenente 5-FU alla dose di 500mg/m<sup>2</sup> e.v. in bolo + LV alla dose di 20mg/m<sup>2</sup> e.v. in bolo + CPT-11 alla dose di 125mg/m<sup>2</sup> e.v. in infusione di 90 minuti somministrati settimanalmente secondo lo schema IFL di Saltz + il bevacizumab alla dose di 5mg/kg e.v. ogni due settimane oppure il regime IFL + placebo.

Lo studio aveva previsto inizialmente un braccio di trattamento contenente 5-FU/LV e bevacizumab, chiuso dopo che un'analisi ad interim aveva dimostrato che lo schema IFL + bevacizumab era fattibile in termini di tossicità; lo studio era stato quindi continuato con lo schema IFL + bevacizumab o IFL + placebo. I risultati dello studio hanno dimostrato una maggiore efficacia per il braccio di trattamento contenente il bevacizumab rispetto a quello contenente IFL + placebo in termini di risposte obiettive (44,8% vs 34,8%; p=0,004), di sopravvivenza libera da progressione (PFS mediana di 10,6 mesi vs 6,2 mesi; p<0,001), di durata mediana della risposta (10,4 mesi vs 7,1 mesi; p<0,001) e in termini di sopravvivenza globale (sopravvivenza mediana di 20,3 mesi vs 15,6 mesi; p<0,001). Questo beneficio in sopravvivenza di 4,7 mesi è particolarmente degno di nota perché, ad oggi, nessuno studio randomizzato ha mai dimostrato una più alta differenza di sopravvivenza nei pazienti con carcinoma del colon-retto.

Un'ulteriore analisi ha dimostrato inoltre, come nei pazienti sottoposti ad una chemioterapia di seconda linea contenente oxaliplatino dopo la progressione di malattia, la sopravvivenza mediana sia arrivata a 22,2 mesi per i pazienti sottoposti a IFL + placebo e a 25,1 mesi per i pazienti nel braccio contenente anche bevacizumab(271).

In termini di tollerabilità è stata riportata unicamente una significativa maggiore incidenza di episodi ipertensivi per il braccio contenente IFL + bevacizumab rispetto al solo IFL (22,4% vs 8,3%; p<0,01; ipertensione di

grado 3: 11% vs 2,3%;  $p < 0,01$ ), anche se questi non avevano determinato un'interruzione del trattamento.

Benché nel braccio sperimentale siano stati osservati un maggior numero di episodi di sanguinamento (di grado 3 e 4 della scala NCI: 3,1% vs 2,5%), di perforazioni del tratto gastrointestinale (1,5% vs 0%) e di fenomeni tromboembolici (19,4% vs 16,2%), la differenza non ha raggiunto la significatività statistica. In particolare tra i 6 pazienti in cui è stata osservata una perforazione intestinale, 2 avevano iniziato il trattamento entro 2 mesi dall'intervento chirurgico e 1 paziente aveva una concomitante ulcera peptica. Nonostante la perforazione intestinale, 5 pazienti avevano comunque ripreso il trattamento. Da notare come non sia stata osservata una significativa maggiore incidenza di effetti collaterali, come la diarrea o la neutropenia, frequentemente associati al trattamento con CPT-11 (tassi di tossicità di grado 3-4 del 30% e del 25% per quanto riguarda rispettivamente la neutropenia e la diarrea evidenziati nel braccio con solo IFL)(321).

I risultati dello studio di fase III hanno portato la Food and Drug Administration (FDA) nel Febbraio 2004 ad approvare negli USA l'utilizzo del bevacizumab nel trattamento di prima linea dei pazienti con diagnosi di cancro coloretale metastatico in associazione ad una combinazione chemioterapica contenente 5-FU/LV.

Un terzo studio(329) ha valutato in pazienti con diagnosi di cancro del colon-retto metastatico, considerati candidati non ottimali al trattamento con CPT-11 in prima linea e quindi non inseribili nello studio di fase III di Hurwitz, l'efficacia del bevacizumab in associazione con 5-FU/LV.

I pazienti sono stati randomizzati a ricevere o un regime settimanale in bolo con 5-FU/LV secondo il regime "Rosewell Park" associato al bevacizumab alla dose di 5mg/kg e.v. somministrato ogni 2 settimane (n=104) oppure la stessa schedula di 5-FU/LV più placebo (n=105). I

risultati dello studio hanno dimostrato una superiorità per il braccio di trattamento contenente il bevacizumab rispetto al braccio contenente 5-FU/LV più placebo in termini di risposte obiettive (26% vs 15%;  $p=0,055$ ) e di tempo a progressione (PFS mediana di 9,2 mesi vs 5,5 mesi;  $p=0,0002$ ). Non si è però ottenuto un vantaggio significativo in sopravvivenza (16,6 mesi vs 12,9 mesi;  $p=0,16$ ). In termini di tollerabilità è stata riferita una maggiore incidenza di ipertensione di grado 3 nel braccio di trattamento contenente bevacizumab (16% vs 3%), che però è stata controllata con farmaci orali anti-ipertensivi. Inoltre nello stesso braccio è stato riportato un episodio di perforazione intestinale in 2 pazienti.

In un'analisi combinata di tre studi randomizzati condotta da Kabbinavar et al.(330), sono stati studiati 241 pazienti che hanno ricevuto 5-FU/LV o IFL e 249 pazienti che hanno ricevuto 5-FU/LV + bevacizumab alla dose 5mg/kg ogni 2 settimane.

Il trattamento contenente 5-FU/LV + bevacizumab si è dimostrato superiore agli altri due schemi di terapia in termini di risposte obiettive (34,1% vs 24,5%; $p=0,019$ ), di sopravvivenza libera da progressione (8,8 mesi vs 5,6 mesi;  $p<0,0001$ ) e anche in termini di sopravvivenza globale mediana (17,9 mesi vs 14,6 mesi;  $p=0,008$ ).

Gli autori hanno concluso che l'aggiunta di bevacizumab al 5-FU/LV determina un beneficio clinico statisticamente significativo nei pazienti con carcinoma coloretale metastatico precedentemente non trattati.

Lo studio di fase III ECOG 3200 (331) ha randomizzato 829 pazienti con carcinoma del colon-retto metastatico a ricevere come seconda linea di trattamento, dopo progressione a 5-FU/LV/CPT-11, un'alta dose di bevacizumab (10mg/kg e.v. ogni 2 settimane) da solo o in combinazione con FOLFOX-4 (somministrazione bisettimanale di: oxaliplatino 85mg/m<sup>2</sup> e.v. giorno 1; LV 200mg/m<sup>2</sup> in infusione di 2 ore e 5-FU 400mg/m<sup>2</sup> in



bolo seguito da 600mg/m<sup>2</sup> in infusione continua di 22 ore, giorni 1 e 2) oppure il regime FOLFOX-4 da solo.

Il braccio contenente solo bevacizumab è stato precocemente chiuso per la sua scarsa attività.

Dopo un follow-up mediano di 18,7 mesi, il regime di trattamento contenente bevacizumab + FOLFOX-4 si è dimostrato superiore al solo FOLFOX-4 in termini di tempo a progressione (PFS mediana 7,3 mesi vs 4,7 mesi; p<0,0001) e di sopravvivenza mediana (12,9 mesi vs 10,8 mesi; p=0,0011). L'incidenza di trombosi/embolia è stata leggermente superiore nel braccio di trattamento contenente FOLFOX-4 + bevacizumab (4,0% vs 2,5%); la perforazione intestinale si è riscontrata solo nel braccio contenente bevacizumab, anche se raramente (1,1%).

Bisogna però notare che tutti i pazienti dello studio ECOG 3200 erano bevacizumab-naive. Dunque dai risultati ottenuti non è possibile rispondere alla domanda se sia efficace un trattamento di seconda linea a base di bevacizumab dopo fallimento di una terapia di prima linea anch'essa contenente bevacizumab. Il problema resta tutt'oggi irrisolto.

Un altro importante studio è lo studio BEAT(332) che valuta la safety del bevacizumab in combinazione con diversi regimi di terapia di prima linea nel cancro coloretale metastatico. E' stato arruolato un totale di 1743 pazienti in 32 paesi e il 92% di loro è stato seguito per più di 60 giorni. I trattamenti di prima linea più comuni associati a bevacizumab sono stati: FOLFOX (27%), CAPOX (20%), FOLFIRI (18%) e capecitabina (7%).

Sono stati riportati 99 eventi avversi severi correlati al bevacizumab, tra cui: 15 casi di trombosi venosa (1,2%), 11 casi di embolia polmonare (0,8%), 10 casi di perforazione intestinale (0,8%), 10 casi di sanguinamento severo (0,8%), 9 casi di trombosi arteriosa (0,8%), 7 casi di ipertensione (0,5%). Da questi risultati preliminari, si può concludere che il profilo di tossicità del bevacizumab associato a diversi regimi di

chemioterapia nel trattamento di prima linea del carcinoma del colon-retto metastatico appare sovrapponibile con i risultati ottenuti in altri studi e dunque, con un appropriato controllo sulle patologie concomitanti dei pazienti trattati, si possono facilmente evitare eventi fatali e la combinazione del bevacizumab a qualsiasi terapia di prima linea sembra così essere sicura e fattibile.

Alla luce di questi risultati così incoraggianti, una serie di studi clinici si sono sviluppati con l'obiettivo di ottimizzare l'utilizzo del bevacizumab nel trattamento di pazienti con diagnosi di carcinoma coloretale.

Dati preliminari di uno studio di fase II(333) che associa bevacizumab al regime XELOX nella terapia di prima linea di 30 pazienti con tumore metastatico, hanno dimostrato che questo schema di combinazione, generalmente ben tollerato, risulta simile in termini di attività all'associazione tra FOLFOX e bevacizumab.

Un altro studio randomizzato di fase II, il TREE-2(334), ha analizzato tre regimi di chemioterapia contenenti oxaliplatino e una fluoropirimidina (5-FU/LV in bolo o 5-FU/LV in infusione o capecitabina) associati a bevacizumab (5mg/kg ogni 2 settimane o 7,5mg/kg ogni 3 settimane). Questo studio ha dimostrato un alto tasso di risposte obiettive e una lunga sopravvivenza libera da malattia, specialmente nei bracci di trattamento contenenti 5-FU/LV infusione e capecitabina. Inoltre questi ultimi due regimi di trattamento sono stati ben tollerati.

Più recenti sono i risultati di uno studio randomizzato di fase III, in cui Saltz et al. hanno valutato l'efficacia e la sicurezza di bevacizumab quando è associato ad una chemioterapia di prima linea basata su oxaliplatino (capecitabina più oxaliplatino- XELOX- o 5 fluorouracile/acido folinico più oxaliplatino-FOLFOX4-) in 1401 pazienti con carcinoma coloretale metastatico. Tali pazienti sono stati randomizzati in un disegno di 2x2 fattori, ad una terapia con XELOX vs

FOLFOX4 e poi ad una con bevacizumab vs placebo. L'aggiunta di bevacizumab alla chemioterapia basata su oxaliplatino, ha migliorato notevolmente la sopravvivenza mediana libera da progressione (PFS) che è stata di 9,4 mesi vs 8,0 mesi nel gruppo con placebo( $p=0,0023$ ); la differenza nella sopravvivenza totale mediana è stata meno significativa (21,3 mesi nel primo gruppo e di 19,9 nel secondo); mentre il tasso di risposta non è stato migliorato dall'aggiunta di bevacizumab. Nonostante il protocollo prevedesse di proseguire il trattamento fino alla progressione della malattia, solo il 29% e il 47% dei pazienti dei due bracci randomizzati sono stati trattati fino a progressione. Il profilo di tossicità di bevacizumab si è rivelato considerevole come documentato da trials precedenti. Comunque, in base ai risultati ottenuti, è emerso che la prosecuzione del trattamento fino alla progressione della malattia sia necessario al fine di ottimizzare il contributo di bevacizumab alla terapia.(335).

Alla luce di questi risultati, il bevacizumab può essere quindi considerato un farmaco attivo per il trattamento dei pazienti con carcinoma colorettaie metastatico. In particolare, i risultati di quest'ultimo studio(335) e dello studio di fase III di Hurwitz et al.(327) hanno confermato da una parte come il trattamento ottimale dei pazienti con diagnosi di cancro del colon-retto metastatico debba prevedere l'utilizzo di tutti i farmaci più attivi, dall'altra come l'aggiunta del bevacizumab riesca a incrementare ulteriormente l'efficacia del trattamento.

## POTENZIALI MARKERS MOLECOLARI PER PREDIRE L'ATTIVITÀ DI BEVACIZUMAB

Lo sviluppo di farmaci antiangiogenetici con target molecolare soffre di molteplici handicaps inclusi il monitoraggio della loro attività biologica e la determinazione della dose biologica ottimale (350). Questi problemi

necessitano lo sviluppo di markers farmacodinamici surrogati alternativi come ad esempio VEGF, TSP-1, VE-caderina e l'espressione del gene VEGFR-2.

Molti studi riportano che lo splicing alternativo degli esoni del gene di VEGF comporta la generazione di 4 differenti mRNA, codificanti polipeptidi di 121, 165, 189 e 206 amminoacidi. Il polimorfismo del gene VEGF è stato associato con la produzione di varietà differenti di proteine VEGF e sembra essere coinvolto nella suscettibilità a molteplici disordini nei quali l'angiogenesi potrebbe assumere una importanza critica per lo sviluppo della malattia. Inoltre, l'identificazione dei polimorfismi VEGF può contribuire alla valutazione di quelle neoplasie che saranno resistenti ai farmaci antiangiogenetici (351-352).

Tra i markers proposti che potrebbero essere applicabili agli agenti antiangiogenetici, i progenitori dell'endotelio circolatorio (CEPs) sono veramente promettenti. Comunque, un grande svantaggio nell'approcciarsi al CEP è la necessità di usare un complesso flusso citometrico a 4 colori per misurare tipi cellulari così rari nel sangue periferico umano. Questo svantaggio può forse essere aggirato dallo sviluppo di approcci molecolari i quali possano essere usati come surrogati di neovascolarizzazione tumorale (350). Per esempio, Bertolini e coll. hanno mostrato che la RT-PCR del RNA per la caderina delle cellule endoteliali vascolari, un marker per cellule endoteliali mature altamente specifico, è significativamente correlato ai livelli di cellule endoteliali mature circolanti.

Un altro possibile approccio molecolare è la misurazione dei livelli della forma circolante, solubile, naturalmente presente di VEGFR-2 recentemente scoperta e individuata da Ebos e coll (353) nel plasma umano e probabilmente secreta da cellule endoteliali ciclanti. L'analisi dell'espressione genica e i livelli plasmatici dei fattori pro- e

antiangiogenetici (ad esempio VEGF e TSP-1) potrebbe riflettere lo stato del processo antiangiogenetico nei pazienti con cancro in trattamento, come recentemente è stato dimostrato in studi preclinici di schedule metonimiche (antiangiogenetiche) da Bocci e coll. (354). In topi trattati con chemioterapia a basse dosi sono stati trovati livelli plasmatici di TSP-1 più elevati rispetto ai controlli. Inoltre, è stato recentemente dimostrato che l'incremento plasmatico di VEGF è un marker per il dosaggio terapeutico ottimale degli anticorpi monoclonali VEGFR-2 nei modelli di tumore murino (352). Sulla base di questi promettenti studi clinici e preclinici, è altamente raccomandato l'uso di surrogati molecolari che possono essere identificati e quantificati nel plasma o in campioni di sangue periferico.

L'altro farmaco "a bersaglio molecolare specifico", promettente per quanto riguarda il carcinoma coloretale, è il **cetuximab (C225)**.

Questo è un anticorpo monoclonale chimerico che appartiene alla sottoclasse IgG1 delle immunoglobuline ed è in grado di legarsi, bloccandolo, all'*Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) con un'affinità 5-10 volte maggiore rispetto ai ligandi endogeni (EGF, TGF- $\alpha$ ). EGFR è un recettore trans-membrana dotato di attività tirosin-chinasica normalmente espresso in vari tessuti e l'interazione con il ligando ne determina l'attivazione mediante fosforilazione. Si innesca così un processo a cascata di trasduzione del segnale che attiva una serie di proteine cellulari coinvolte nei processi di proliferazione, apoptosi e angiogenesi (336). È stato dimostrato che EGFR è iperespresso in molte neoplasie umane, tra cui il cancro del colon-retto, e che l'iperespressione di EGFR correla con una maggiore aggressività della neoplasia e con una prognosi peggiore (337).

Per quanto riguarda il profilo di tossicità, complessivamente il cetuximab è risultato essere ben tollerato. Eventi avversi di grado 1-2 sono stati riportati nel 62% dei pazienti, mentre gli eventi avversi di grado 3-4 si sono osservati solo nel 12% dei pazienti. Tra gli effetti collaterali più comuni ritroviamo: astenia (18%), febbre (16%), nausea (16%), rash cutaneo acneiforme (di grado 3-4 nell'11% dei pazienti) e reazioni allergiche (di grado 3-4 nel 4% dei pazienti). Tipica di cetuximab è la tossicità cutanea, verosimilmente legata all'elevata espressione di EGFR nell'epidermide e può manifestarsi come rash acneiforme, secchezza cutanea o mucosa, prurito. Gli eventi cutanei non sono generalmente dose-limitanti e si risolvono completamente con l'interruzione del trattamento (338).

Le reazioni allergiche si verificano comunemente alla prima somministrazione di cetuximab e possono però essere facilmente controllate con l'utilizzo di farmaci antistaminici e con una più lenta velocità di infusione del farmaco.

Dal momento che la componente murina di cetuximab è soltanto il 5-10%, la produzione di anticorpi antichimerici (HACA) è stata osservata solo nel 3% dei pazienti. Inoltre nei pazienti che hanno sviluppato HACA non sono state riportate reazioni anafilattiche e l'attività antitumorale di cetuximab è risultata sovrapponibile a quella dei pazienti che non hanno sviluppato anticorpi neutralizzanti.

Modelli preclinici hanno indicato che cetuximab ha una modesta attività in vitro e in vivo come singolo agente, ma presenta una più alta attività se combinato con una chemioterapia citotossica. Basandosi su queste osservazioni, è stato sviluppato uno studio multicentrico di fase II (339), in cui i pazienti con carcinoma coloretale metastatico venivano trattati con la stessa dose e schedula di somministrazione di irinotecano nei confronti della quale avevano precedentemente sviluppato resistenza, in

associazione a cetuximab alla dose di carico di 400mg/m<sup>2</sup> e.v. (settimana 1), seguita da una somministrazione settimanale di 250mg/m<sup>2</sup> e.v. in 1 ora. In questi pazienti che erano progrediti dopo un trattamento basato sul solo CPT-11, l'aggiunta in seconda linea del cetuximab ha permesso di ottenere un tasso di risposte obiettive del 22,5%. Il 3% dei pazienti ha dovuto interrompere il cetuximab in seguito a reazioni allergiche e il 75% dei pazienti ha sviluppato una tossicità cutanea (12% di grado 3), tipica degli inibitori di EGFR.

Un successivo studio di fase III (BOND trial)(344) ha randomizzato 329 pazienti con carcinoma coloretale metastatico, EGFR-positivi all'analisi immunohistochimica e CPT-11 resistenti, a ricevere cetuximab + irinotecano o solo cetuximab. Il braccio di trattamento contenente CPT-11 + cetuximab si è dimostrato superiore al solo cetuximab in termini di risposte obiettive (22,9% vs 10,8%) e di tempo mediano a progressione (4,0 mesi vs 1,6 mesi; p<0,005), ma non in termini di sopravvivenza globale (probabilmente questo è stato dovuto anche alla scarsa potenza statistica dello studio e al passaggio, dopo progressione, da un trattamento basato su CPT-11/cetuximab al solo cetuximab). Il dato è comunque particolarmente interessante perché ha evidenziato come l'agente biologico sia stato in grado di rendere nuovamente sensibili al citotossico tradizionale cellule tumorali che, in precedenza, avevano sviluppato resistenza nei confronti dello stesso chemioterapico.

Risultati analoghi si sono ottenuti più recentemente da uno studio di fase III (EPIC) in cui sono stati randomizzati 1298 pazienti con carcinoma coloretale metastatico EGFR-positivi, resistenti ad una terapia di prima linea a base di fluoropirimidine + oxaliplatino. In seconda linea, il primo braccio è stato trattato con cetuximab + irinotecano, il secondo con solo irinotecano. Il braccio contenente cetuximab ha dimostrato di avere un'efficacia significativa in termini di risposte obiettive (16,4% vs 4,2%;

$p < 0,0001$ ) e di tempo a progressione (4,0 mesi vs 2,6 mesi;  $p < 0,0001$ ). Anche la qualità di vita è risultata migliore, mentre per quanto riguarda la sopravvivenza globale non c'è stata una differenza significativa fra i due gruppi, forse ciò è stato influenzato dal numeroso numero di pazienti del secondo braccio che ha ricevuto anche cetuximab al termine dello studio.(340)

Dal punto di vista clinico, questo si traduce nella possibilità di ottenere un controllo di malattia anche in pazienti con cancro del colon-retto metastatico pesantemente pretrattati e con poche chances di risposta ad ulteriori linee di sola chemioterapia.

Mentre è stata dimostrata da tempo l'attività di cetuximab nella terapia di salvataggio, il suo ruolo nel trattamento di prima linea è ancora in fase di studio.

A questo riguardo ci sono diversi studi di fase II che combinano cetuximab ad una terapia di prima linea. Ad esempio Rosenberg et al.(341) hanno studiato l'associazione di cetuximab con un regime settimanale di IFL in bolo, ottenendo un tasso di risposte del 44%.

Sono in corso studi di fase III che valutano l'aggiunta di cetuximab a regimi di prima linea come FOLFIRI (studio CRYSTAL) e FOLFOX (studio OPUS). Lo studio CRYSTAL (342) ha dimostrato un incremento della sopravvivenza libera da progressione (8,9 mesi vs 8,0 mesi;  $p = 0,0479$ ) e del tasso di risposte obiettive (47% vs 39%) con la combinazione FOLFIRI + cetuximab rispetto al solo FOLFIRI nel trattamento di prima linea, anche se gli effetti collaterali del primo braccio sono stati molto più frequenti rispetto ai pazienti trattati con il solo FOLFIRI. Lo studio OPUS (343) ha ottenuto un 46% di risposte obiettive con il trattamento FOLFOX + cetuximab rispetto al 36% ottenuto con il solo FOLFOX. Entrambi i regimi di combinazione si sono dimostrati ben tollerati.



Abbiamo già detto come l'effetto collaterale più comune e caratteristico del cetuximab sia rappresentato da una tossicità cutanea che si manifesta per lo più con un rash simil-acneiforme, in generale al volto e al tronco(331). Quello che è importante sottolineare è che esiste una correlazione tra l'intensità del rash cutaneo e la risposta al trattamento e la sopravvivenza, come dimostrato dallo studio BOND (344).

Questa correlazione è risultata particolarmente forte in una sottoanalisi ricavata dallo studio IMC 0144, in cui Pippas et al. valutavano l'espressione di EGFR in pazienti con carcinoma coloretale metastatico trattati con cetuximab in monoterapia.

I risultati ottenuti hanno rivelato che pazienti senza tossicità cutanea non presentavano risposte obiettive e avevano una sopravvivenza mediana di 1,7 mesi; mentre pazienti che nel corso del trattamento sviluppavano un rash cutaneo di grado 3 presentavano un tasso di risposte obiettive del 20% e una sopravvivenza mediana di quasi 1 anno (345).

Attualmente si stanno studiando schedule di dose-escalation in modo da valutare la possibilità di aumentare l'efficacia del cetuximab inducendo un rash cutaneo (studio Everest). I dati presentati al meeting dell'ASCO 2007 hanno dimostrato che una dose-escalation di cetuximab fino a 500mg/m<sup>2</sup>/settimana migliora il tasso di risposta nei pazienti che non presentavano alcuna reazione cutanea (o solamente una lieve tossicità) alla dose standard di trattamento (346).

*Altri farmaci EGFR-Targeting: Panitumumab (ABX-EGF)* è un anticorpo monoclonale anti-EGFR completamente umanizzato. Uno studio di fase II (348) ha dimostrato che questo farmaco, usato in monoterapia nei pazienti con carcinoma coloretale metastatico, induce un tasso di risposte del 10% e un tasso di stabilizzazione di malattia del 38%. La

durata mediana di risposta è stata di 5,2 mesi; la PFS mediana di 2 mesi e la sopravvivenza mediana di 7,9 mesi.

La maggior parte dei pazienti ha sviluppato tossicità cutanea. Solo 1 paziente su 148 ha avuto una reazione allergica, suggerendo che panitumumab, poichè anticorpo completamente umanizzato, possa determinare una più bassa incidenza di reazioni allergiche rispetto a cetuximab. Inoltre questo nuovo farmaco sembra avere una simile efficacia rispetto a cetuximab.

Uno studio randomizzato di fase III (349) su panitumumab più BSC (Best Supportive Care) versus solo BSC in 463 pazienti EGFR-positivi e resistenti a oxaliplatino e irinotecano, ha mostrato un tempo a progressione significativamente più lungo nei pazienti trattati con panitumumab (PFS mediana 8 settimane vs 7,3 settimane;  $p < 0,0001$ ), associato ad un buon profilo di tossicità (modesta tossicità cutanea, ipomagnesemia e diarrea, nessun paziente ha mostrato reazione infusionale di grado 3 o 4).

Recentemente, Hecht e coll. hanno condotto uno studio di fase III volto a valutare l'efficacia dall'aggiunta di panitumumab a una chemioterapia con FOLFOX o FOLFIRI più bevacizumab come trattamento di prima linea nel mCRC. Nello studio sono stati randomizzati rispettivamente 823 e 230 pazienti nei bracci con oxaliplatino e irinotecano. L'aggiunta di panitumumab ha comportato una aumentata tossicità e una diminuzione della PFS. Infatti la PFS mediana era di 10,0 e per il braccio utilizzante panitumumab e 11,4 mesi per il braccio di controllo. La sopravvivenza mediana era 19,4 mesi e 24,5 mesi, rispettivamente. Il braccio con panitumumab ha dimostrato una maggiore incidenza di tossicità di grado 3-4 quali: tossicità cutanea, diarrea, infezioni, embolia polmonare. Gli autori hanno perciò concluso che tali combinazioni non sono raccomandabili nel trattamento del mCRC (356).

*Combinazione di bevacizumab e cetuximab:* lo studio BOND-2 (347) recentemente ha studiato la fattibilità e l'efficacia della combinazione di cetuximab e bevacizumab nel trattamento di salvataggio dei pazienti con carcinoma coloretale metastatico. Pazienti resistenti al CPT-11, di cui il 90% aveva ricevuto anche oxaliplatino nella terapia di prima linea, sono stati randomizzati a ricevere cetuximab + bevacizumab o la combinazione dei due anticorpi + irinotecano. I risultati sono stati interessanti: il tasso di risposte obiettive è stato del 23% nel braccio di trattamento contenente la doppietta degli anticorpi e del 38% nel braccio contenente la tripletta con CPT-11. Il tempo a progressione è stato rispettivamente di 6,8 mesi e di 8,5 mesi, ma comunque sostanzialmente più lungo rispetto allo studio BOND (4,1 mesi per CPT-11 + cetuximab e 1,5 mesi per il solo cetuximab).

Inoltre dal punto di vista della tossicità, entrambi i trattamenti sono stati ben tollerati.

Alla luce di questi risultati è stato sviluppato lo studio CALG-B che sta valutando il ruolo di cetuximab e bevacizumab nel trattamento di prima linea del carcinoma del colon-retto metastatico. Gli sperimentatori possono scegliere il regime di chemioterapia (FOLFOX o FOLFIRI) e i pazienti vengono poi randomizzati a ricevere cetuximab o bevacizumab o entrambi. Di particolare importanza è il fatto che lo studio viene considerato positivo se la sopravvivenza mediana di uno dei bracci di trattamento sperimentale arriva almeno a 27,5 mesi; indicando che questo trial ripone grandi aspettative in termini di efficacia in questi regimi di combinazione.

## CAPITOLO 2

### STUDIO CLINICO DI FASE II IN APERTO MULTICENTRICO SUL TRATTAMENTO DI PRIMA LINEA CON IRINOTECANO, OXALIPLATINO, E 5-FLUOROURACILE/LEUCOVORIN INFUSIONALE (FOLFOXIRI) IN COMBINAZIONE CON BEVACIZUMAB IN PAZIENTI CON CARCINOMA DEL COLON-RETTO METASTATICO: PROTOCOLLO DI STUDIO

#### 2.1 RAZIONALE DELLO STUDIO

Sulla base delle seguenti considerazioni abbiamo disegnato uno studio pilota di una chemioterapia di prima linea bisettimanale con FOLFOXIRI + bevacizumab in pazienti affetti da carcinoma coloretale metastatico:

- Nel carcinoma coloretale metastatico il miglior controllo di malattia si ottiene nei pazienti che, durante il decorso della malattia, ricevono 5-fluorouracile, irinotecano e oxaliplatino (271), ma, con una strategia di trattamento sequenziale circa il 25-50% dei pazienti non riceve trattamenti di seconda linea e, perciò non è esposta a tutti e 3 gli agenti (282).
- Una modalità per esporre il 100% dei pazienti a tutti e 3 i farmaci attivi (5FU, irinotecano e oxaliplatino) è quella di incorporarli nella prima linea di trattamento.
- Studi di fase II dimostrano che la combinazione di 5-fluorouracile, irinotecano e oxaliplatino (regime FOLFOXIRI) è fattibile, possiede una elevata attività antitumorale ed una efficacia promettente (tasso di risposte 70-71%, tempo mediano alla progressione 10.4-10.8 mesi, sopravvivenza mediana 26.5-28.4 mesi, resezioni chirurgiche di metastasi dopo chemioterapia 26%) (272,273).
- I risultati di uno studio di fase III recentemente condotto dal gruppo G.O.N.O. che ha confrontato il regime FOLFOXIRI al regime FOLFIRI,

dimostrano che FOLFOXIRI è fattibile con tossicità maneggevoli anche in ambito multicentrico; FOLFOXIRI incrementa significativamente il tasso di risposte, il tempo mediano alla progressione, la sopravvivenza globale e le resezioni chirurgiche di metastasi dopo chemioterapia (359,360).

- La combinazione di bevacizumab col regime IFL è fattibile ed incrementa significativamente il tasso di risposte, il tempo a progressione e la sopravvivenza rispetto al solo IFL nel trattamento di prima linea del carcinoma coloretale metastatico (327).

- La combinazione di bevacizumab col regime FOLFOX-4 è fattibile ed incrementa significativamente il tasso di risposte, il tempo a progressione e la sopravvivenza rispetto al solo FOLFOX-4 nel trattamento di seconda linea del carcinoma coloretale metastatico (331).

- Un importante studio che ha valutato un totale di 1743 pazienti arruolati in 32 nazioni evidenzia che la combinazione di bevacizumab con vari regimi chemioterapici di prima linea nel carcinoma colonrettale metastatico è fattibile e sicura (332).

## **2.2 OBIETTIVI**

Gli obiettivi primario e secondari dello studio sono i seguenti:

### ***Primario***

- Sopravvivenza libera da progressione.

### ***Secondari***

- Tasso di remissioni obiettive.
- Profilo di sicurezza.
- Sopravvivenza globale.
- Resezioni R0 delle metastasi
- Potenziali markers predittivi di attività di bevacizumab.

## **2.3 SELEZIONE DEI PAZIENTI**

I criteri di eleggibilità dei pazienti includevano:

### ***CRITERI DI INCLUSIONE***

- Diagnosi confermata istologicamente di adenocarcinoma del colon-retto;
- Malattia metastatica misurabile e non resecabile (Criteri RECIST);
- Maschi o femmine, età compresa tra 18 e 75 anni ;
- ECOG PS < 2 se età < 71 anni;
- ECOG PS = 0 se età compresa tra 71 e 75 anni;
- Aspettativa di vita superiore a 3 mesi;
- Adeguata funzionalità midollare: neutrofili  $\geq 1.5 \times 10^9/L$ ; piastrine  $\geq 100 \times 10^9/L$ , Hb  $\geq 9$  g/dL;
- INR  $\leq 1.5$  e aPTT  $\leq 1.5$  volte il valore normale;
- Adeguata funzionalità epatica: bilirubinemia  $\leq 1.5$  volte il valore normale; fosfatasi alcalina e transaminasi  $\leq 2.5$  volte il valore normale (in presenza di metastasi epatiche < 5 volte il valore normale);
- Creatininemia  $\leq 1.5$  volte il valore normale;
- Dipstick Urine per proteinuria < 2+. Nel caso di proteinuria  $\geq 2+$ , la proteinuria all'esame delle urine nelle 24 ore deve risultare  $\leq 1$  g;
- Ammessi pazienti sottoposti a precedente chemioterapia adiuvante purchè terminata e trascorsi più di 12 mesi dal termine del trattamento all'evidenza di ricaduta;
- Ammessi pazienti sottoposti a precedente radioterapia (purchè terminata da almeno 6 settimane) e/o precedenti interventi chirurgici (purchè siano trascorse almeno 4 settimane).

## **CRITERI DI ESCLUSIONE**

- Precedente chemioterapia palliativa;
- Precedenti trattamenti con bevacizumab;
- Occlusione o subocclusione intestinale. Anamnesi positiva per malattia infiammatoria intestinale o per intervento chirurgico di resezione intestinale estesa (colectomia totale/subtotale con diarrea cronica);
- Neuropatia periferica sintomatica (> grado 2 secondo i criteri NCIC-CTC v3.0);
- Metastasi cerebrali;
- Infezioni attive non controllate; coagulazione intravascolare disseminata;
- Interventi chirurgici maggiori o traumi significativi nei 28 giorni precedenti al trattamento. Impianto del catetere venoso centrale nei 2 giorni precedenti l'inizio del trattamento;
- Anamnesi positiva per neoplasie maligne diverse dal carcinoma coloretale ad eccezione di basalioma/epitelioma cutaneo o di carcinoma in situ della cervice curati radicalmente;
- Malattia cardiovascolare clinicamente significativa. Ad esempio accidenti cerebrovascolari (entro 6 mesi dall'inizio del trattamento), infarto del miocardio (entro 6 mesi dall'inizio del trattamento), angina instabile, scompenso cardiaco  $\geq$  grado 2 (Scala NYHA), aritmia non controllata;
- Ipertensione non controllata;
- Proteinuria nelle 24 ore >1 g se dipstick  $\geq$  2+;
- Anamnesi positiva per eventi tromboembolici o emorragici nei 6 mesi precedenti l'inizio del trattamento;
- Diatesi emorragica o coagulopatia;



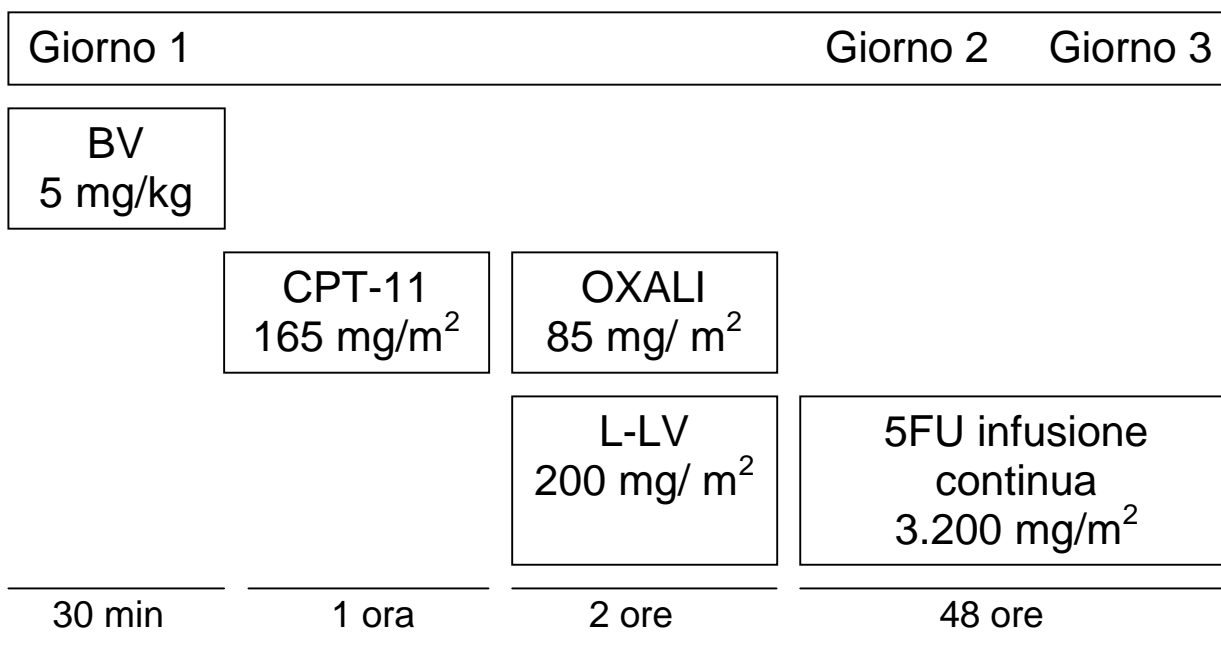
- Ferite severe non cicatrizzate, ulcera in atto o fratture ossee non consolidate;
- Terapia con anticoagulanti o agenti antiaggreganti piastrinici a dosaggio terapeutico (inclusi FANS). Consentito acido acetilsalicilico  $\leq 325$  mg/die;
- Gravidanza o allattamento;
- Donne in età fertile (entro 2 anni dall'ultima mestruazione) o uomini in età fertile che non accettino di sottoporsi ad adeguate misure contraccettive.

## 2.4 DISEGNO DELLO STUDIO

Il presente è uno studio clinico multicentrico di fase II, a singolo braccio, in aperto. Il trattamento sperimentale prevede:

- **BEVACIZUMAB\*** 5 mg/Kg e.v. seguito da
- **IRINOTECANO** 165 mg/m<sup>2</sup> e.v. in 1 ora seguito da
- **OXALIPLATINO** 85 mg/m<sup>2</sup> e.v. in 2 ore in concomitanza a
- **LEUCOVORIN** 200 mg/m<sup>2</sup> in 2 ore seguito da
- **5-FLUOROURACILE** 3.200 mg/m<sup>2</sup> in infusione continua di 48 ore

Con cicli ripetuti ogni 2 settimane per un massimo di 12 cicli (illustrato nella figura 2.1)



Ripetuto ogni 14 giorni

Figura 2.1 Disegno dello studio. BV= Bevacizumab, CPT-11= irinotecano, OXALI= oxaliplatino, L-LV= leucovorin, 5FU= 5-fluorouracile.

Dopo l'interruzione della chemioterapia i pazienti possono ricevere un trattamento di mantenimento con:

- **BEVACIZUMAB** 5 mg/Kg e.v. ogni 2 settimane,  $\pm$  5-FU/LV.

Fino a progressione tumorale, tossicità inaccettabile o rifiuto del paziente.

\* La dose iniziale di bevacizumab è stata somministrata per  $90 \pm 15$  minuti. Se la prima infusione è stata tollerata senza eventi avversi correlati all'infusione stessa (febbre e/o brivido), la seconda infusione può essere somministrata per  $60 \pm 10$  minuti. Se l'infusione di 60 minuti è stata ben tollerata, tutte le successive infusioni sono state somministrate per  $30 \pm 10$  minuti.

### *ANALISI STATISTICA*

L'obiettivo primario dello studio è la sopravvivenza libera da progressione. In precedenti studi di fase II e fase III sia il regime FOLFOXIRI che i regimi di combinazione di bevacizumab con doppiette hanno fornito una sopravvivenza libera da progressione mediana di circa 10 mesi ( 50% dei pazienti liberi da progressione al 10° mese). La combinazione di FOLFOXIRI con bevacizumab sarà considerato promettente in termini di attività se la percentuale di pazienti liberi da progressione al 10° mese aumenterà dal 50% al 70%. In accordo con il disegno a singolo stadio descritto da Fleming e A'Hern e considerando il parametro  $p_0$  (percentuale di pazienti liberi da progressione a 10 mesi nell'ipotesi nulla) = 0.50, e  $p_1$  (percentuale di pazienti liberi da progressione a 10 mesi nell'ipotesi alternativa) = 0,70, e inoltre considerando gli errori  $\alpha$  di 0,05 e  $\beta$  di 0,10, lo studio richiede un totale di 53 pazienti valutabili per la progressione. Il trattamento verrà considerato promettente se al termine si osserveranno 33 pazienti liberi da progressione al 10° mese.

### *EVENTUALE CESSAZIONE DELLO STUDIO*

La sicurezza del trattamento è stata monitorata continuamente e una analisi della incidenza della tossicità è stata eseguita dopo l'inclusione dei primi 6, 12, e 18 pazienti.

In particolar modo, nei casi in cui fosse osservata una tossicità non ematologia di grado 3-4 (ad eccezione di nausea, vomito e alopecia) oppure trombocitopenia o neutropenia febbrile di grado 4 in una percentuale superiore al 33% dei pazienti (2 su 6, 4 su 12, o 6 su 18 rispettivamente) lo studio sarebbe stato fermato e la schedula del trattamento sarebbe stata modificata sulla base degli eventi avversi osservati.

### *DURATA DELLO STUDIO*

Sono stati arruolati complessivamente 57 pazienti dal 31 gennaio 2007 al 28 marzo 2008.

### *CENTRI PARTECIPANTI*

Hanno partecipato allo studio 7 centri italiani:

- U.O. Oncologia Medica, Presidio Ospedaliero, Livorno
- U.O. Oncologia Medica Az. Ospedaliera Pisana Ospedale S.Chiera
- U.O. Oncologia Medica Ospedale Unico della Versilia
- U.O. Oncologia Medica Ospedale Misericordia e Dolce – Prato
- Istituto Nazionale per la Ricerca Sul Cancro – Genova
- Struttura Complessa Oncologia Medica A.O. S. Croce e Carle – Cuneo
- Day Hospital Oncologico Policlinico Umberto I – Roma.

## *RESEZIONE DELLE METASTASI*

La resezione radicale chirurgica delle metastasi residue nei pazienti che hanno ottenuto una buona risposta al trattamento è altamente raccomandata e la sua fattibilità è stata rivalutata ogni 2 mesi.

Nel caso in cui il paziente divenisse eleggibile per una resezione potenzialmente curativa della malattia metastatica, il trattamento con bevacizumab deve essere sospeso almeno 8 settimane prima del giorno programmato per la chirurgia (355) mentre la chemioterapia può essere continuata per altri 2 cicli. Dopo la resezione, il paziente può riprendere il trattamento sperimentale non prima di 4 settimane dalla chirurgia per ricevere un minimo di 12 cicli di chemioterapia inclusi quelli somministrati prima della chirurgia. Bevacizumab verrà continuato fintanto che si presenti progressione tumorale, tossicità inaccettabile o rifiuto del paziente.

## *DURATA DEL TRATTAMENTO*

La chemioterapia è stata continuata fino a:

- Un totale di 12 cicli (o di più su suggerimento del medico nel miglior interesse del paziente);
- Malattia in progressione;
- Tossicità inaccettabile;
- Rifiuto del paziente.

Bevacizumab è stato continuato fino a:

- malattia in progressione;
- tossicità inaccettabile;
- rifiuto del paziente.

## **2.5 VALUTAZIONE DEI POTENZIALI MARKERS BIOLOGICI PREDITTIVI DI ATTIVITA' ANTIANGIOGENETICA**

Lo sviluppo clinico di farmaci a bersaglio molecolare specifico con attività antiangiogenetica presenta importanti limiti relativi al monitoraggio della loro attività biologica e alla determinazione della dose biologicamente ottimale (350). Questi problemi richiedono lo sviluppo di markers surrogati di farmacodinamica come ad esempio l'espressione di VEGF, TSP-1, VE-caderina e VEGFR-2.

Vari studi evidenziano che uno splicing alternativo del gene del VEGF determina la generazione di quattro differenti m-RNA che codificano polipeptidi di 121, 165, 189 e 206 aminoacidi. Il polimorfismo del gene del VEGF è associato ad una produzione variabile della proteina VEGF e questo meccanismo è coinvolto nella suscettibilità a vari processi patologici nei quali l'angiogenesi svolge un ruolo critico. Perciò l'identificazione del polimorfismo genico di VEGF può contribuire alla valutazione delle neoplasie resistenti ai farmaci anti-angiogenetici (351)

Presso il dipartimento di Medicina Interna U.O. di Farmacologia dell'Università di Pisa sono attualmente in corso studi volti a valutare l'idoneità dell'espressione di VEGF, TSP-1, VE-caderina e VEGFR-2 quali possibili markers biologici predittivi di attività di bevacizumab. Per questo, durante la valutazione basale dei 57 pazienti del presente studio sono stati collezionati campioni inclusi in paraffina del tumore primario e/o metastatico per la valutazione dei possibili fattori genetici predittivi della risposta al trattamento sperimentale. Inoltre al momento delle valutazioni basali, durante e al termine del trattamento sperimentale sono stati eseguiti monitoraggi dei livelli plasmatici di VEGF, sVEGFR-2 e TSP-1; VEGF genotipo; TSP-1 VE-caderina e espressione genica di VEGFR-2. I campioni di sangue ottenuti sono stati trattati secondo le seguenti metodiche.

Livelli plasmatici di VEGF, sVEGFR-2 e TSP-1. Al fine di evitare possibili cross-reattività tra Bevacizumab e il test ELISA per VEGF, sVEGFR-2 e TSP-1, è stata eseguita una immunodeplezione del plasma. La proteina G-Sepharose 4 Fast Flow beads (Pharmacia Biotech) è stata lavata in PBS prima di essere ricostituita al 50% (v/v). Per privare i campioni di sangue dagli anticorpi bevacizumab, sono stati aggiunti 100 µL di proteina G slurry ai 200 µL di campioni di plasma e sono stati incubati a 4°C per 4 ore. Dopo centrifugazione, sono stati rimossi 200 µL di supernatanti plasmatici, e la immunodeplezione è stata poi ripetuta con l'aggiunta di 100 µL di proteina G slurry e con la incubazione a 4°C durante la notte. I supernatanti plasmatici immunodepleti sono stati quindi conservati per le successive analisi ELISA per VEGF, sVEGFR-2 e TSP-1.

Genotipizzazione del VEGF. Il DNA è stato isolato dal sangue intero (da campioni sia freschi che congelati) attraverso il metodo standard di estrazione. Le sequenze nucleotidiche che contengono 4 polimorfismi del gene VEGF (-2578C/A, -1154G/A, -634C/G e 936C/T) sono stati amplificati attraverso una reazione a catena della polimerasi (PCR) usando primers specifici e 50-100 ng di DNA genomico. I genotipi sono stati determinati da restriction fragment length polymorphism (RFLP) assay. Gli enzimi di restrizione che individuano -2578C/A, -1154G/A, -634C/G e 936C/T sono rispettivamente BstYI, MnlI, BsmFI and NlaIII (New England Biolabs, Beverly, MA, USA), e successivamente è stata eseguita una corsa elettroforetica su gel di agarosio al 2%. Gli RFLP risultati da -1154G/A sono distinguibili esclusivamente su gel di poliacrilamide al 12%.

Espressione genica di VEGF, TSP-1, VE-caderina e VEGFR-2. mRNA è stato isolato da sangue intero (sia da campioni di sangue fresco sia congelato) attraverso un metodo standard di estrazione. Per generare

cDNA, l'RNA totale è stato trattato con RNasi-Free Dnasi set (Qiagen) per eliminare qualsiasi DNA genomico contaminante. L'RNA trattato con Dnasi (100 ng) è stato poi convertito in cDNA da una trascrittasi inversa virale (Life Technologies). Una valutazione quantitativa dell'espressione genica è stata eseguita con una PCR in tempo reale (TaqMan) usando l'ABI PRISM 7900HT Sequence Detection System (Applied Biosystems). I primers di VEGF, TSP-1, VE-caderina e VEGFR-2 e i fluorogenic TaqMan probes sono stati designati con il Primer Express software (Perkin-Elmer) dalle sequenze presenti nel database della Genebank. Il numero di copie dei geni target di ciascun campione sono stati normalizzati attraverso la suddivisione con il rispettivo numero di copie di GAPDH ed è stato espresso in percentuale.

Campionamento e conservazione di sangue per gli studi di genotipizzazione/espressione genica. Sono stati estratti 3 ml di sangue intero e sono stati raccolti in un tubo di plastica marcato con 5 ml di EDTA; i campioni sono stati immediatamente centrifugati a 4°C (10 min; 4,000 rpm) fino ad ottenere plasma che è stato poi conservato a -80°C. Nei casi in cui la conservazione a -80°C non è stata immediatamente possibile i campioni sono stati mantenuti a -20°C per un massimo di 3 settimane e successivamente sono state conservate a -80°C

Campionamento e conservazione di sangue per gli studi farmacodinamici Sono stati estratti 3 ml di sangue intero e sono stati raccolti in un tubo di plastica marcato con 5 ml di EDTA; i campioni sono stati immediatamente centrifugati a 4°C (10 min; 4,000 rpm) fino ad ottenere plasma che è stato poi conservato a -80°C. Nei casi in cui la conservazione a -80°C non è stata immediatamente possibile i campioni sono stati mantenuti a -20°C per un massimo di 3 settimane e successivamente sono state conservate a -80°C.



## **2.6 VALUTAZIONI BASALI, DURANTE IL TRATTAMENTO E AL TERMINE DEL TRATTAMENTO**

### *VALUTAZIONE BASALE*

Entro un mese dalla prima infusione sono stati eseguiti:

- anamnesi medica;
- storia del cancro e dei trattamenti;
- segni vitali (inclusi pressione sanguigna, polso, temperatura corporea, altezza e peso corporeo) , ECOG performance status, esame obiettivo generale (inclusa la funzione cardiovascolare) e cure concomitanti;
- ECG: un elettrocardiogramma standard è stato eseguito come screening e come indicazione clinica;
- Valutazione ematologica: emoglobina, conta delle piastrine, globuli rossi, globuli bianchi (neutrofili, linfociti, monociti, eosinofili, basofili) INR e aPTT;
- Concentrazione sierica di : Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup>, Cl<sup>-</sup>, urea (BUN), Acido urico, Proteine totali, Albumina, Fosfatasi Alcalina, ALT, AST, GGT, LDH, Bilirubina diretta e indiretta, Creatinina sierica, Glucosio, CEA, Ca19.9;
- Esame delle urine: lo stick urinario è sufficiente fintanto che il risultato è <2+; se lo stick urinario era >2+, la raccolta delle urine nelle 24h doveva dimostrare <1g di proteine nelle 24h.
- Un test sierico di gravidanza è stato eseguito entro 7 giorni dall'inizio del trattamento; se la data del prelievo per il test di gravidanza superava l'intervallo di tempo di 7 giorni dall'inizio del trattamento, per confermare l'assenza di una gravidanza era accettabile un test delle urine.
- Valutazione della malattia (CT scan etc.)
- Valutazione dei livelli plasmatici di VEGF, sVEGFR-2 e TSP-1; VEGF

genotipo; TSP-1 VE-caderina e espressione genica di VEGFR-2.

- Collezione di campioni inclusi in paraffina del tumore primario e/o metastatico per la valutazione dei possibili fattori genetici predittivi della risposta al trattamento sperimentale.

### *VALUTAZIONE DURANTE IL TRATTAMENTO*

Nel giorno 1 di ogni ciclo programmato sono stati valutati per ogni paziente:

- la tossicità del trattamento (seguendo i criteri di graduazione degli eventi avversi CTCAE versione 3.0);
- i valori ematologici di: emoglobina, conta delle piastrine, globuli rossi, globuli bianchi (neutrofili, linfociti, monociti, eosinofili, basofili)

Valutazioni addizionali sono state richieste nel caso di ipertensione, proteinuria, trombosi e eventi emorragici come specificato più avanti.

*Ipertensione:* nel caso di ipertensione di grado 3/4 , dovrebbero essere eseguite misurazioni addizionali della pressione sanguigna su base settimanale (per tutta la durata della terapia sperimentale) fino alla risoluzione dell'episodio.

*Proteinuria:* una raccolta delle urine nelle 24h è richiesta nel caso in cui lo stick urinario dimostri una proteinuria  $\geq 2+$  .

*Trombosi:* nel caso di trombosi di grado 3/4 dovrebbe essere prelevato un campione di sangue per l'esecuzione delle seguenti valutazioni di laboratorio: INR,aPTT.

*Episodi emorragici:* nel caso di episodi emorragici di grado 2 o di grado più elevato dovrebbe essere prelevato un campione di sangue per l'esecuzione delle seguenti valutazioni di laboratorio :INR,aPTT.

## *VALUTAZIONE DELLA RISPOSTA*

I pazienti sono stati valutati per la risposta al trattamento ogni 4 cicli con:

- anamnesi medica;
  - segni vitali (inclusi pressione sanguigna, polso, temperatura corporea, altezza e peso corporeo) , ECOG performance status, esame obiettivo generale (inclusa la funzione cardiovascolare) e cure concomitanti;
  - Valutazione ematologica: emoglobina, conta delle piastrine, globuli rossi, globuli bianchi (neutrofili, linfociti, monociti, eosinofili, basofili) INR e aPTT;
  - Concentrazioni sieriche di: Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup>, Cl<sup>-</sup>, urea (BUN), Acido urico, Proteine totali, Albumina, Fosfatasi Alcalina, ALT, AST, GGT, LDH, Bilirubina diretta e indiretta, Creatinina sierica, Glucosio, CEA, Ca19.9;
  - Valutazione della malattia (CT scan etc.).
  - Esame delle urine: lo stick urinario è sufficiente fintanto che il risultato è <2+; se lo stick urinario era >2+, la raccolta delle urine nelle 24h doveva dimostrare <1g di proteine nelle 24h.
  - Valutazione dei livelli plasmatici di VEGF, sVEGFR-2 e TSP-1; VEGF genotipo; TSP-1 VE-caderina e espressione genica di VEGFR-2.
- La risposta al trattamento è stata valutata secondo i criteri RECIST (vedi appendice IV).

## *VALUTAZIONE AL TERMINE DELLA CHEMIOTERAPIA*

Alla fine di ogni 2 mesi sono stati eseguiti:

- anamnesi medica;
- segni vitali (inclusi pressione sanguigna, polso, temperatura corporea, altezza e peso corporeo) , ECOG performance status, esame obiettivo generale (inclusa la funzione cardiovascolare) e cure concomitanti;

- Ematologia: emoglobina, globuli rossi, conta delle piastrine, globuli bianchi inclusi (neutrofili, linfociti, monociti, eosinofili, basofili) INR e aPTT;
- Concentrazioni sieriche di: Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup>, Cl<sup>-</sup>, urea (BUN), Acido urico, Proteine totali, Albumina, Fosfatasi Alcalina, ALT, AST, GGT, LDH, Bilirubina diretta e indiretta, Creatinina sierica, Glucosio, CEA, Ca19.9;
- Valutazione della malattia (CT scan etc.).
- Esame delle urine: lo stick urinario è sufficiente fintanto che il risultato è <2+; se lo stick urinario era >2+, la raccolta delle urine nelle 24h doveva dimostrare <1g di proteine nelle 24h.
- Valutazione dei livelli plasmatici di VEGF, sVEGFR-2 e TSP-1; VEGF genotipo; TSP-1 VE-caderina e espressione genica di VEGFR-2.

## **2.7 TRATTAMENTO DOPO LA PROGRESSIONE**

I pazienti responsivi alla chemioterapia (risposta completa o risposta parziale che dura per più di 6 mesi dopo l'interruzione di FOLFOXIRI) senza neurotossicità  $\geq$  grado 2 (CTCAE versione 3.0) dopo la progressione hanno potuto ricevere uno dei seguenti trattamenti:

- Cetuximab + Irinotecano;
- Ulteriore trattamento con FOLFOXIRI (nel caso di neurotossicità di grado  $\geq$  2 ulteriore trattamento con FOLFIRI);
- Protocollo di studio clinico che valuta la continuazione di bevacizumab + chemioterapia.

Gli eventuali pazienti non responsivi alla chemioterapia (progressione, stabilità) o che hanno ottenuto una risposta obiettiva che dura meno di 6 mesi dopo l'interruzione di FOLFOXIRI, dopo la progressione hanno potuto ricevere uno dei seguenti trattamenti:

- Cetuximab + Irinotecano;
- Protocollo di studio clinico che valuta la continuazione di bevacizumab + chemioterapia.

## **2.8 RIDUZIONI DI DOSE E RINVII**

La tossicità è stata valutata in base ai criteri del National Cancer Institute (NCI) CTCAEv3.0 (vedi appendice II).

Le riduzioni di dose e i rinvii del trattamento sono stati eseguiti secondo le indicazioni delle tabelle 2.1a e 2.1b.

Una volta che la dose di uno o più farmaci è stata ridotta per tossicità, non è stata incrementata in un tempo successivo.

- ***Modificazioni della dose per tossicità attribuite alla chemioterapia***

Sono state operate modificazioni della dose dei farmaci in corso al giorno 1 del ciclo previsto per tossicità attribuita alla chemioterapia in base alle indicazioni illustrate nella tabella 2.1a.

**Tabella 2.1a Modificazione della dose in corso al giorno 1 del ciclo previsto per tossicità attribuita alla chemioterapia.** CPT-11=

Irinotecano L-OHP= Oxaliplatino 5-FU= 5-Fluorouracile

<b>TOSSICITA' IN CORSO AL GIORNO 1 DEL CICLO PREVISTO</b>	<b>GRADO</b>	<b>CPT-11</b>	<b>L-OHP</b>	<b>5-FU</b>
Globuli Bianchi	< 3000/mm <sup>3</sup>	<b>Rinviare il trattamento fino alla risoluzione</b>		
Neutrofili	< 1000/mm <sup>3</sup>			
Piastrine	<100000/mm <sup>3</sup>			
Diarrea	≥ 1			
Mucosite	≥ 1			
Qualsiasi altra tossicità non ematologica	> 2			
Sindrome mani/piedi	3 - 4	100%	100%	<b>STOP</b>
Neurotossicità	> 3	100%	<b>STOP</b>	100%

La dose degli agenti chemioterapici è stata ridotta nel caso in cui avessero manifestato effetti tossici gravi nei cicli precedenti; tali riduzioni di dose sono state operate seguendo le indicazioni illustrate nella tabella 2.1b.

**Tabella 2.1b Modificazione della dose per tossicità pregressa attribuita alla chemioterapia** CPT-11= Irinotecano L-OHP= Oxaliplatino 5-FU= 5-Fluorouracile.

TOSSICITA' PREGRESSA	GRADO	CPT-11	L-OHP	5-FU
Neutropenia <5giorni	4	75%	75%	100%
Neutropenia febbrile	4			
Trombocitopenia	3-4			
Diarrea	3	75%	100%	75%
Diarrea	4	50%	100%	50%
Stomatite	3	100%	100%	75%
Stomatite	4	100%	100%	50%
Ischemia Miocardica	...	100%	100%	STOP

• **Modificazione della dose per tossicità attribuibile a Bevacizumab**

Non sono previste riduzioni di dose di bevacizumab . Qualsiasi paziente che abbia sviluppato una delle seguenti tossicità non ha ricevuto ulteriormente bevacizumab:

- perforazione gastrointestinale
- episodi tromboembolici arteriosi
- episodi emorragici di grado 3/4
- trombosi sintomatica di grado 4
- Ipertensione di grado 4 (crisi ipertensiva)
- Proteinuria di grado 4 (sindrome nefrosica)

Nel caso in cui bevacizumab sia stato interrotto, la chemioterapia è stata

comunque proseguita.

E' stato provato che bevacizumab ripetuto ogni 2 settimane alla dose di 5 mg/Kg è un trattamento sicuro. Non sono stati permessi aggiustamenti della dose. L'iniziale dose del farmaco dello studio doveva essere somministrata per  $90 \pm 15$  minuti. Se la prima infusione veniva tollerata senza eventi avversi correlati all'infusione (febbre e/o brivido), la seconda infusione è stata somministrata per  $60 \pm 10$  minuti. Se l'infusione di 60 minuti è stata ben tollerata, tutte le successive infusioni sono state somministrate per  $30 \pm 10$  minuti.

- ***Perforazione gastrointestinale***

Nel caso in cui i pazienti avessero sviluppato una perforazione gastrointestinale bevacizumab sarebbe stato interrotto permanentemente.

- ***Complicanze delle procedure chirurgiche/ Deiscenza delle ferite***

Il trattamento con bevacizumab non è stato iniziato nel periodo di almeno 28 giorni successivo ad un intervento chirurgico maggiore o fino a che le ferite chirurgiche non si fossero completamente risarcite. Nei pazienti con complicanze alle ferite chirurgiche durante il trattamento con bevacizumab, bevacizumab sarebbe stato sospeso fino a che la ferita non si fosse completamente risarcita. La terapia con bevacizumab è stata sospesa 28 giorni prima di un intervento chirurgico. Il posizionamento e le complicanze di un catetere venoso centrale (CVC) sono state entrambe monitorate come una stima delle complicanze correlate alla terapia. La data del posizionamento del CVC è stato annotato nel registro medico e registrato nelle CRF. Eventuali rimozioni o sostituzioni del CVC sono stati registrati, così come episodi di trombosi, infezioni, o disfunzioni correlate al CVC.



- ***Ipertensione***

I pazienti sono stati controllati attraverso frequenti misurazioni della pressione sanguigna per monitorare eventuali sviluppo o peggioramento dell'ipertensione. Le misurazioni della pressione arteriosa sono state effettuate dopo che il paziente aveva assunto una posizione di riposo per un tempo maggiore o uguale a 5 minuti. Nel caso in cui alla prima lettura venisse rilevata una pressione sistolica  $\geq 140$  mmHg e/o una pressione diastolica  $\geq 90$  mmHg sono state garantite ripetute misurazioni di verifica.

- Ipertensione di grado 1: asintomatico, transitorio (< 24 ore) aumento di > 20 mmHg (diastolico) o di > 150/100 mmHg se precedentemente entro la norma. Non è indicato alcun intervento.

- Ipertensione di grado 2: ricorrente o persistente (> 24 h) o sintomatico aumento di > 20 mmHg (diastolico) o di > 150/100 mmHg se precedentemente entro la norma. Può essere indicata una monoterapia antiipertensiva. Una volta controllato a < 150/100 mmHg, i pazienti possono continuare la terapia con bevacizumab.

- Ipertensione di grado 3: richiede più di un antiipertensivo o una terapia più intensa della precedente. Bevacizumab dovrebbe essere sospeso per ipertensione persistente o sintomatica e dovrebbe essere interrotto permanentemente se l'ipertensione non è controllata.

- Ipertensione di grado 4: Il verificarsi di una ipertensione di grado 4 dovrebbe comportare l'interruzione permanente di bevacizumab.

Ad ogni visita sono state registrate tutte le dosi dei farmaci antiipertensivi.

- ***Proteinuria***

Tutti i pazienti hanno eseguito uno stick urinario o una raccolta delle urine nelle 24 ore con misurazione della proteinuria, entro le 48 ore precedenti all'inizio della prima dose di bevacizumab e quindi ogni 8

settimane. Aggiustamenti della somministrazione di bevacizumab a seguito di una proteinuria  $\geq 2$  g/24h sono stati eseguiti in accordo con le seguenti linee guida:

- $< 2$  + (stick): non è richiesta una valutazione aggiuntiva;
- $\geq 2$  + (stick): raccolta delle urine nelle 24 ore per determinare le proteine totali entro 3 giorni dalla dose successiva in programma; in tal caso sono stati distinti:

§ proteinuria nelle 24 h  $\leq 2$  g: somministrato bevacizumab come programmato;

§ proteinuria nelle 24 h  $> 2$  g: il trattamento con bevacizumab è stato sospeso fino alla successiva raccolta delle proteine totali nelle 24 ore.

In tal caso è stata ripetuta la raccolta delle urine nelle 24 ore :

se è stata ottenuta una proteinuria  $< 2$  g bevacizumab è stato somministrato come programmato; le proteine nelle 24 ore sono state monitorate precedentemente ad ogni somministrazione di bevacizumab fino a quando il valore non è diminuito a  $\leq 1$  g/24h;

se è stata ottenuta una proteinuria  $> 2$  g la dose di bevacizumab è stata sospesa fino a che le proteine nelle 24 h non fossero scese a  $\leq 2$  g, e le proteine nelle 24 h sono state monitorate precedentemente ad ogni somministrazione di bevacizumab fino a che il valore non è diminuito a  $\leq 1$  g/24h.

Nel caso di sindrome nefrosica (grado 4, CTCAEv3.0) è stato interrotto il trattamento con bevacizumab.

- ***Trombosi/ Embolismo***

Nel caso di insorgenza di fenomeni trombotici o embolici di grado 3 o 4 sono stati raccomandati i seguenti provvedimenti:

- nei pazienti che hanno sviluppato eventi tromboembolici arteriosi bevacizumab è stato interrotto permanentemente.

- nel caso di trombosi venosa di grado 3 o 4 è stato rinviato il trattamento per 2 settimane.

Dopo l'inizio di una terapia anticoagulante a dosi terapeutiche bevacizumab è stato ripristinato non appena sono stati soddisfatti i seguenti criteri:

- il paziente ha mantenuto stabile la dose di anticoagulante e, se ha eseguito terapia con warfarin, deve avere avuto un INR compreso nell'intervallo target (solitamente compreso tra 2 e 3) prima di reiniziare il trattamento farmacologico sperimentale;
- Il paziente non deve aver avuto episodi emorragici di grado 3 o 4 sin dall'entrata nello studio;
- Non devono essere presenti evidenze che la neoplasia infilti o sia in prossimità dei vasi sanguigni principali in qualsiasi precedente valutazione della malattia.

Nel caso si fosse verificato un episodio di trombosi sintomatica di grado 4 il trattamento sperimentale sarebbe stato interrotto.

## **2.9 MEDICAZIONI CONCOMITANTI**

- ***Sindrome colinergica acuta***

Poteva essere usata atropina solfato, a discrezione dello sperimentatore, come profilassi secondaria o terapia di una sindrome colinergica rapidamente insorta indotta da irinotecano. La somministrazione come profilassi secondaria o terapia di 0,25-1 mg di atropina endovenosa o sottocutanea poteva essere considerata (fintantoché non controindicata clinicamente) nei pazienti che riferivano rinite, aumentata salivazione, miosi, lacrimazione, diaforesi, arrossamenti, crampi addominali, o diarrea (avvenuti durante o poco dopo l'infusione di irinotecano).

- ***Profilassi antiemetica***

- Giorno 1 prima della chemioterapia: 5HT antagonista e.v. + desametasone 20 mg e.v.
- Giorno 2 nella mattina: 5HT antagonista orale/e.v. + desametasone 8 mg e.v.
- Giorno 2 nella mattina: 5HT antagonista orale/e.v. + desametasone 8 mg e.v.
- Giorno 3 nella mattina: 5HT antagonista orale/e.v. + desametasone 8 mg e.v.
- Giorni 1-14: metoclopramide orale o e.v. se necessario.

- ***Trattamento della diarrea***

Irinotecano può indurre forme di diarrea sia acuta che tardiva che sembra essere mediato da differenti meccanismi. La diarrea acuta (che si presenta durante o poco dopo l'infusione di irinotecano) è di natura colinergica. Solitamente è transitoria e solo raramente è severa. Può essere accompagnata da sintomi di rinite, aumentata salivazione, miosi, lacrimazione, diaforesi, arrossamenti, e iperperistalsi intestinale che causa crampi addominali. La diarrea acuta e gli altri sintomi colinergici possono essere migliorati dalla somministrazione di atropina (0,25 mg SC). L'atropina non dovrebbe essere data in misura profilattica durante il ciclo 1. La diarrea tardiva (generalmente insorta più di 24 ore dopo la somministrazione di irinotecano) può essere prolungata, può portare a disidratazione e disequilibrio elettrolitico, e può mettere in pericolo la vita del paziente. I pazienti e chi assiste i pazienti sono stati attentamente informati sui possibili effetti tossici come diarrea e crampi addominali. Ogni paziente è stato preparato ad avere prontamente disponibile loperamide e a iniziare un trattamento per la diarrea tardiva al primo episodio di feci poco formate o povere o ai primissimi segni di movimenti

intestinale più frequenti di quanto normalmente aspettato dal paziente. Il paziente è stato inoltre istruito ad avvertire lo sperimentatore alla comparsa di diarrea o crampi addominali. Se la diarrea persisteva per oltre 24 ore nonostante loperamide, il paziente era stato preparato ad assumere un antibiotico fluorochinolonico e a ri-contattare lo sperimentatore. In tali casi, i pazienti sarebbero stati ospedalizzati per supporto parenterale e loperamide sarebbe stato sostituito da un altro trattamento anti-diarroico (es. octetide). Ai pazienti è stato suggerito di premunirsi con un rifornimento di antibiotico fluorochinolonico disponibile a casa. Il dosaggio raccomandato per loperamide precedentemente usato negli studi clinici con irinotecano consiste in : 4 mg al primo attacco di diarrea e quindi 2 mg ogni 2 ore finché il paziente non sia libero da diarrea per almeno 12 ore. Bisogna sottolineare che questo dosaggio eccede le comuni raccomandazioni di dosaggio per loperamide. Una premedicazione con loperamide non è raccomandata. Se insorge diarrea è di vitale importanza che siano intraprese tutte le misure per impedire la disidratazione e le alterazioni dell'equilibrio elettrolitico. L'uso di farmaci con proprietà lassative è stato proibito a causa di una possibile esacerbazione della diarrea. Ai pazienti è stato indicato di contattare lo sperimentatore per discutere l'uso di qualsiasi lassativo. I crampi addominali sono stati trattati così come la diarrea.

- **Stravaso**

Finora non sono state osservate reazioni da stravaso severe con CPT-11 e Oxaliplatino. Come raccomandazione generale, nel caso di stravaso dovrebbero essere osservate le seguenti indicazioni:

- interrompere l'infusione immediatamente;
- non rimuovere l'ago o la cannula;
- aspirare il più possibile il farmaco infiltrato nel sottocutaneo con lo

stesso ago;

- applicare ghiaccio sulla superficie per 15-20 minuti ogni 4 –6 ore per le prime 72 ore;
- sorvegliare attentamente l'area nei giorni successivi al fine di decidere se sia necessario qualsiasi ulteriore trattamento.

- ***Fattori di crescita emopoietici***

Fattori di crescita emopoietici (G-CSF) possono essere usati per trattare la neutropenia sintomatica ma non dovrebbero essere usati a scopo profilattico prima del primo ciclo. L'uso profilattico può essere considerato nel caso di:

- precedente neutropenia febbrile;
- precedente neutropenia di grado 4 per 5 giorni o più;
- più di due ritardi dovuti alla neutropenia.

## CAPITOLO 3

### RISULTATI

#### **3.1 CARATTERISTICHE DEI PAZIENTI**

Sono entrati a far parte dello studio un totale di 57 pazienti con carcinoma del colon-retto metastatico giudicato inizialmente non resecabile sulle metastasi, di cui 34 uomini e 23 donne (vedi tabella 3.1). L'età mediana è di 61 anni: il paziente più giovane ha 34 anni il più anziano 75 anni. Il performance status secondo i criteri ECOG è 0 in 39 pazienti (69%), 1 in 15 pazienti (26%), 2 in 3 pazienti (5%). La sede del tumore primitivo è il colon in 41 pazienti (72%) e il retto in 16 pazienti (28%). Il 29% dei pazienti non è stato sottoposto ad un intervento chirurgico di resezione del tumore primitivo al momento dell'entrata nello studio. Solo 5 dei pazienti (9%) aveva già iniziato precedentemente all'entrata nello studio una chemioterapia adiuvante. Trentatré pazienti (58%) presentano una metastasi singola, i restanti 24 pazienti (42%) presentano metastasi multiple. Il fegato è l'unica sede di metastasi in 30 pazienti (53%). Nella tabella 3.2 sono elencate le sedi di metastasi: come si può notare, 51 pazienti (90%) presentano metastasi epatiche e 12 pazienti (21%) presentano metastasi polmonari.

**Tabella 3.1 . Caratteristiche dei pazienti.**

	<b>FREQUENZA</b>	<b>PERCENTUALE (%)</b>
Pazienti	<b>57</b>	<b>-</b>
Età media (range)	<b>61 (34-75)</b>	<b>-</b>
Sesso (M/F)	<b>34/23</b>	<b>60/40</b>
ECOG PS 0/1/2	<b>39/15/3</b>	<b>69/26/5</b>
Localizzazione primitiva (colon / retto)	<b>41/16</b>	<b>72/28</b>
Chirurgia per tumore primitivo (si/no)	<b>44/13</b>	<b>77/23</b>
CT adiuvante precedente (si/no)	<b>5/52</b>	<b>9/91</b>
Numero delle metastasi (singole/multiple)	<b>33/24</b>	<b>58/42</b>
Metastasi esclusivamente epatiche	<b>30</b>	<b>53</b>

**Tabella 3.2 . Frequenze delle localizzazioni metastatiche.**

<b>SEDE DI METASTASI</b>	<b>FREQUENZA</b>	<b>PERCENTUALE (%)</b>
<b>Fegato</b>	<b>51</b>	<b>90</b>
<b>Polmone</b>	<b>12</b>	<b>21</b>
<b>Linfonodi</b>	<b>18</b>	<b>32</b>
<b>Peritoneo</b>	<b>6</b>	<b>11</b>
<b>Tessuti molli</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
<b>Pelvi</b>	<b>2</b>	<b>4</b>
<b>Scheletro</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
<b>Surrene</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
<b>Milza</b>	<b>1</b>	<b>2</b>



La tabella 3.3 illustra la frequenza del numero di sedi metastatiche: in 33 pazienti è presente una sola sede metastatica di cui 30 con localizzazione epatica e 3 con localizzazione polmonare, nei restanti 24 pazienti è presente una metastatizzazione multiorgano; tra questi ultimi, 14 pazienti presentano 2 sedi metastatiche, 9 pazienti 3 sedi metastatiche, 1 paziente 6 sedi metastatiche.

**Tabella 3.3 . Frequenza del numero di sedi metastatiche.**

<b>N° METASTASI</b>	<b>FREQUENZA</b>	<b>PERCENTUALE(%)</b>
<b>1</b>	<b>33</b>	<b>58</b>
<b>2</b>	<b>14</b>	<b>25</b>
<b>3</b>	<b>9</b>	<b>16</b>
<b>6</b>	<b>1</b>	<b>2</b>

### **3.2 SOMMINISTRAZIONE DEL TRATTAMENTO**

Ai 57 pazienti che sono entrati nello studio, sono stati somministrati 974 cicli totali di trattamento di cui 636 cicli con FOLFOXIRI più Bevacizumab (mediana 12, range 4-16); a 34 pazienti sono stati somministrati 247 cicli di terapia di mantenimento con Bevacizumab (in 1 paziente con Bevacizumab più 5FU/LV) (mediana 5, range 1-28) e a 11 pazienti 91 cicli post resezione chirurgica (mediana 9, range 3-16) (vedi tabella 3.4).

**Tabella 3.4 . Cicli somministrati**

<b>cicli</b>	<b>N°</b>	<b>mediana</b>	<b>range</b>
<b>induzione</b>	<b>636</b>	<b>12</b>	<b>4-16</b>
<b>mantenimento</b>	<b>247</b>	<b>5</b>	<b>1-28</b>
<b>post- resezione</b>	<b>91</b>	<b>9</b>	<b>3-16</b>

N°= numero di cicli

### **3.3 TOSSICITÀ**

Tutti i pazienti sono stati valutati per la tossicità. Durante il periodo di induzione nel quale sono stati somministrati FOLFOXIRI più bevacizumab si osservano come effetti tossici più comuni nausea, vomito, diarrea, stomatite, anemia, trombocitopenia, neurotossicità periferica, ipertensione. Comunque, gli effetti tossici di grado 3-4 si sono verificati piuttosto raramente, fatta eccezione per la neutropenia non febbrile. In particolare, come possiamo osservare nella tabella 3.5a il 6% dei cicli è associato a neutropenia di grado 4, mentre solo il 2% è associato a nausea di grado 3, l'1% a diarrea di grado 3, l'1% ad ipertensione di grado 3, lo 1% con astenia, lo 1% con trombosi venosa. Valutando invece la tossicità massima per paziente (tutti i 57 pazienti arruolati nello studio sono valutabili) la neutropenia non febbrile di grado G4 si presenta nel 25% dei casi, la diarrea di grado G3 nel 14%, l'ipertensione di grado G4 nel 2% dei pazienti e di grado G3 nel 9% (vedi tabella 3.5b). Abbiamo inoltre osservato: neutropenia febbrile di grado G4 nel 2% dei pazienti, stomatite di grado G4 nel 2% e un episodio anginoso indotto dal 5-FU: l'episodio anginoso infatti non si è più presentato alla cessazione della somministrazione di 5-FU; il paziente ha proseguito il trattamento ricevendo oxaliplatino, irinotecano e bevacizumab. Proteinuria e perforazione intestinale sono due effetti tossici solitamente associate alla somministrazione di bevacizumab: nel presente studio in nessun paziente si è verificata perforazione intestinale (né nel periodo di induzione, né nei periodi di mantenimento o post-chirurgia); una proteinuria asintomatica e di lieve entità si è presentata frequentemente nei pazienti, senza avere una incidenza rilevante sul profilo di tossicità. Nel periodo di induzione, segnaliamo che è stato necessario eseguire la terapia con riduzioni di dose in 92 cicli per irinotecano, 32 cicli per oxaliplatino, 110 cicli per 5-fluorouracile;

bevacizumab non è mai stato ridotto. Si sono verificati 106 rinvii dei cicli previsti di cui 78 sono stati effettuati a causa della tossicità indotta dal trattamento, 3 per l'insorgenza di eventi avversi gravi (SAE, Serious Adverse Event), 4 perché il paziente è stato ricoverato, 18 a causa di motivazioni indipendenti dal trattamento (motivi personali del paziente, motivi logistici, altro). Le dose-intensities mediane di irinotecano, oxaliplatino, 5-fluorouracile e bevacizumab tra i 57 pazienti trattati sono state rispettivamente 69,4 (range 26-124) mg/m<sup>2</sup>settimana, 35,8 (range 13,2-57,0) mg/m<sup>2</sup>settimana, 1348,6 (range 248,6-1618,7) mg/m<sup>2</sup>settimana e 2,3(range 66-242) mg/Kg settimana. Quindi la dose-intensity effettiva è stata l'84,1% della dose intensity programmata per irinotecano, 84,2% per oxaliplatino, 84,3% per 5-fluorouracile e 70% per bevacizumab. Osserviamo perciò che il trattamento è stato somministrato in tempi e dosi adeguati.

**Tabella 3.5a. Tossicità per ciclo nel periodo di induzione (636 cicli)**

TOSSICITA'	G1 (%)	G2(%)	G3(%)	G4(%)
Nausea	20	9	2	0
Vomito	10	4	0	0
Diarrea	17	7	1	0
Stomatite	17	4	0	0
Neutropenia	15	12	6	3
Neutropenia febbrile	2	1	0	0
Trombocitopenia	20	0	0	0
Anemia	50	13	0	0
Neurotossicità	32	9	0	0
Ipertensione	3	2	1	0
Trombosi venosa	0	0	1	0
Sanguinamento	5	0	0	0
Astenia	20	8	1	0
Sindrome colinergica	1	2	0	0

Al fine di mantenere la schedula bisettimanale prevista, G-CSF è stato usato in 110 cicli (17% dei cicli), nei casi in cui si era verificata una delle seguenti condizioni: precedente neutropenia febbrile; precedente neutropenia di grado 4 per 5 giorni o più; più di due ritardi dovuti alla neutropenia. Inoltre, sono state usate eritropoietina (in 21 cicli) e Atropina solfato (in 126 cicli) come profilassi secondaria o terapia di una sindrome colinergica rapidamente insorta indotta da irinotecano.

Sottolineiamo che non si è verificata nessuna morte tossica.

**Tabella 3.5a. Massima tossicità per paziente nel periodo di induzione (57 pazienti)**

TOSSICITÀ	G1 (%)	G2 (%)	G3 (%)	G4 (%)
Nausea	40	33	4	0
Vomito	28	28	0	0
Diarrea	33	23	14	0
Stomatite	40	25	2	2
Neutropenia	19	19	25	25
Neutropenia Febbrile	0	0	0	2
Trombocitopenia	46	2	2	0
Anemia	44	40	4	0
Neurotossicità	32	42	2	0
Ipertensione	14	11	9	2
Trombosi delle vene profonde	0	2	5	0
Ischemia cardiaca	0	0	2	0
Sanguinamento	30	2	0	0
Astenia	30	2	0	0
Sindrome colinergica	4	16	0	0

In trentaquattro pazienti, al termine dei 12 cicli previsti è stato somministrato Bevacizumab  $\pm$  5-FU/LV a scopo di mantenimento. Nella somministrazione di Bevacizumab  $\pm$  5-FU/LV di mantenimento gli effetti tossici osservati sono stati ancor meno incidenti. Valutando la tossicità per ciclo nel periodo di mantenimento, osserviamo come le tossicità di grado 3 quali neurotossicità e ipertensione si sono presentate rispettivamente nel 2% e 3% dei cicli.(tabella 3.6a)

**Tabella 3.6a. Tossicità per ciclo nel mantenimento (247 cicli)**

<b>TOSSICITA'</b>	<b>G1 (%)</b>	<b>G2(%)</b>	<b>G3(%)</b>	<b>G4(%)</b>
Nausea	2	0	0	0
Vomito	1	1	0	0
Diarrea	0	0	0	0
Stomatite	2	0	0	0
Neutropenia	2	2	0	0
Neutropenia febbrile	0	0	0	0
Piastrinopenia	15	0	0	0
Anemia	20	3	0	0
Neurotossicità	23	20	2	0
Ipertensione	0	0	3	0
Trombosi venosa	0	0	0	0
Trombosi arteriosa	0	0	0	0
Sanguinamento	3	0	0	0
Astenia	7	0	0	0

Come possiamo notare nella tabella 3.6b, tra i 34 pazienti sono stati rilevati effetti tossici di grado 1-2 quali: nausea, vomito, stomatite, trombocitopenia, anemia, neurotossicità, sanguinamento. Inoltre sono stati riscontrati: ipertensione di grado 3 nel 15% dei pazienti, neurotossicità di grado G3 nel 6% dei pazienti, neutropenia di grado 3 nel 3% dei pazienti, e anemia di grado 3 nel 3% dei pazienti.

Abbiamo osservato un episodio di infarto miocardio acuto (3% dei pazienti) durante la somministrazione di bevacizumab (in questo caso è

stata sospesa la somministrazione di bevacizumab).

Non si è verificata alcuna morte tossica.

Nel periodo di mantenimento si sono verificati 16 rinvii dei cicli di cui 6 sono stati effettuati a causa della tossicità indotta dal trattamento, 10 a causa di motivazioni indipendenti dal trattamento (motivi personali del paziente, motivi logistici, altro).

**Tabella 3.6b. Massima tossicità per paziente nel mantenimento (34 pazienti)**

TOSSICITÀ	G1 (%)	G2 (%)	G3 (%)	G4 (%)
Nausea	9	3	0	0
Vomito	6	3	0	0
Diarrea	0	0	0	0
Stomatite	15	3	0	0
Neutropenia	12	3	3	0
Neutropenia Febbrile	0	0	0	0
Trombocitopenia	29	0	0	0
Anemia	38	12	3	0
Neurotossicità	9	44	6	0
Ipertensione	0	0	15	0
Trombosi delle vene profonde	0	0	0	0
Ischemia cardiaca	0	0	0	3
Sanguinamento	12	0	0	0
Astenia	24	3	0	0

Durante i 91 cicli di terapia eseguiti a seguito dell'intervento chirurgico di resezione delle metastasi e/o del tumore primitivo, si sono verificati i seguenti effetti tossici di grado 3: neurotossicità nel 9% dei cicli, la diarrea nel 3%, ipertensione nel 2%, e neutropenia nell'1% (tabella 3,7a).

**Tabella 3.7a. Tossicità per ciclo dopo resezione chirurgica (91 cicli)**

TOSSICITA'	G1 (%)	G2(%)	G3(%)	G4(%)
Nausea	10	3	0	0
Vomito	4	2	0	0
Diarrea	7	4	3	0
Stomatite	2	1	0	0
Neutropenia	7	2	1	0
Neutropenia febbrile	1	0	0	0
Piastrinopenia	13	0	0	0
Anemia	11	0	0	0
Neurotossicità	8	10	9	0
Ipertensione	3	5	2	0
Trombosi venosa	0	0	0	0
Trombosi arteriosa	0	0	0	0
Sanguinamento	4	0	0	0
Astenia	3	0	0	0

Tra tali 11 pazienti durante la chemioterapia eseguita successivamente all'intervento chirurgico sono stati osservati i seguenti effetti tossici di grado 1-2: astenia in circa il 56% dei pazienti, nausea, neurotossicità, e anemia ciascuna nel 45% dei pazienti, e con frequenza minore: vomito, diarrea, stomatite, neutropenia, piastrinopenia, sanguinamento e ipertensione. Inoltre sono stati riscontrati: diarrea di grado G3 nel 9%, neurotossicità di grado G3 nel 18%, ipertensione di grado G3 nel 18% e neutropenia di grado G4 nel 9% (vedi tabella 3.7b).

Non si è verificata alcuna morte tossica.

**Tabella 3.7b . Massima tossicità per paziente nella terapia post-chirurgica (11 pazienti)**

TOSSICITÀ	G1(%)	G2(%)	G3(%)	G4(%)
Nausea	27	18	0	0
Vomito	18	18	0	0
Diarrea	18	18	9	0
Stomatite	18	9	0	0
Neutropenia	27	9	0	9
Neutropenia Febbrile	9	0	0	0
Piastrinopenia	9	0	0	0
Anemia	45	0	0	0
Neurotossicità	9	36	18	0
Ipertensione	9	18	18	0
Trombosi venosa	0	0	0	0
Trombosi arteriosa	0	0	0	0
Sanguinamento	27	0	0	0
Astenia	36	18	0	0

### **3.4 RISPOSTE OBIETTIVE**

Tutti i pazienti arruolati nello studio sono stati valutati per la risposta al trattamento. Sul totale di 57 pazienti abbiamo osservato una risposta completa nel 12% dei pazienti (7 pazienti) e una risposta parziale nel 65% dei pazienti (37 pazienti). Il tasso di risposta globale (dato dalla somma di risposta completa e risposta parziale) è del 77% (44 pazienti).

Nel 23% dei pazienti (13 pazienti) la malattia si è mantenuta stabile; in nessun paziente si è avuta progressione tumorale.

Il tasso di controllo della malattia (dato dalla somma dei pazienti in



risposta completa, risposta parziale e con malattia stabile) è perciò del 100%.

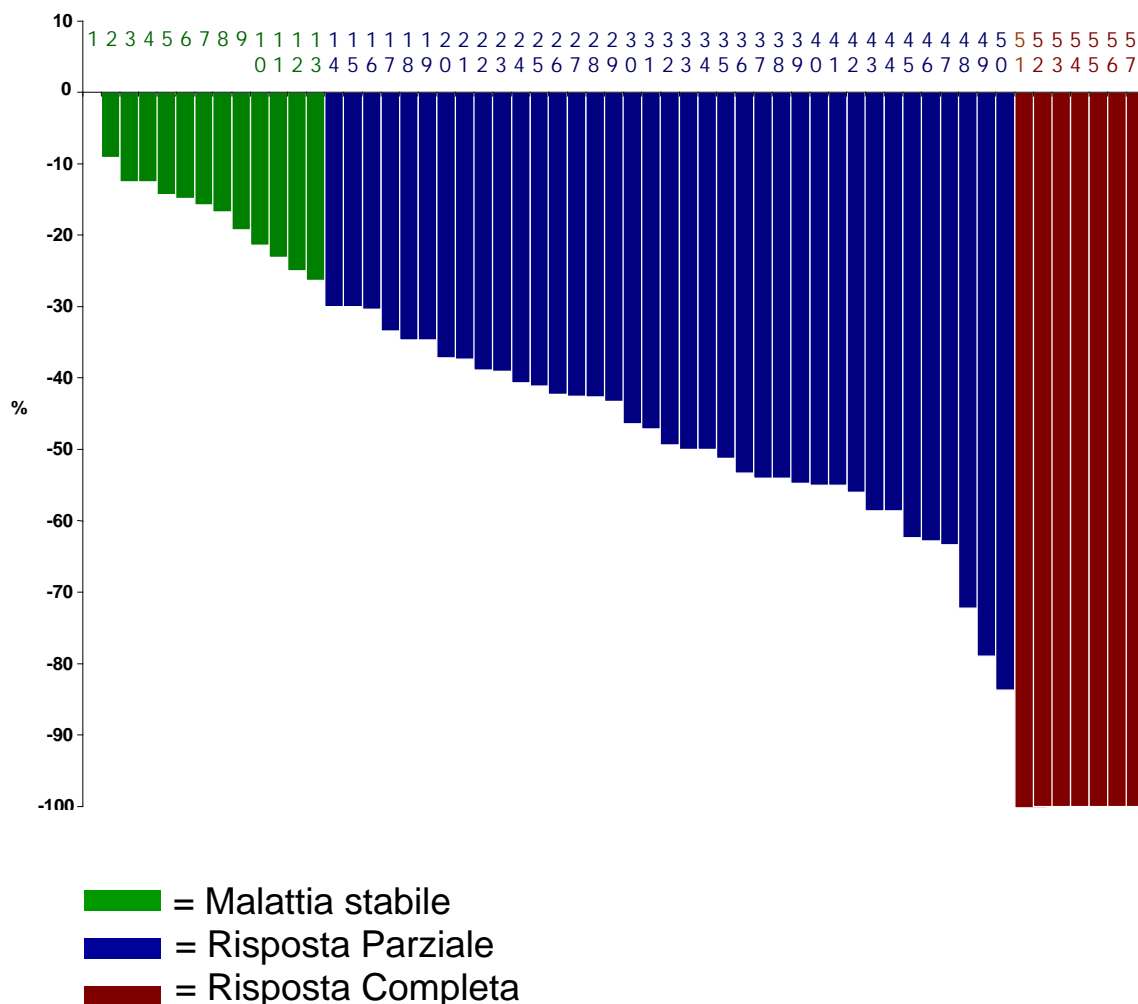
**Tabella 3.8 Risposta al trattamento.** N= valore assoluto; %=valore percentuale

	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Totale dei pazienti valutati</b>	<b>57</b>	<b>100%</b>
<b>Risposta completa (RC)</b>	<b>7</b>	<b>12%</b>
<b>Risposta parziale (RP)</b>	<b>37</b>	<b>65%</b>
<b>Tasso di risposta globale (RC + RP)</b>	<b>44</b>	<b>77%</b>
<b>Malattia stabile (SD)</b>	<b>13</b>	<b>23%</b>
<b>Malattia in progressione (PD)</b>	<b>0</b>	<b>0%</b>
<b>Tasso di controllo della malattia (RC+RP+SD)</b>	<b>57</b>	<b>100%</b>

Anche se si tratta di uno studio di fase II si può comunque notare una attività molto promettente rispetto al solo FOLFOXIRI. Infatti il tasso di risposta con FOLFOXIRI non ha mai superato il 70% (invece, come abbiamo visto, con l'aggiunta di bevacizumab abbiamo ottenuto un tasso di risposta del 77%) e si è sempre osservato un 10% circa di pazienti che progredivano durante il trattamento. Invece con l'aggiunta di bevacizumab nessun paziente è progredito durante il trattamento (il tasso di controllo della malattia è risultato del 100%). Come si può

osservare nel Waterfall Plot (figura 3.1), nel 98% dei pazienti è stata ottenuta una riduzione del volume tumorale: in un solo paziente (2%) il volume tumorale si è mantenuto stabile.

**Figura 3.1. Entità della regressione tumorale indotta dalla chemioterapia: Waterfall plot**



### **3.5 RESEZIONE DELLE METASTASI**

Sono state eseguite resezioni chirurgiche secondarie delle metastasi:

- con scopo curativo in 18 pazienti (32%) (in un ulteriore paziente è programmato un intervento chirurgico).
- tra questi, con una resezione radicale (R0) di tutte le metastasi in 14 pazienti (25%).

Tra i 30 pazienti con malattia metastatica localizzata soltanto al fegato, sono state eseguite 12 resezioni R0 (tasso di resezione: 40%), e in 3 (25%) di questi pazienti è stata osservata una risposta patologica completa (pCR), cioè la scomparsa di tutte le cellule tumorali all'esame immunohistochimico.

In tre pazienti oltre alle metastasi, è stato resecato anche il tumore primitivo.

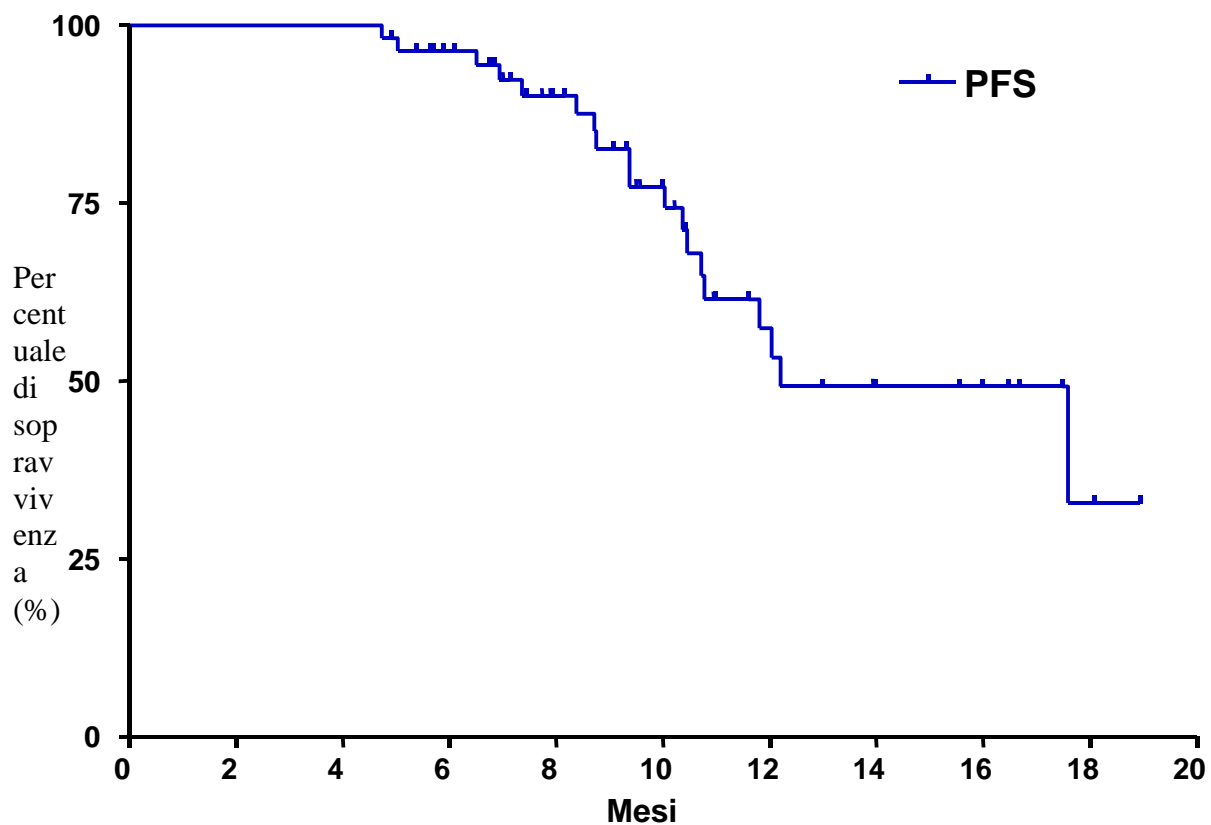
Dopo l'intervento chirurgico non sono state osservate né morbidità rilevanti né morte. Solo in un paziente si è verificata una fistola biliare che ha reso necessario un reintervento chirurgico.

### **3.6 SOPRAVVIVENZA GLOBALE E SOPRAVVIVENZA LIBERA DA PROGRESSIONE**

I dati su sopravvivenza globale e sopravvivenza libera da progressione sono ancora immaturi ma promettenti:

- il follow-up mediano è 15,3 mesi
- 28 (49%) pazienti sono andati in progressione
- la sopravvivenza libera da progressione mediana è di 13,1 mesi
- la sopravvivenza libera da progressione a 10 mesi è 72%
- 12 (21%) pazienti sono morti
- la sopravvivenza globale mediana non è stata raggiunta.

Nella figura 3.1 è riportata la curva di sopravvivenza libera da progressione ottenuta con il metodo di Kaplan-Meier



**Figura 3.1 . Curva di sopravvivenza libera da progressione ottenuta col metodo di Kaplan-Meier.** In ascissa è riportato il tempo espresso in mesi; in ordinata la percentuale di sopravvivenza. PFS= sopravvivenza libera da progressione

## **CAPITOLO 4**

### **DISCUSSIONE**

Il trattamento del carcinoma del colon retto si è molto evoluto negli ultimi anni grazie al miglioramento dell'efficacia della chemioterapia, all'introduzione di nuovi farmaci a bersaglio molecolare e al maggior impiego della chirurgia sulle metastasi.

Vari studi e metanalisi suggeriscono che quando si utilizza la sola chemioterapia il miglior outcome dei pazienti si osserva nel caso in cui si riesca ad esporli a tutti e tre i principali chemioterapici (5-fluorouracile, irinotecano, oxaliplatino).

In una strategia di terapia sequenziale in circa il 25-50% dei pazienti non è possibile procedere ad una terapia di seconda linea a causa dello scadimento del performance status e della funzionalità epatica. L'adozione di un regime polichemioterapico di prima linea contenente 5-FU, CPT-11, L-OHP (regime FOLFOXIRI) permette di esporre il 100% dei pazienti a tutti e tre i farmaci.

Lo studio condotto dal Gruppo Oncologico del Nord Ovest che ha confrontato i regimi FOLFOXIRI e FOLFIRI ha verificato la superiorità del regime FOLFOXIRI, che ha dimostrato un'attività molto elevata e una maggior efficacia rispetto al regime FOLFIRI.

Sono stati condotti vari studi volti a valutare la combinazione di bevacizumab con regimi chemioterapici utilizzati nel carcinoma del colon-retto metastatico: la combinazione di bevacizumab col regime IFL è risultata fattibile e rispetto al solo IFL nel trattamento di prima linea ha aumentato il tasso di risposta, il tempo alla progressione, e la sopravvivenza; la combinazione di bevacizumab con il regime FOLFOX-4 rispetto al solo FOLFOX-4 nel trattamento di seconda linea aumenta il

tasso di risposte, il tempo alla progressione, la sopravvivenza; come dimostrato da uno studio condotto su 1743 pazienti la combinazione di bevacizumab con vari regimi chemioterapici di prima linea è risultata fattibile e sicura.

Visti i risultati positivi ottenuti con bevacizumab in combinazione a doppiette di chemioterapici, è stato condotto lo studio presente per valutare la fattibilità, l'attività e preliminarmente l'efficacia della combinazione di bevacizumab alla tripletta FOLFOXIRI.

Sono stati arruolati 57 pazienti con carcinoma coloretale metastatico giudicati non suscettibili di resezione chirurgica delle metastasi. I pazienti arruolati nello studio non sono particolarmente selezionati, infatti circa nel 30% dei casi era presente un deterioramento del performance status, nel 23% dei casi non era stata eseguita la resezione del tumore primitivo, il 9% era stato precedentemente sottoposto a chemioterapia adiuvante, la localizzazione metastatica era singola nel 58%, multipla nel 42% e solo il 30% dei pazienti aveva metastasi esclusivamente a livello epatico.

Il regime si è dimostrato fattibile e con tossicità maneggevoli infatti non si è verificata una incidenza superiore a quella attesa delle principali tossicità di grado 3-4: sono state osservate tossicità di grado 3 quali diarrea (14%), ipertensione (9%), neutropenia non febbrile (25%) e tossicità di grado 4 quali neutropenia non febbrile (25%) e ipertensione (2%). Inoltre si sono verificati: neutropenia febbrile di grado 4 nel 2% dei pazienti, stomatite di grado 4 nel 2% e un episodio anginoso nel 2% dei pazienti indotto dal 5-FU. Dal confronto con l'incidenza delle tossicità associate alla somministrazione di FOLFOXIRI riportate in letteratura possiamo notare come l'aggiunta di bevacizumab non comporti una sostanziale modificazione del profilo di tossicità: le tossicità di grado 3-4 maggiormente incidenti sono in entrambi i casi la diarrea e la neutropenia non febbrile, peraltro verificatisi in una bassa percentuale di pazienti. La

neurotossicità nel presente studio si è presentata con una frequenza (grado 3 nel 2% nel periodo di induzione) inferiore a quanto atteso in base alla letteratura su FOLFOXIRI. Da notare come l'aggiunta di bevacizumab comporti l'insorgenza di tossicità quale l'ipertensione non frequentemente associato al solo regime FOLFOXIRI: l'incidenza e la gravità di tale tossicità sono peraltro modiche e non inficiano la buona tollerabilità del regime. Altre tossicità tipicamente associate alla somministrazione di bevacizumab quali tromboembolia e sanguinamento hanno mostrato scarsa incidenza nel periodo di induzione: la tromboembolia si è presentata con grado 3 nel 5%, di grado 2 nel 2%, sanguinamento solo di grado 1-2 (32%). L'associazione di bevacizumab, quindi, non comporta la comparsa di effetti tossici aggiuntivi non tollerabili.

A sottolineare ulteriormente la buona tollerabilità del trattamento, notiamo che non si sono verificate morti tossiche.

In termini di attività, l'associazione di FOLFOXIRI e bevacizumab si è dimostrata altamente valida determinando un tasso di risposta particolarmente elevato: abbiamo osservato una risposta completa in 7 pazienti (12%) e una risposta parziale in 37 pazienti (65%); il tasso di risposta globale è quindi del 77% (44 pazienti).

In 13 pazienti la malattia si è mantenuta stabile; dato di notevole interesse è che in nessun paziente si è avuta progressione tumorale e quindi il tasso di controllo della malattia è del 100%.

Il regime ha mostrato attività significativa e superiore ai dati riportati dagli studi precedentemente condotti sulla terapia del carcinoma del colon-retto. Infatti se confrontiamo i risultati del presente studio con i dati relativi all'attività di FOLFOXIRI semplificato dimostrati negli studi condotti dal gruppo G.O.N.O. notiamo che il tasso di risposta globale ottenuto (del 77%) è maggiore rispetto al tasso riscontrato con

FOLFOXIRI e che con FOLFOXIRI si era raggiunto un tasso di controllo della malattia di circa il 90%, inferiore al valore ottenuto con l'associazione di bevacizumab (che è del 100%).

Inoltre grazie a questa maggiore attività, nonostante i paziente arruolati fossero chiaramente considerati non resecabili all'inizio (il 42% presentava infatti un coinvolgimento multiorgano), è stato ottenuto un significativo incremento nel tasso di resezioni chirurgiche radicali sulle metastasi. Ad oggi è stato possibile eseguire in 18 pazienti (32%) resezioni delle metastasi con intento curativo, di cui 14 eseguite con resezione radicale (R0) delle metastasi. Da notare che in 3 di tali pazienti è stata osservata una risposta patologica completa (pCR), cioè la scomparsa di tutte le cellule tumorali all'esame immunohistochimico: questo dato sottolinea la particolare attività del regime.

Infine, l'efficacia preliminare è risultata promettente: si è infatti ottenuta una sopravvivenza libera da progressione mediana di 13,1 mesi, ed una sopravvivenza libera da progressione a 10 mesi del 72%, quindi superiore al valore atteso (70%) per considerare promettente la combinazione di FOLFOXIRI e bevacizumab.

Per cui questo regime si è rivelato particolarmente promettente: FOLFOXIRI e bevacizumab potrebbero determinare un reale vantaggio se inseriti in una strategia di terapia neoadiuvante in pazienti inizialmente non resecabili. Possiamo quindi considerare questo regime meritevole di una valutazione in uno studio di fase III.

Si può concludere che la combinazione di un regime chemioterapico intensificato con un biologico permette di incrementare il controllo di malattia sia in termini di risposte e quindi di potenziale resecabilità delle metastasi, sia in termini di prolungamento del tempo alla progressione con il trattamento di mantenimento. Inoltre confrontando questi dati con ciò che emerge dalla letteratura vediamo come con questo trattamento si



ha un controllo di malattia in tutti i pazienti e ciò ha un valore sia in termini di potenziale curabilità che in termini di palliazione. Infine la sopravvivenza libera da progressione mediana superiore ai 13 mesi è un dato che ad oggi non è stato ottenuto con nessuno dei regimi utilizzati.

La fattibilità e la tossicità dell'associazione di FOLFOXIRI a bevacizumab sono maneggevoli, richiedono però una gestione attenta da eseguire in centri con esperienza maturata sull'utilizzo di questi farmaci.

E' stato da poco attivato lo studio TRIBE (studio randomizzato multicentrico italiano) che confronta FOLFIRI + Bevacizumab con FOLFOXIRI + bevacizumab.

## BIBLIOGRAFIA

1. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 1999; 49:33.
2. Jemal A et al. Cancer Statistics 2005. *CA Cancer J Clin* 2005 55: 10-30.
3. Boyle P, Ferlay J. Cancer incidence and mortality in Europe, 2004. *Ann Oncol.* 2005 Mar; 16(3): 481-8.Epub 2005 Feb 17.
4. McMichael AJ, Giles GG. Colorectal cancer. *Cancer Surv* 1994; 1920: 77-98.
5. Chu KC, Tarone RE, Chow WH, Hankey BF, Gloecklerries LA. Temporal patterns in colorectal cancer incidence, survival and mortality from 1950 through 1990. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86:997-1006.
6. Labianca R, Beretta GD, Cionini L, et al. Carcinoma del colon-retto. Da Zaniboni et al. *I tumori del tratto gastroenterico*, Masson ed. Milano 2003.
7. Nelson RL, Dollear T, Freels S, Persky V. The relation of age, race, and gender to the subsite location of colorectal carcinoma. *Cancer* 1997; 80:193.
8. Obrand DI, Gordon PH. Continued change in the distribution of colorectal carcinoma. *Br J Surg* 1998; 85:246.
9. Fleshner P, Slater G, Aufses AH Jr. Age and sex distribution of patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1989; 32:107.
10. Kempainen M, Raiha I, Sourander L. A marked increase in the incidence of colorectal cancer over two decades in southwest Finland. *J Clin Epidemiol* 1997; 50:147.
11. Thorn M, Bergstrom R, Kressner U, et al. Trends in colorectal cancer incidence in Sweden 1959–93 by gender, localization, time period, and birth cohort. *Cancer Causes Control* 1998;9:145.
12. Ji BT, Devesa SS, Chow WH, Jin F, Gao YT. Colorectal cancer incidence trends by subsite in urban Shanghai, 1972–1994. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998;7:661.
13. Thibodeau SN, French AJ, Cunningham JM, et al. Microsatellite instability in colorectal cancer: different mutator phenotypes and the principal involvement of hMLH1. *Cancer Res* 1998;58:1713.
14. Fink D, Nebel S, Norris PS, et al. The effect of different chemotherapeutic agents on the enrichment of DNA mismatch repair-deficient tumour cells. *Br J Cancer* 1998;77:703.
15. Karnes WE Jr, Shattuck-Brandt R, Burgart LJ, et al. Reduced COX-2 protein in colorectal cancer with defective mismatch repair. *Cancer Res* 1998;58:5473.
16. Staszewski J, Haenszel W. Cancer mortality among the Polish-born in the United States. *J Natl Cancer Inst* 1965;35:291.
17. Whittemore AS, Wu-Williams AH, Lee M, et al. Diet, physical activity, and colorectal cancer among Chinese in North America and China. *J Natl Cancer Inst* 1990;82:915.

18. McMichael AJ, Giles GG. Cancer in migrants to Australia: extending the descriptive epidemiological data. *Cancer Res* 1988;48:751.
19. Kune S, Kune GA, Watson L. The Melbourne colorectal cancer study: incidence findings by age, sex, site, migrants and religion. *Int J Epidemiol* 1986;15:483.
20. Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, et al. A prospective study of family history and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med* 1994;331:1669.
21. Rozen P, Fireman Z, Figer A, et al. Family history of colorectal cancer as a marker of potential malignancy within a screening program. *Cancer* 1987;60:248.
22. Pariente A, Milan C, Lafon J, Faivre J. Colonoscopic screening in first-degree relatives of patients with 'sporadic' colorectal cancer: a case-control study. The Association Nationale des Gastroenterologues des Hopitaux and Registre Bourguignon des Cancers Digestifs (INSERM CRI 9505). *Gastroenterology* 1998;115:7.
23. Guillem JG, Forde KA, Treat MR, et al. Colonoscopic screening for neoplasms in asymptomatic first-degree relatives of colon cancer patients. A controlled, prospective study. *Dis Colon Rectum* 1992;35:523.
24. Winawer SJ, Zauber AG, Gerdes H, et al. Risk of colorectal cancer in the families of patients with adenomatous polyps. National Polyp Study Workgroup. *N Engl J Med* 1996;334:82.
25. Ahsan H, Neugut AI, Garbowski GC, et al. Family history of colorectal adenomatous polyps and increased risk for colorectal cancer. *Ann Intern Med* 1998;128:900.
26. Kerber RA, Slattery ML, Potter JD, Caan BJ, Edwards SL. Risk of colon cancer associated with a family history of cancer or colorectal polyps: the diet, activity, and reproduction in colon cancer study. *Int J Cancer* 1998;78:157.
27. Harris MJ, Coggan M, Langton L, Wilson SR, Board PG. Polymorphism of the Pi class glutathione S-transferase in normal populations and cancer patients. *Pharmacogenetics* 1998;8:27.
28. Chen J, Giovannucci E, Kelsey K, et al. A methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and the risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1996;56:4862.
29. Ma J, Stampfer MJ, Giovannucci E, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, dietary interactions, and risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1997;57:1098.
30. Chen J, Stampfer MJ, Hough HL, et al. A prospective study of N-acetyltransferase genotype, red meat intake, and risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1998;58:3307.
31. Vineis P, McMichael A. Interplay between heterocyclic amines in cooked meat and metabolic phenotype in the etiology of colon cancer. *Cancer Causes Control* 1996;7:479.

32. Potter JD. Colorectal cancer: molecules and populations. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:916.
33. Giovannucci E, et al. Tobacco, colorectal cancer and adenomas: a review of the incidence. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:1717-1730.
34. Giovannucci E, Egan KM, Hunter DJ, et al. Aspirin and the risk of colorectal cancer in women. *N Engl J Med* 1995;333:609.
35. Giovannucci E, et al. Physical activity, obesity and risk of colorectal adenoma in women (United States). *Cancer Causes Control* 1996;7:253-263.
36. Giovannucci E et al. Physical activity, obesity and risk of colon cancer and adenoma in men. *Ann Intern Med* 1995; 122:327-334.
37. Howe GR. Meeting presentation. Advances in the biology and therapy of colorectal cancer: the thirty-seventh annual clinical conference and twenty-sixth annual special pathology program. November 4-7 1993.
38. Slattery M, Potter J, Caan B, et al. Energy balance and colon cancer – beyond physical activity. *Cancer Res* 1997;57:75-80.
39. Martinez ME, Marshall JR. Colorectal cancer: environmental and lifestyle issues. Da Kelsen et al. *Gastrointestinal oncology, principles and practice* Philadelphia 2002;665-683.
40. Willet WC et al. Total energy intake: implications for epidemiologic analyses. *Am J Epidemiol* 1986; 124:17-27.
41. Augustsson K, Skog K, Jagerstad M, et al. Dietary heterocyclic amines and cancer of the colon, rectum, bladder and kidney. *Lancet* 1999;353:703-707
42. Stemmerman GN et al. Dietary fat and the risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1984;44:4633-4637.
43. Golbhom RA et al. A prospective cohort study on the relation between meat consumption and the risk of colon cancer. *Cancer Res* 1994;54:718-723.
44. Willett WC, Stampfer MJ, Colditz GA, Rosner BA, Speizer FE. Relation of meat, fat, and fiber intake to the risk of colon cancer in a prospective study among women. *N Engl J Med* 1990;323:1664.
45. Probst-Hensch NM, Sinha R, Longnecker MP, et al. Meat preparation and colorectal adenomas in a large sigmoidoscopy-based case-control study in California (United States). *Cancer Causes Control* 1997;8:175.
46. Burnstein MJ. Dietary factors related to colorectal neoplasms. *Surg Clin North Am* 1993;73:13.
47. Caderni G, Palli D, Lancioni L, et al. Dietary determinants of colorectal proliferation in the normal mucosa of subjects with previous colon adenomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999;8:219.

48. Steinmetz KA, Potter JD. A review of vegetables, fruit and cancer. *Epidemiology. Cancer causes control* 1991;2:325-357.
49. Trock B, Lanza E, Greenwald P. Dietary fiber, vegetables, and colon cancer: critical review and meta-analyses of the epidemiologic evidence. *J Natl Cancer Inst* 1990;82:650.
50. Howe GR, Benito E, Castelleto R, et al. Dietary intake of fiber and decreased risk of cancers of the colon and rectum: evidence from the combined analysis of 13 case-control studies. *J Natl Cancer Inst* 1992;84:1887
51. Wargovich MJ. New dietary anticarcinogens and prevention of gastrointestinal cancer. *Dis Colon Rectum* 1988;31:72.
52. Branda RF: Folic acid deficiency. In Craighead JM (ed.): *Pathology of Environmental and Occupational Disease*. St Louis, Mosby, 1996, pag.170.
53. Bostick RM, Fosdick L, Wood JR, et al. Calcium and colorectal epithelial cell proliferation in sporadic adenoma patients: a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:1307.
54. Wilmink AB. Overview of the epidemiology of colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1997;40:483.
55. Karmali RA. Prostaglandin and cancer. *Cancer J Clin*. 1983; 33:322-332.
56. Jaffe BM et al. Immunochemical measurement of prostaglandin or prostaglandin-like activity from normal and neoplastic cultured tissue. *Surg Forum* 1971; 22: 90-92.
57. Laasko M et al. Cancer mortality in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1986; 13:522-526.
58. Giovannucci E, Rimm EB, Stampfer MJ, et al. Aspirin use and the risk for colorectal cancer and adenoma in male health professionals. *Ann Intern Med* 1994;121:241.
59. Thun MJ, Namboodiri MM, Heath CW Jr. Aspirin use and reduced risk of fatal colon cancer. *N Engl J Med* 1991;325:1593.
60. Rosenberg L, Louik C, Shapiro S. Nonsteroidal antiinflammatory drug use and reduced risk of large bowel carcinoma. *Cancer* 1998;82:2326.
61. Smalley W, Ray WA, Daugherty J, Griffin MR. Use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and incidence of colorectal cancer: a population-based study. *Arch Intern Med* 1999;159:161.
62. Paganini-Hill A. Estrogen replacement therapy and colorectal cancer risk in elderly women. *Disease of the Colon and Rectum* 1999; 42: 1300-1305.
63. Kikendall JW, Bowen PE, Burgess MB, et al. Cigarettes and alcohol as independent risk factors for colonic adenomas. *Gastroenterology* 1989;97:660.
64. Seitz HK, Simanowski UA, Garzon FT, et al. Possible role of acetaldehyde in ethanol-related rectal cocarcinogenesis in the rat. *Gastroenterology* 1990;98:406

65. Rosenberg L, Werler MM, Palmer JR, et al. The risks of cancers of the colon and rectum in relation to coffee consumption. *Am J Epidemiol* 1989;130:895.
66. Hartman TJ, Tangrea JA, Pietinen P, et al. Tea and coffee consumption and risk of colon and rectal cancer in middle-aged Finnish men. *Nutr Cancer* 1998;31:41.
67. Peifer M: Beta-catenin as oncogene: the smoking gun. *Science* 1997; 275: 1752.
68. Spirio L, Olschwang S, Groden J, et al. Alleles of the APC gene: an attenuated form of familial polyposis. *Cell* 1993;75:951.
69. Chung DC, Rustgi AK. The hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: genetics and clinical implications. *Ann Intern Med* 2003;138:560.
70. Marra G, Boland CR. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer: the syndrome, the genes, and historical perspectives. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:1114.
71. Linch HT, Smyrk TC, Watson P, Lanspa SJ, Lynch JF, Lynch PM, Cavalieri J, Boland RC. Genetics, natural history, tumor spectrum, and pathology of hereditary nonpolyposis colorectal cancer: an updated review. *Gastroenterol* 1993; 104: 1535-1549.
72. Cotran S, Kumar V, Collins T. *Robbins, Le basi patologiche delle malattie*, 6<sup>a</sup> ed. Piccin editore, 2000, cap 18; pag. 971-979.
73. Vincent T. De Vita, et al. *CANCER: Principles and Practice of Oncology*, 7<sup>a</sup> ed., 2005; cap. 29, sez. 8.
74. Bonadonna G, Robustelli della Cuna G, Valagussa P. *Medicina Oncologica*, 7<sup>a</sup> ed. Masson editore, 2003.
75. Brown SR, Bishop DT. Genetics of colorectal cancer. Da McArdle et al. *Colorectal Cancer Oxford* 2000;71-86.
76. Bianco AR. *Manuale di Oncologia Clinica*. 3<sup>a</sup> ed. McGraw-Hill 2003, cap.9 pag. 141-147.
77. Rostom A, Dube C et al. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs and Cyclooxygenase-2 Inhibitors for Primary Prevention of Colorectal Cancer: A Systematic Review Prepared for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2007 Mar 6; 146 (5): 376-89.
78. National Cancer Institute. Conquering colorectal cancer: a blueprint for future. *Report of the Colorectal Cancer Progress Review Group*, July 17,2001.
79. Doran J, Hardcastle JD. Bleeding patterns in colorectal cancer: the effect of aspirin and implications for faecal occult blood testing. *Br J Surg* 1982;69:711-713.
80. Mandel JS, Bond JH, Church TR, et al. Reducing mortality from colorectal cancer by screening for faecal occult blood. *N Engl J Med* 1993;328:1365-1371.
81. Kronborg O, Fenger C, Olsen J, et al. Randomised study of screening for colorectal cancer with faecal occult blood test. *Lancet* 1996;348:1467-1471.

82. Hardcastle JD, Chamberlain J, Robinson MHE, et al. Randomised controlled trial of faecal occult blood screening for colorectal cancer. *Lancet* 1996;348:1472-1477.
83. Levin B. Colorectal cancer: screening and surveillance. Da Kelsen et al. *Gastrointestinal oncology, principles and practice* 2002;703-715.
84. Lieberman DA, Weiss DG, Bond JH, et al. Use of colonoscopy to screen asymptomatic adults for colorectal cancer. Veterans Affairs Cooperative Study Group 380. *N Engl J Med* 2000;343:162.
85. Winawer S, Fletcher R, Rex D, et al. Colorectal cancer screening and surveillance: clinical guidelines and rationale—update based on new evidence. *Gastroenterology* 2003;124:544.
86. Rex DK, Johnson DA, Lieberman DA, Burt RW, Sonnenberg A. Colorectal cancer prevention 2000: screening recommendations of the American College of Gastroenterology. American College of Gastroenterology. *Am J Gastroenterol* 2000;95:868.
87. Pickhardt PJ, Choi JR, Hwang I, et al. Computed tomographic virtual colonoscopy to screen for colorectal neoplasia in asymptomatic adults. *N Engl J Med* 2003;349:2191.
88. Hara AK, Johnson CD, Reed JE, et al. Detection of colorectal polyps by computed tomographic colography: feasibility of a novel technique. *Gastroenterology* 1996;110:284.
89. Hara AK, Johnson CD, Reed JE, et al. Detection of colorectal polyps with CT colography: initial assessment of sensitivity and specificity. *Radiology* 1997;205:59.
90. Ahlquist DA, Hara AK, Johnson CD. Computed tomographic colography and virtual colonoscopy. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 1997;7:439.
91. Dachman AH, Kuniyoshi JK, Boyle CM, et al. CT colonography with three-dimensional problem solving for detection of colonic polyps. *AJR Am J Roentgenol* 1998;171:989.
92. Fenlon HM, Nunes DP, Schroy PC 3rd, et al. A comparison of virtual and conventional colonoscopy for the detection of colorectal polyps. *N Engl J Med* 1999;341:1496.
93. Rex DK, Vining D, Kopecky KK. An initial experience with screening for colon polyps using spiral CT with and without CT colography (virtual colonoscopy). *Gastrointest Endosc* 1999;50:309.
94. Sonnenberg A, Delco F, Bauerfeind P. Is virtual colonoscopy a cost-effective option to screen for colorectal cancer? *Am J Gastroenterol* 1999;94:2268.
95. Johnson CD, Ahlquist DA. Computed tomography colonography (virtual colonoscopy): a new method for colorectal screening. *Gut* 1999;44:301.
96. Morrin MM, LaMont JT. Screening virtual colonoscopy—ready for prime time? *N Engl J Med* 2003;349:2261.
97. Midgley R, Kerr D. Colorectal cancer. *Lancet* 1999;353:391-399.

98. Fearon E, Cho K, Nigro J, et al. Identification of a chromosome 18q gene that is altered in colorectal cancers. *Science* 1990;247:49.
99. Mehlen P, Rabizadeh S, Snipas S, et al. The DCC gene product induces apoptosis by a mechanism requiring receptor proteolysis. *Nature* 1998;395:801.
100. Lanza G, Matteuzzi M, Gafa R, et al. Chromosome 18q allelic loss and prognosis in stage II and III colon cancer. *Int J Cancer* 1998;79:390.
101. Watanabe T, Wu TT, Catalano PJ, et al. Molecular predictors of survival after adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2001;344:1196.
102. Carethers JM, Chauhan DP, Fink D, et al. Mismatch repair proficiency and in vitro response to 5-fluorouracil. *Gastroenterology* 1999;117:123.
103. Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, et al. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2003;349:247.
104. Beart RW, Melton LJ, Maruta M, et al. Trends in right- and left-sided colon cancer. *Dis Colon Rectum* 1983;26:393-398.
105. Butcher D, Hassanein K, Dudgeon M, et al. Female gender is a major determinant of changing subsite distribution of colorectal cancer with age. *Cancer* 1985;56:714-716.
106. Lawrence W Jr, et al. The National Cancer Data Base report on gastric cancer. *Cancer* 1995; 75: 1734.
107. Abeloff M, Armitage J, Lichter A, Niederhuber J. *Clinical Oncology*, Churchill Livingstone, 1995.
108. Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, et al. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124:979.
109. Jass JR, Sobin LH. *Histological typing of intestinal tumors: World Health Organization*, 2<sup>nd</sup> edition. New York: Springer-Verlag, 1989
110. Messerini L, Palomba A, Zampi G. Primary signet-ring cell carcinoma of the colon and rectum. *Dis Colon Rectum* 1995;38:1189.
111. Smyrk CT. Colorectal cancer: pathology. Da Kelsen et al. *Gastrointestinal oncology, principles and practice* 2002;717-730.
112. Cotran S, Kumar V, Collins T. *Robbins, Le basi patologiche delle malattie*, 6<sup>a</sup> ed. Piccin editore, 2000, cap 8; pag. 304-306.
113. Bianco AR. *Manuale di Oncologia Clinica*. 3<sup>a</sup> ed. McGraw-Hill 2003, cap.3 pag. 31.
114. Chen Y, Liu ZY, Li RX, Guo Z. Structural studies of initial lymphatics adjacent to gastric and colonic malignant neoplasms. *Lymphology* 1999;32:70.
115. Hernanz F, Revuelta S, Redonodo C, et al. Colorectal adenocarcinoma: quality of the assesment of lymph node metastases. *Dis Colon Rectum* 1994;37:126.



116. Wong JH, Severino R, Honnebier MB, et al. Number of nodes examined and staging accuracy in colorectal carcinoma. *J Clin Oncol* 1999;17:2896.
117. Le Voyer TE, Sigurdson ER, Hanlon AL, et al. Colon cancer survival is associated with increasing number of lymph nodes analyzed. *J Clin Oncol* 2003; 15: 2912-19.
118. Ratto C, Sofo L, Ippoliti M, et al. Accurate lymph-node detection in colorectal specimens resected for cancer is of prognostic significance [Discussion]. *Dis Colon Rectum* 1999;42:143;154.
119. Joseph NE, Sigurdson ER, Hanlon AL, et al. Accuracy of determining nodal negativity in colorectal cancer on the basis of the number of nodes retrieved on resection. *Ann Surg Oncol* 2003;10:213.
120. Liefers GJ, Cleton-Jansen AM, van de Velde CJ, et al. Micrometastases and survival in stage II colorectal cancer. *N Engl J Med* 1998;339:223.
121. Jeffers MD, O'Dowd GM, Mulcahy H, et al. The prognostic significance of immunohistochemically detected lymph node micrometastases in colorectal carcinoma. *J Pathol* 1994;172:183.
122. Hermanek P, Hutter RV, Sobin LH, Wittekind C. International Union Against Cancer. Classification of isolated tumor cells and micrometastasis. *Cancer* 1999;86:2668.
123. Stein W, Farina A, Gaffney K, et al. Characteristics of colon cancer at time of presentation. *Fam Pract Res J* 1993;13:355.
124. Majumdar SR, Fletcher RH, Evans AT. How does colorectal cancer present? Symptoms, duration, and clues to location. *Am J Gastroenterol* 1999;94:3039.
125. Donohue J, Williams S, Cha S, et al. Perioperative blood transfusions do not affect disease recurrence of patients undergoing curative resection of colorectal carcinoma: a Mayo/North Central Cancer Treatment Group study. *J Clin Oncol* 1995;13:1671.
126. Kyriakos M: The President cancer, the Dukes classification, and confusion. *Arch Pathol Lab Med* 1985; 109: 1063.
127. Wolmark N, Fisher B, Wieand HS. The prognostic value of the modifications of the Dukes' C class of colorectal cancer. An analysis of the NSABP clinical trials. *Ann Surg* 1986;203:115.
128. American Joint Committee on Cancer. *Colon and rectum*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 2002:113.
129. International Union Against Cancer (UICC). *TNM, classification of malignant tumours*. 6<sup>th</sup> ed. 2002.
130. Greene F, Stewart A, Norton H. A new TNM staging strategy for node-positive (stage III) colon cancer: an analysis of 50,042 patients. *Ann Surg* 2002;236:416.
131. Griffin MR, Bergstralh EJ, Coffey RJ, et al. Predictors of survival after curative resection of carcinoma of the colon and rectum. *Cancer* 1987;60:2318.

132. Bognel C, Rekacewiz C, Mankarios H, et al. Prognostic value of neural invasion in rectal carcinoma: a multivariate analysis on 339 patients with curative resection. *Eur J Cancer* 1995;31A:894.
133. Gagliardi G, Stepniewska KA, Hershman MJ, et al. New grade-related prognostic variable for rectal cancer. *Br J Surg* 1995;82:599.
134. Sacconi Jotti G, Fontanesi M, Orsi N, et al. DNA content in human colon cancer and non neoplastic adjacent mucosa. *Int J Biol Markers* 1995;10:11.
135. Harrison LE, Guillem JG, Paty P, Cohen AM. Preoperative carcinoembryonic antigen predicts outcomes in node-negative colon cancer patients: a multivariate analysis of 572 patients. *J Am Coll Surg* 1997;185:55.
136. Allegra CJ, Paik S, Colangelo LH, et al. Prognostic value of thymidylate synthase, Ki-67, and p53 in patients with Dukes' B and C colon cancer: a National Cancer Institute-National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Collaborative Study. *J Clin Oncol* 2003;21:241-250.
137. Leichman CG, Lenz H-J, Danenberg K, et al. Quantitation of intratumoral thymidylate synthase expression predicted for disseminated colorectal cancer response and resistance to protracted infusion 5-fluorouracil and weekly leucovorin. *J Clin Oncol* 1997;15:3223.
138. Ahnen DJ, Feigl P, Quan G, et al. Ki-ras mutation and p53 overexpression predict the clinical behavior of colorectal cancer: a Southwest Oncology Group study. *Cancer Res* 1998;58:1149.
139. Cascinu S, Ligi M, Graziano F et al: S-phase fraction can predict event free survival in patients with pT2-T3N0M0 colorectal carcinoma: Implications for adjuvant chemotherapy. *Cancer* 1998; 83:1081-1085.
140. Dionigi R. *CHIRURGIA. Basi teoriche e Chirurgia generale*, 4<sup>a</sup> ed. Masson editore, 2006, cap.18, pag. 833-834.
141. Raab R, Meyer HJ. Surgery for rectal cancer. Da Bleiberg H, Rougier P, Wilke HJ *Management of colorectal cancer*, Martin Dunitz ed, London 1998.
142. Charnely RM, Morris DL, Dennison AR, et al. Detection of colorectal metastases using intraoperative ultrasonography. *Br J Surg* 1991;78:45.
143. Nagorney DM. Diagnosis of liver metastases in colorectal cancer. *World J Surg* 1991;15:557.
144. Paul MA, Blomjous JG, Cuesta MA, Meijer S. Prognostic value of negative intraoperative ultrasonography in primary colorectal cancer. *Br J Surg* 1996;83:1741.
145. Leen E, Angerson WJ, Wotherspoon H, et al. Comparison of the Doppler perfusion index and intraoperative ultrasonography in diagnosing colorectal liver metastases. *Ann Surg* 1994;220:663

146. Fazio VW, Tjandra JJ. Primary therapy of carcinoma of the large bowel. *World J Surg* 1991;15:568.
147. Sharma S, et al. Colon cancer: management of locoregional disease. Da Kelsen et al. *Gastrointestinal oncology, principles and practice* Philadelphia 2002;755-780.
148. Heald RJ, Ryall RDH, Husband E. The mesorectum in rectal cancer surgery: clue to pelvic recurrence. *Br J Surg* 1982;69:613-616.
149. Enker WE. Designing the optimal surgery for rectal carcinoma. *Cancer* 1996;78:1847-1850.
150. Gall FP, Tonak J, Altendorf A. Multivisceral resections in colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1987;30:337.
151. Ota DM. Laparoscopic resection for colon cancer: a favorable view. *Important Adv Oncol* 1996;227.
152. Marchesa P, Milsom JW, Hale JC, et al. Intraoperative laparoscopic liver ultrasonography for staging of colorectal cancer: initial experience. *Dis Colon Rectum* 1996;39:S73.
153. Foley EF, Kolecki RV, Schirmer BD. The accuracy of laparoscopic ultrasound in the detection of colorectal cancer liver metastases. *Am J Surg* 1998;176(3):262.
154. Schwenk W, Bohm B, Witt C, et al. Pulmonary function following laparoscopic or conventional colorectal resection: a randomized controlled evaluation. *Arch Surg* 1999;134:6.
155. Cost Group 1996. Early results of laparoscopic surgery for colorectal cancer: retrospective analysis of 372 patients treated by clinical outcomes of surgical therapy. *Dis Colon Rectum* 1996;39:S53.
156. Bokey EL, Moore JWE, Keating JP, et al. Laparoscopic resection of the colon and rectum for cancer. *Br J Surg* 1997;84:822.
157. Pietrabissa A, Moretto C, Carobbi A, Boggi U, Ghilli M, Mosca F. Hand-assisted laparoscopic low anterior resection: initial experience with a new procedure. *Surg Endosc* 2002;16(3):431-435.
158. Ockerling F, Reymond M, Schneider C, et al. Prospective multicenter study of the quality of oncologic resections in patients undergoing laparoscopic colorectal surgery for cancer. *Dis Colon Rectum* 1998;41:936.
159. Weeks JC, Nelson H, Gelber S, Sargent D, Schroeder G; Clinical Outcomes of Surgical Therapy (COST) Study Group. Short-term quality-of-life outcomes following laparoscopic-assisted colectomy vs open colectomy for colon cancer: a randomized trial. *JAMA* 2002;287(3):321-8.
160. Arnaud JP, Nordlinger B, Bosset JF, et al. Radical surgery and postoperative radiotherapy as combined treatment in rectal cancer. Final results of phase III study of

- the European Organization for Research and treatment of Cancer. *Br J Surg* 1997;84:352-357.
161. Baslev IB, et al. Postoperative radiotherapy in Dukes' B and C carcinoma of the rectum and rectosigmoid. Randomized multicenter study. *Cancer* 1986;58:22-28.
  162. Bentzen SL, Baslev IB, Pedersen M, et al. Time to loco-regional recurrence after resection of Dukes' B and C colorectal cancer with or without adjuvant postoperative radiotherapy. A multivariate regression analysis. *Br J Cancer* 1992;65:102-107.
  163. Fisher B, Wolmark N, Rockette H, et al. Postoperative adjuvant chemotherapy or radiation therapy for rectal cancer. Results from NSABP protocol R-01. *J Natl Cancer Inst* 1988;80:21-29.
  164. GITSG 7175. Prolongation of the disease-free interval in surgically treated rectal carcinoma. Gastrointestinal Tumor Study Group. *N Engl J Med* 1985;312:1465-1472.
  165. Medical Research Council Rectal Cancer Working Party. Randomized trial of surgery alone versus surgery followed by radiotherapy for mobile cancer of the rectum. *Lancet* 1996;348:1605-1610.
  166. Treurniet Donker AD, Van Putten WL, Wereldsma JC, et al. Postoperative radiation therapy for rectal cancer. An interim analysis of a prospective, randomized multicenter trial in The Netherlands. *Cancer* 1991;67:2042-2048.
  167. Lawrence TS, Maybaum J. Fluoropyrimidines as radiation sensitizers. *Sem Radiot Oncol* 1993;3:20-28.
  168. Tveit KM, Guldvog S, Hagen E, et al. Randomized controlled trial of postoperative radiotherapy and short-term time-scheduled 5-fluorouracil against surgery alone in the treatment of Dukes' B and C rectal cancer. *Br J Surg* 1997;84:1130-1135.
  169. Krook JE, Moertel CG, Gunderson LL, et al. Effective surgical adjuvant therapy for high risk rectal carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324:709-715.
  170. Wolmark N, Wieand HS, Hyams DM, et al. Randomized trial of postoperative adjuvant chemotherapy with or without radiotherapy for carcinoma of the rectum: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol R-02. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:388-396.
  171. O'Connell MJ, Martenson JA, Wieand HS, et al. Improving adjuvant therapy for rectal cancer by combining protracted-infusion fluorouracil with radiation therapy after curative surgery. *N Engl J Med* 1994;331:502-507.
  172. Tepper JE, O'Connell MJ, Petroni GR, et al. Adjuvant postoperative fluorouracil-modulated chemotherapy combined with pelvic radiation therapy for rectal cancer: initial results of intergroup 0114. *J Clin Oncol* 1997;15:2030-2039.

173. Smalley S, Benedetti J, Williamson S, et al. Intergroup 0144—phase III trial of 5-FU based chemotherapy regimens plus radiotherapy (X) in postoperative adjuvant rectal cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003;22:251.
174. Cedemark B, Johansson H, Rutqvist LE, Wilking N, et al. The Stockholm I trial of preoperative short term radiotherapy in operable rectal carcinoma. *Cancer* 1995;75:2269-2275.
175. Dahl O, Horn A, Morild I, et al. Low dose preoperative radiation postpones recurrences in operable rectal cancer. Results of a randomized multicenter trial in western Norway. *Cancer* 1990;66:2286-2294.
176. Gerard A, Buyse M, Nordlinger B, et al. Preoperative radiotherapy as adjuvant treatment in rectal cancer. Final results of a randomized study of the European Organization for Research and Treatment cancer (EORTC). *Ann Surg* 1988;208:606-614.
177. Goldberg PA, Nicholls RJ, Poretr NH, et al. Long-term results of a randomized trial of short-course low-dose adjuvant preoperative radiotherapy for rectal cancer. Reduction in local treatment failure. *Eur J Cancer* 1994;30A:1602-1606.
178. Marsh PJ, James RD, Schofield PF, et al. Adjuvant preoperative radiotherapy for locally advanced rectal carcinoma. Results of a prospective randomized trial. *Dis Colon Rectum* 1994;37:1205-1214.
179. Medical Research Council Rectal Cancer Working Party. Randomized trial of surgery alone versus radiotherapy followed by surgery for mobile cancer of the rectum. *Lancet* 1996;348:1610-1614.
180. Stockholm Rectal Cancer Study Group. Randomized study on preoperative radiotherapy in rectal carcinoma. *Ann Surg Oncol* 1996;3:423-430.
181. Swedish Rectal Cancer Trial. Improved survival with pre-operative radiotherapy in resectable rectal cancer. *N Engl J Med* 1997;336:980-987.
182. Jansson-Frykholm G, Glimelius B, Pahlman L. Preoperative or postoperative irradiation in adenocarcinoma of the rectum: final treatment results of a randomised trial and an evaluation of late secondary effects. *Dis Colon Rectum* 1993;36:564-572.
183. Sauer R, Becker H, Hohenberger W, et al. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. *N Engl J Med* 2004;351:1731–1740.
184. Abulafi AM, Williams NS. Local recurrence of colorectal cancer: the problems, the mechanisms, management and adjuvant treatment. *Br J Surg* 1994;81:7-17.
185. Higgins GA, Humphrey E, Juler G, et al. Adjuvant chemotherapy in the surgical treatment of large bowel cancer. *Cancer* 1976;38:1461–1467.
186. Higgins GA, Donaldson RC, Humphrey EW, et al. Adjuvant therapy for large bowel cancer: update of Veterans Administration Surgical Oncology Group Trials. *Surg Clin North Am* 1981;61:1311–1320.

187. Grossi CE, Wolff WI, Nealon TF Jr, et al. Intraluminal fluorouracil chemotherapy adjunct to surgical procedures for respectable carcinoma of the colon and rectum. *Surg Gynecol Obstet* 1977;145:549–554.
188. Grage TB, Moss SE. Adjuvant chemotherapy in cancer of the colon and rectum: demonstration of effectiveness of prolonged 5-FU chemotherapy in a prospectively controlled, randomized trial. *Surg Clin North Am* 1981;61:1321–1329.
189. Buyse M, Zeleniuch-Jacquotte A, Chalmers TC. Adjuvant therapy of colorectal cancer. Why we still don't know. *JAMA* 1988;259:3571–3578.
190. Bedikian AY, Valdivieso M, Mavligit GM, et al. Sequential chemoimmunotherapy of colorectal cancer: evaluation of methotrexate, Baker's Antifol and levamisole. *Cancer* 1978;42:2169–2176.
191. Buroker TR, Moertel CG, Fleming TR, et al. A controlled evaluation of recent approaches to biochemical modulation or enhancement of 5-fluorouracil therapy in colorectal carcinoma. *J Clin Oncol* 1985;3:1624–1631.
192. Windle R, Bell PR, Shaw D. Five year results of a randomized trial of adjuvant 5-fluorouracil and levamisole in colorectal cancer. *Br J Surg* 1987;74:569–572.
193. Laurie JA, Moertel CG, Fleming TR, et al. Surgical adjuvant therapy of large-bowel carcinoma: an evaluation of levamisole and the combination of levamisole and fluorouracil. The North Central Cancer Treatment Group and the Mayo Clinic. *J Clin Oncol* 1989;7:1447–1456.
194. Moertel CG, Fleming TR, Macdonald JS, et al. Levamisole and fluorouracil for adjuvant therapy of resected colon carcinoma. *N Engl J Med* 1990;322:352–358.
195. Moertel CG, Fleming TR, Macdonald JS, et al. Fluorouracil plus levamisole as effective adjuvant therapy after resection of stage III colon carcinoma: a final report. *Ann Intern Med* 1995;122:321–326.
196. NIH consensus conference. Adjuvant therapy for patients with colon and rectal cancer. *JAMA* 1990;264:1444–1450.
197. Poon MA, O'Connell MJ, Moertel CG. Biochemical modulation of 5-FU. Evidence of significant improvement of survival and quality of life in patients with advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 1989;7:1407-1418.
198. Zhang ZG, Harstrick A, Rustum YM. Modulation of fluoropyrimidines: role of dose and schedule of leucovorin administration. *Semin Oncol* 1992;19(Suppl 3):10–15.
199. Efficacy of adjuvant fluorouracil and folinic acid in colon cancer. International multicentre pooled analysis of colon cancer trials (IMPACT) investigators. *Lancet* 2000;345(8955):939.

200. O'Connell MJ, Mailliard J, Macdonald J, et al. An intergroup trial of intensive course 5-FU and low dose leucovorin as surgical adjuvant therapy for high risk colon cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1993;12:190
201. Wolmark N, Rockette H, Fisher B, et al. The benefit of leucovorin-modulated fluorouracil as postoperative adjuvant therapy for primary colon cancer: results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project protocol C-03. *J Clin Oncol* 1993;11:1879–1887.
202. Francini G, Petrioli R, Lorenzini L, et al. Folinic acid and 5-fluorouracil as adjuvant chemotherapy in colon cancer. *Gastroenterology* 1994;106:899–906.
203. O'Connell MJ, Mailliard JA, Kahn MJ, et al. Controlled trial of fluorouracil and low-dose leucovorin given for 6 months as postoperative adjuvant therapy for colon cancer. *J Clin Oncol* 1997;15:246–250.
204. Gill S, Loprinzi CL, Sargent DJ, et al. Pooled analysis of fluorouracil-based adjuvant therapy for stage II and III colon cancer: who benefits and by how much? *J Clin Oncol* 2004;22:1797–1806.
205. Wolmark N, Rockette H, Mamounas E, et al. Clinical trial to assess the relative efficacy of fluorouracil and leucovorin, fluorouracil and levamisole, and fluorouracil, leucovorin, and levamisole in patients with Dukes' B and C carcinoma of the colon: results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project C-04. *J Clin Oncol* 1999;17:3553–3559.
206. O'Connell MJ, Laurie JA, Kahn M, et al. Prospectively randomized trial of postoperative adjuvant chemotherapy in patients with high-risk colon cancer. *J Clin Oncol* 1998;16:295–300.
207. Haller DG. Fluorouracil, leucovorin, and levamisole adjuvant therapy for colon cancer: five years final report of INT-0089. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1998;17:256. Abstract 982.
208. Porschen R, Bermann A, Loffler T, et al. Fluorouracil plus leucovorin as effective adjuvant chemotherapy in curatively resected stage III colon cancer: results of the trial adjCCA-01. *J Clin Oncol* 2001;19:1787-1794.
209. Haller DG, Catalano PJ, Macdonald JS, et al. Phase III study of fluorouracil, leucovorin, and levamisole in high-risk stage II and III colon cancer: final report of Intergroup 0089. *J Clin Oncol* 2005;23:8671–8678.
210. Andre T, Colin P, Louvet C, et al. Semimonthly versus monthly regimen of fluorouracil and leucovorin administered for 24 or 36 weeks as adjuvant therapy in stage II and III colon cancer: results of a randomized trial. *J Clin Oncol* 2003;21:2896–2903.
211. Chau I, Norman AR, Cunningham D, et al. A randomised comparison between 6 months of bolus fluorouracil/leucovorin and 12 weeks of protracted venous infusion fluorouracil as adjuvant treatment in colorectal cancer. *Ann Oncol* 2005;16:549–557.

212. Poplin EA, Benedetti JK, Estes NC, et al. Phase III Southwest Oncology Group 9415/Intergroup 0153 randomized trial of fluorouracil, leucovorin, and levamisole versus fluorouracil continuous infusion and levamisole for adjuvant treatment of stage III and high-risk stage II colon cancer. *J Clin Oncol* 2005;23:1819–1825.
213. Saini A, Norman AR, Cunnigham D et al. Twelve weeks of protracted venous infusion of fluorouracil (5-FU) is as effective as 6 months of bolus 5-FU and folinic acid as adjuvant treatment in colorectal cancer. *Br J Cancer*, 2003 Jun 16; 88(12): 1859-65.
214. André T, Boni C, Mounedji-Boudiaf L, Navarro M, Tabernero J, Hickish T, Topham C, Zaninelli M, Clingan P, Bridgewater J, Tabah-Fish I, De Gramont A. Oxaliplatin, Fluorouracil, and Leucovorin as adjuvant Treatment for Colon Cancer (MOSAIC study). *N Engl J Med* 2004;350:2343-2351.
215. Jonker DJ, Maroun JA, Kocha W. Survival benefit of chemotherapy in metastatic colorectal cancer: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Br J Cancer* 2000;82(11):1789-1794.
216. Nordic Gastrointestinal Tumor Adjuvant Therapy Group. Expectancy or primary chemotherapy in patients with advanced asymptomatic colorectal cancer: a randomized trial. *J Clin Oncol* 1992;10(6):904-11.
217. Labianca R, Pessi A, Facendola G, Pirovano M, Luporini G. Modulated 5-FU regimens in advanced colorectal cancer: a critical review of comparative studies. *Eur J Cancer* 1996;32 a, suppl 5.
218. Petrelli N, Douglas HD, Herrera L. The modulation of fluorouracil with Leucovorin in metastatic colorectal carcinoma a prospective randomized phase III trial. *J Clin Oncol* 1989;7:1419-1426.
219. Nobile MT, Vidili MG, Sobrero A. 5-FU alone or combined with high dose folinic acid in advanced colorectal cancer patients: a randomized trial. *Proc Am Soc Clin Oncol*, 1988, 7.
220. Labianca R, Pancera G, Aitini E. Folinic acid + 5-FU vs. equidose 5-FU in advanced colorectal cancer: phase III study of GISCAD. *Ann Oncol* 1991;2:673-679
221. Erlichman C, Fine S, Wong A. A randomized trial of fluorouracil and folinic acid in patients with metastatic colorectal carcinoma. *J Clin Oncol* 1988;6:469-475.
222. Meta-analysis Group In Cancer. Efficacy of continuous infusion of fluorouracil compared with bolus administration in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 1998;16:301-308.
223. De Gramont A, Bosset JF, Milan C, et al. Randomised trial comparing monthly low-dose leucovorin and fluorouracil bolus with bimonthly high-dose leucovorin and fluorouracil bolus plus continuous infusion for advanced colorectal cancer: a French intergroup study. *J Clin Oncol* 1997;15:808-815.



224. Sobrero A, Labianca R, Zaniboni A, et al. Impact of second and third line FU-based chemotherapy on the survival of patients with advanced colorectal cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1999;18:238a.
225. Falcone A, Allegrini G, Antonuzzo A, et al. Infusions of fluorouracil and leucovorin: effects of the timing and semi-intermittency of drug-delivery. *Oncology* 1999;57:195-201.
226. Twelves C, Wong A, Nowacki MP, et al. Capecitabine as adjuvant treatment for stage III colon cancer. *N Engl J Med* 2005;352:2696–2704.
227. Reddy GK et al. Efficacy of adjuvant capecitabine compared with bolus 5-fluorouracil/leucovorin regimen in Dukes C colon cancer: results from the X-ACT trial. *Clin Colorectal Cancer*, 2004 Jul; 4(2): 87-8.
228. Twelves C. Capecitabine as first-line treatment in colorectal cancer: pooled data from two large, phase III trials. *Eur J Cancer* 2002;38(2):S15-S20.
229. Cassidy J, Twelves C, Van Cutsem E et al. First-line oral capecitabine therapy in metastatic colorectal cancer: a favorable safety profile compared with intravenous 5-fluorouracil/leucovorin. *Ann Oncol* 2002;13:566-575.
230. Cassidy J, Tabernero J, Twelves C, et al. XELOX (capecitabine plus oxaliplatin): active first-line therapy for patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22:2084-2091.
231. Scheithauer W, Komek G, Radere M, et al. Randomized multicenter phase II trial of two different schedules of capecitabine plus oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21:1307-1312.
232. Patt Y, Leibmann J, Diamandidis D, et al. Capecitabine plus irinotecan (Xeliri) in first-line metastatic colorectal cancer: update on a phase II trial. *Eur J Cancer* 2003; S93: abstract 272.
233. Tewes M, Schleucher n, Achterrath W, et al. Capecitabine and irinotecan as first-line chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer: results of an extended phase I study. *Ann Oncol* 2003; 14:1442-1448.
234. Bajetta E, Di Bartolomeo M, Mariani L, et al. Randomized multicenter phase II trial of two different schedules of irinotecan as first-line treatment in metastatic colorectal carcinoma. *Cancer* 2004; 100:279-287.
235. Borner M, Bernhard J, Dietrich D, et al. A randomized phase II trial of capecitabine and two different schedules of irinotecan in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: efficacy, quality-of-life and toxicity. *Ann Oncol* 2005; 16:282-288.
236. Rea D, Nortier J, Ten Bokkel Huinink W, et al. A phase I/II and pharmacokinetic study of irinotecan in combination with capecitabine as first-line therapy for advanced colorectal cancer. *Ann Oncol* 2005; 16:1123-1132.

237. Arkenau H, Schmoll H, Kubicka S, et al. Infusional 5-fluorouracil/folinic acid plus oxaliplatin (FUFOX) versus capecitabine plus oxaliplatin (CAPOX) as first-line treatment of metastatic colorectal cancer: results of the safety and efficacy analysis. *ASCO annual meeting*, 2005: abstract 3507.
238. Sastre J, Massuti B, Taberero J, et al. Preliminary results of a randomized phase III trial of the TTD group comparing capecitabine and oxaliplatin (CapeOx) vs. oxaliplatin and 5-fluorouracil in continuous infusion as first line treatment in advanced or metastatic colorectal cancer. *ASCO annual meeting*, 2005: abstract 3524.
239. Cassidy J et al. Randomized phase III study of capecitabine plus oxaliplatin compared with fluorouracil/folinic acid plus oxaliplatin as first line therapy for metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*.2008;Apr 20; 26 (12):2006-12.
240. Fuchs et al. Capecitabine and Irinotecan As First-Line Treatment of Advanced Colorectal Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, Vol 26, No 11 (April 10), 2008: pp. 1907-1908
241. ...NSABP-C06 J C O 2007.
242. Tyagi P, Grothey A. Commentary on a phase III trial of bevacizumab plus XELOX or FOLFOX 4 for first-line treatment of metastatic colorectal cancer: the NO16966 trial. *Clin Colorectal Cancer* 2006; 6 (4): 261-4.
243. Köhne C, De Greve J, Bokemeyer C, et al. Capecitabine plus irinotecan versus 5-FU/FA/irinotecan±celecoxib in first line treatment of metastatic colorectal cancer. Safety results of the prospective multicenter EORTC phase III study EORTC40015. *ASCO annual meeting*, 2005: abstract 3525.
244. Punt C, Douma J, Hoondeopp A, et al. Randomised study of sequential versus combination chemotherapy with capecitabine, irinotecan, and oxaliplatin in advanced colorectal cancer, an interim safety analysis. A Dutch Colorectal Cancer Group (DCCG) phase III study. *Eur J Cancer Suppl* 2005; 3: abstract 600.
245. Sulkes A, Benner SE, Canetta RM. Uracil-ftorafur: an oral fluoropyrimidine active in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 1998;16:3461–3475.
246. Carmichael J, Popiela T, Radstone D, Falk S, Borner M, Oza A, Skovsgaard T, Munier S, Martin C. Randomized comparative study of tegafur/uracil and oral leucovorin versus parenteral fluorouracil and leucovorin in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2002;20(17):3617-27.
247. Douillard JY, Hoff PM, Skillings JR, Eisenberg P, Davidson N, Harper P, Vincent MD, Lembersky BC, Thompson S, Maniero A, Benner SE. Multicenter phase III study of uracil/tegafur and oral leucovorin versus fluorouracil and leucovorin in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2002;20(17):3605-16.

248. Conti JA, Kemeny NE, Saltz LB. Irinotecan is an active agents in untreted patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 1996;14(3):709-715.
249. Rougier P, Bugat R. CPT-11 in the treatment of colorectal cancer: clinical efficacy and safety profile. *Semin Oncol* 1996;23(1 Suppl 3):42-50.
250. Rougier P, Van Custem E, Bajetta E, et al. Randomised trial of irinotecan versus fluorouracil by continuous infusion after fluorouracil failure in patients with metastatic colorectal cancer. *Lancet* 1998;352:1407-1412.
251. Cunningham D, Pyrhonen S, James RD, et al. Randomised trial of irinotecan plus supportive care versus supportive care alone after fluorouracil failure for patients with metastatic colorectal cancer. *Lancet* 1998;352:1413-1418.
252. Saltz LB, Cox JV, Blanke C, et al. Irinotecan plus fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2000;343:905-914.
253. Douillard JY, Cunningham D, Roth AD, et al. Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicentre randomised trial. *Lancet* 2000;355:1041-1047.
254. Raymond E, Chaney SG, Taama A, et al. Oxaliplatin: a review of preclinical and clinical studies. *Ann Oncol* 1998;9:1053-1071.
255. Rothenberg M, Oza A, Bigelow R, et al. Superiority of oxaliplatin and fluorouracil-leucovorin compared with either therapy alone in patients with progressive colorectal cancer after irinotecan and fluorouracil-leucovorin: interim results of a phase III trial. *J Clin Oncol* 2003; 21:2059-2069.
256. De Gramont A, Figer A, Seymour M, et al. Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2000;18:2938-2947
257. Giacchetti S, Perpoint B, Zidani R, et al. Phase III multicenter randomized trial of oxaliplatin added to chronomodulated fluorouracil-leucovorin as first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2000;181:136-147.
258. Zeghari-Squalli N, Raymond E, Cvitovic E, Goldwasser F. Cellular pharmacology of the combination of the DNA topoisomerase I inhibitor SN-38 and the diaminocyclohexane platinum derivative oxaliplatinum. *Clin Cancer Res* 1999;5:1189-1196.
259. Wasserman E, Cuvier C, Lokiec F, et al. Combination of oxaliplatin plus irinotecan in patients with gastrointestinal tumors: results of two independent phase I studies with pharmacokinetics. *J Clin Oncol* 1999;17:1751-1759.
260. Scheithauer W, Kornek GV, Raderer M, et al. Combined irinotecan and oxaliplatin plus granulocyte colony-stimulating factor in patients with advanced fluoropyrimidine/leucovorin-pretreated colorectal cancer. *J Clin Oncol* 1999;17:902-906.

261. Goldwasser F, Gross-Goupil M, Tigaud JM, et al. Dose-escalation of CPT-11 in combination with oxaliplatin using an every two weeks schedule: a phase I study in advanced gastrointestinal cancer patients. *Ann Oncol* 2000;11:1463-1470.
262. Kemeny N, Tong C, Di Lauro C, et al. Phase I/II trial of weekly oxaliplatin and irinotecan in previously treated patients with metastatic colorectal cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2001;20:133a.
263. Goldberg R. M., Morton R. F., Sargent D. J., et al. N9741: oxaliplatin or CPT-11 + 5-fluorouracil (5FU)/leucovorin or oxaliplatin + CPT-11 in advanced colorectal cancer. Updated efficacy and quality of life data from an intergroup study. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003 #1009.
264. Sobrero A, Kerr D, Glimelius B, et al. New directions in the treatment of colorectal cancer: a look to the future. *Eur J Cancer* 2000;36:559-566.
265. Water J, Cunningham D. The changing face of chemotherapy in colorectal cancer. *Br J Cancer* 2000;84:1-7.
266. Bismuth H, Adam R, Levi F, et al. Resection of nonresectable liver metastases from colorectal cancer after neoadjuvant chemotherapy. *Ann Surg* 1996;224:509-522.
267. Giacchetti S, Itzhaki M, Gruia G, et al. Long-term survival of patients with unresectable colorectal cancer liver metastases following infusional chemotherapy with 5-fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin and surgery. *Ann Oncol* 1999;10:663-669.
268. Buyse M, Thirion P, Carlson RW, et al. Relation between tumor response to first-line chemotherapy and survival in advanced colorectal cancer: a meta-analysis. *Lancet* 2000;356:373-378.
269. Dionigi R. *CHIRURGIA*. 3<sup>a</sup> ed. Masson editore, 2002, cap.11.13, pag. 1261-1263.
270. Masi G, Marcucci L, Loupakis F et al. First-line 5-fluorouracil/folinic acid, oxaliplatin and irinotecan (FOLFOXIRI) does not impair the feasibility and the activity of second line treatments in metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol*, 2006 Aug; 17 (8): 1249-54. Epub 2006 Jun 9.
271. Grothey A, Sargent D, Goldberg RM, Schmoll HJ. Survival of patients with advanced colorectal cancer improves with the availability of fluorouracil-leucovorin, irinotecan, and oxaliplatin in the course of treatment. *J Clin Oncol* 2004 Apr 1; 22(7): 1209-14.
272. Falcone A, Masi G, Allegrini G et al. Biweekly chemotherapy with oxaliplatin, irinotecan, infusional fluorouracil, and leucovorin: a pilot study in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2002 Oct 1; 20(19): 4006-14.
273. Masi G, Allegrini G, Cupini S, et al. First-line treatment of metastatic colorectal cancer with irinotecan, oxaliplatin and 5-fluorouracil/leucovorin (FOLFOXIRI): result of a phase II study with a simplified biweekly schedule. *Ann Oncol* 2004, 15; 1766-72.

274. Souglakos J, Mavroudis D, Kakolyris S et al. Triplet combination with irinotecan plus oxaliplatin plus continuous-infusion fluorouracil and leucovorin as first-line treatment in metastatic colorectal cancer: a multicenter phase II trial. *J Clin Oncol* 2002; 20: 2651–2657.
275. Ychou M, Conroy T, Seitz JF et al. An open phase I study assessing the feasibility of the triple combination: oxaliplatin plus irinotecan plus leucovorin/5-fluorouracil every 2 weeks in patients with advanced solid tumours. *Ann Oncol* 2003; 14: 481–489.
276. Calvo E, Cortes J, Rodriguez J et al. Irinotecan, oxaliplatin, and 5-fluorouracil/leucovorin combination chemotherapy in advanced colorectal carcinoma: a phase II study. *Clin Colorectal Cancer* 2002; 2: 104–110.
277. Garufi C, Bria E, Vanni B et al. A phase II study of irinotecan plus chronomodulated oxaliplatin, 5-fluorouracil and folinic acid in advanced colorectal cancer patients. *Br J Cancer* 2003; 89: 1870–1875.
278. Comella P, Casaretti R, De Rosa V et al. Oxaliplatin plus irinotecan and leucovorin-modulated 5-fluorouracil triplet regimen every other week: a dose-finding study in patients with advanced gastrointestinal malignancies. *Ann Oncol* 2002; 13: 1874–1881.
279. Goetz MP, Erlichman C, Windebank AJ et al. Phase I and pharmacokinetic study of two different schedules of oxaliplatin, irinotecan, fluorouracil, and leucovorin in patients with solid tumours. *J Clin Oncol* 2003; 21: 3761–3769.
280. Folprecht G, Grothey A, Alberts S, Raab HR, Kohne CH. Neoadjuvant treatment of unresectable colorectal liver metastases: correlation between tumour response and resection rates. *Ann Oncol* 2005;16(8):1311-9.
281. Masi G., Cupini S, Marcucci L et al. Treatment with 5-fluorouracil/folinic acid, oxaliplatin, and irinotecan enables surgical resection of metastases in patients with initially unresectable metastatic colorectal cancer. *Ann Surg Oncol*, 2006 Jan; 13(1): 58-65.Epub 2006 Jan 1.
282. Tournigand C, Andre T, Achille E, et al. FOLFIRI followed by FOLFOX6 or the reverse sequence in advanced colorectal cancer: a randomized GERCOR study. *J Clin Oncol* 2004; 22:229-237.
283. Adam R. Delvart V, Pascal G et al. Rescue surgery for unresectable colorectal liver metastases downstaged by chemotherapy: a model to predict long-term survival. *Ann Surg* 2004; 240: 644-658.
284. Jamison RL, Donohue JH, Nagorney DM et al. Hepatic resection for metastatic colorectal cancer results in cure for some patients. *Arch Surg* 1997;132: 505-510.
285. Figueras J, Valls C, Rafecas A, et al. Resection rate and effect of post-operative chemotherapy on survival after surgery for colorectal liver metastases. *Br J Surg* 2001; 88: 980-985.

286. Lorenz M, Muller HH, Schramm H, Gassel HJ, Rau HG, Ridwelski K, Hauss J, Stieger R, Jauch KW, Bechstein WO, Encke A. Randomized trial of surgery versus surgery followed by adjuvant hepatic arterial infusion with 5-fluorouracil and folinic acid for liver metastases of colorectal cancer. German Cooperative on Liver Metastases (Arbeitsgruppe Lebermetastasen) *Ann Surg* 1998;228(6):756-762.
287. Kemeny N, Huang Y, Cohen AM, Shi W, Conti JA, Brennan MF, Bertino JR, Turnbull AD, Sullivan D, Stockman J, Blumgart LH, Fong Y. Hepatic arterial infusion of chemotherapy after resection of hepatic metastases from colorectal cancer. *N Engl J Med* 1999;341:2039-2048.
288. Kemeny MM, Adak S, Gray B, Macdonald JS, Smith T, Lipsitz S, Sigurdson ER, O'Dwyer PJ, Benson AB. Combined-modality treatment for resectable metastatic colorectal carcinoma to the liver: surgical resection of hepatic metastases in combination with continuous infusion of chemotherapy. An intergroup study. *J Clin Oncol* 2002;20:1499-505.
289. Bowles BJ, Machi J, Limm WM, Severino R, Oishi AJ, Furumoto NL, Wong LL, Oishi RH. Safety and efficacy of radiofrequency thermal ablation in advanced liver tumors. *Arch Surg* 2001;136(8):864-9.
290. Wong SL, Edwards MJ, Chao C, Simpson D, McMasters KM. Radiofrequency ablation for unresectable hepatic tumors. *Am J Surg* 2001;182(6):552-7.
291. Seidenfeld J, Korn A, Aronson N. Radiofrequency ablation of unresectable liver metastases. *J Am Coll Surg* 2002;195(3):378-86.
292. Solbiati L, Livraghi T, Goldberg SN, Ierace T, Meloni F, Dellanoce M, Cova L, Halpern EF, Gazelle GS. Percutaneous radio-frequency ablation of hepatic metastases from colorectal cancer: long-term results in 117 patients. *Radiology* 2001;221(1):159-66.
293. Dionigi R. *CHIRURGIA. Basi teoriche e Chirurgia generale*, 4<sup>a</sup> ed. Masson editore, 2006, cap.11, pag. 645-646.
294. Poston GJ, Adam R, Alberts S et al. OncoSurge: a strategy for improving resectability with curative intent in metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 7125-7134.
295. Nordlinger B, Sorbe H, Poston GJ et al. EORTC intergroup trial 40983: Perioperative chemotherapy with FOLFOX4 and surgery vs surgery alone for resectable liver metastases from colorectal cancer: a randomised trial. *Lancet* 2008; 371:1007-1016
296. Pawlik TM, Schulick RD, Choti MA: Expanding criteria for resectability of colorectal liver metastases. *Oncologist* 13(1):51-64, 2008
297. <sup>1</sup>Elias D, Ouellet JF, Bellon N, et al: Extrahepatic disease does not contraindicate hepatectomy for colorectal liver metastases. *Br J Surg* 90(5):567-74, 2003
-

298. Saltz LB, Cox JV, Blanke C, et al. Irinotecan plus fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2000;343:905-914.
299. Douillard JY, Cunningham D, Roth AD, et al. Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicentre randomised trial. *Lancet* 2000;355:1041-1047.
300. De Gramont A, Figer A, Seymour M, et al. Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2000;18:2938-2947.
301. Giacchetti S, Perpoint B, Zidani R, et al. Phase III multicenter randomized trial of oxaliplatin added to chronomodulated fluorouracil-leucovorin as first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2000;181:136-147.
302. Adam R, Avisar E, Ariche A, Giacchetti S, Azoulay D, Castaing D, Kunstlinger F, Levi F, Bismuth F. Five-year survival following hepatic resection after neoadjuvant therapy for nonresectable colorectal. *Ann Surg Oncol* 2001;8(4):347-353.
303. Barone C, Nuzzo G, Cassano A, et al: Final analysis of colorectal cancer patients treated with irinotecan and 5-fluorouracil plus folinic acid neoadjuvant chemotherapy for unresectable liver metastases. *Br J Cancer* 97(8):1035-9, 2007
304. Leonard GD, Brenner B, Kemeny NE: Neoadjuvant chemotherapy before liver resection for patients with unresectable liver metastases from colorectal carcinoma. *J Clin Oncol* 20;23(9):2038-48, 2005
305. Benoist S, Brouquet A, Penna C, et al: Complete response of colorectal liver metastases after chemotherapy: does it mean cure? *J Clin Oncol* 24(24):3939-45, 2006
306. Wicherts DA, Haas RJ, Levi F, et al. Complete pathological response of colorectal liver metastases after neoadjuvant chemotherapy: myth or reality? *J Clin Oncol* 25:18S, 2007 (suppl; abstr 4063)
307. Zorzi D, Laurent A, Pawlik TM, et al: Chemotherapy-associated hepatotoxicity and surgery for colorectal liver metastases. *Br J Surg* 94(3):274-86, 2007
308. Vauthey JN, Pawlik TM, Ribero D, et al: Chemotherapy regimen predicts steatohepatitis and an increase in 90-day mortality after surgery for hepatic colorectal metastases. *J Clin Oncol* 1;24(13):2065-72, 2006
309. Aloia T, Sebagh M, Plasse M, et al: Liver histology and surgical outcomes after preoperative chemotherapy with fluorouracil plus oxaliplatin in colorectal cancer liver metastases. *J Clin Oncol* 24(31):4983-90, 2006
-

310. Karoui M, Penna C, Amin-Hashem M, et al: Influence of preoperative chemotherapy on the risk of major hepatectomy for colorectal liver metastases. *Ann Surg* 243(1):1-7, 2006
311. Kooby DA, Fong Y, Suriawinata A, et al: Impact of steatosis on perioperative outcome following hepatic resection. *J Gastrointest Surg* 7(8):1034-44, 2003
312. Fong Y, Fortner J, Sun RL, et al: Clinical score for predicting recurrence after hepatic resection for metastatic colorectal cancer: analysis of 1001 consecutive cases. *Ann Surg* 230(3):309-18, 1999
313. Tomlinson JS, Jarnagin WR, DeMatteo RP, et al: Actual 10-year survival after resection of colorectal liver metastases defines cure. *J Clin Oncol* 25(29):4575-80, 2007
314. Saltz L, Clarke S, Diaz-Rubio E, et al: Bevacizumab (Bev) in combination with XELOX or FOLFOX4: Updated efficacy results from XELOX-1/ NO16966, a randomized phase III trial in first-line metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 25:18S, 2007 (suppl; abstr 4028)
315. Van Cutsem E, Nowacki M, Lang I, et al: Randomized phase III study of irinotecan and 5-FU/FA with or without cetuximab in the first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer (mCRC): The CRYSTAL trial. *J Clin Oncol* 25:18S, 2007 (suppl; abstr 4000)
316. Masi G, Loupakis F, Baldi G, et al: First-line irinotecan, oxaliplatin and infusional 5FU/LV (FOLFOXIRI) in combination with bevacizumab (BV) in metastatic colorectal cancer (mCRC) patients (pts): A phase II study by the GONO Group. *Proc Am Soc Clin Oncol GI Symposium*, 2008 (abstr 363)
317. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003; 9:669-76.
318. Ferrara N, Kerbel R. Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature* 2005; 438:967-974.
319. Ferrara N. VEGF as a therapeutic target in cancer. *Oncology* 2005; 69(suppl 3):11-16.
320. Carmeliet P. Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature* 2005; 438:932-936.
321. Lee JC, Chow NH, Wang ST, Huang SM. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in colorectal cancer patients. *Eur J Cancer* 2000; 36: 748-53.
322. Data on file. South San Francisco, CA: Genentech, Inc., 2002.
323. Ostendorf T, Kunter U, Eitner F et al. VEGF165 mediates glomerular endothelial repair. *J Clin Invest* 1999; 104:913-23.
324. Henry TD, Rocha-Singh K, Isner JM et al. Intracoronary administration of recombinant human vascular endothelial growth factor to patients with coronary artery disease. *Am Heart J* 2001; 142:872-80.



325. Shen BQ, Lee DY, Zioncheck TF. Vascular endothelial growth factor governs endothelial nitric-oxide synthase expression via a KDR/Flk-1 receptor and a protein kinase C signaling pathway. *J Biol Chem* 1999; 274:33057-63.
326. Granger JP, Alexander BT. Abnormal pressure-natriuresis in hypertension: role of nitric-oxide. *Acta Physiol Scand* 2000; 168: 161-68.
327. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W et al. Bevacizumab plus irinotecan, Fluorouracil, and Leucovorin for Metastatic Colorectal Cancer. *N Engl J Med* 2004; 350(23): 2335-2342.
328. Kabbinavar F, Hurwitz H, Fehrenbacher L et al. Phase II, randomized trial comparing bevacizumab plus fluorouracil (FU)/leucovorin (LV) with FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 60-65.
329. Kabbinavar FF, Schulz J, McCleod M et al Addition of Bevacizumab to Bolus Fluorouracil and Leucovorin in First-Line Metastatic Colorectal Cancer: Results of a Randomized Phase II Trial. *J Clin Oncol* 2005; 23(16): 3697-370.
330. Kabbinavar FF et al. Combined analysis of efficacy: the addition of bevacizumab to fluorouracil/leucovorin improves survival for patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2005;23(16):3706-12.
331. Giantonio BJ et al. Bevacizumab in combination with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin (FOLFOX4) for previously treated metastatic colorectal cancer: results from the Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200. *J Clin Oncol* 2007 Apr 20; 25(12): 1539-44.
332. Georgoulas V et al. Preliminary safety of bevacizumab with first-line FOLFOX, CAPOX, FOLFIRI and Capecitabine for mCRC - First BEATrial. *Eur J Cancer* 2005 Suppl 3(2):168.
333. Fernando N, Yu D, Morse M, et al. A phase II study of oxaliplatin, capecitabine and bevacizumab in the treatment of metastatic colorectal cancer. *ASCO annual meeting*, 2005; abstract 3556.
334. Hochster H, Hart R, Ramanathan J, et al. Results of the tree-2 cohort: safety, tolerability, and efficacy of bevacizumab added to three oxaliplatin/fluoropyrimidine regimens as first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *Gastrointestinal cancer symposium*, 2006: abstract 244.
335. Saltz LB et al. Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III study. *J Clin Oncol* 2008 Apr 20; 26(12): 2013-9.
336. Yarden Y. The EGFR family and its ligands in human cancer. Signalling mechanisms and therapeutic opportunities. *Eur J Cancer*, 2001; 37 (suppl 4): S3-S8.

337. El-Rayes BF, LoRusso PM. Targeting the epidermal growth factor receptor. *Br J Cancer*, 2004; 91(3): 418-24.
338. Perez Soler R, Saltz L. Cutaneous adverse effects with HER1/EGFR-targeted agents: is there a silver lining? *J Clin Oncol* 2005; 22: 5235-5241.
339. Saltz L, Rubin M, Hochster H, et al. Cetuximab (IMC-C225) plus irinotecan (CPT-11) is active in CPT-11-refractory colorectal cancer (CRC) that expresses epidermal growth factor receptor (EGFR). *ASCO annual meeting*. 2001:abstract 7.
340. Sombrero AF et al. EPIC: phase III trial of cetuximab plus irinotecan after fluoropyrimidine and oxaliplatin failure in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008 May 10; 26(14): 2311-9. Epub 2008 Apr 7.
341. Rosenberg A, Loehrer P, Needle M, et al. Erbitux (IMC-C225) plus weekly irinotecan (CPT-11), fluorouracil (5FU) and leucovorin (LV) in colorectal cancer (CRC) that expresses the epidermal growth factor receptor (EGFr). *ASCO annual meeting*, 2002: abstract 536.
342. Van Cutsem E et al. Randomized phase III study of irinotecan and 5-FU/FA with or without cetuximab in the first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer(mCRC): the CRYSTAL trial. *ASCO Annual Meeting 2007*; Abstract 4000.
343. Bokemeyer C et al. Cetuximab + 5-FU/FA/oxaliplatin(FOLFOX4) versus FOLFOX4 in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer(mCRC): OPUS, a randomized phase II study. *ASCO Annual Meeting 2007*; Abstract 4035.
344. Cunningham D, Humblet Y, Siena S, et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004;351:337–345.
345. Pippas AW, Lenz H-J, Mayer B, et al. Analysis of EGFR status in metastatic colorectal cancer patients treated with cetuximab monotherapy. *American Society of Clinical Oncology Annual Meeting*, FL, USA, 13-17 May 2005 (Abstract 3595).
346. Tejpar S et al. Phase I/II study of cetuximab dose-escalation in patients with metastatic colorectal cancer(mCRC) with no or slight skin reactions on cetuximab standard dose treatment (EVEREST): pharmacokinetic (PK), pharmacodynamic (PT) and efficacy data. *ASCO Annual Meeting 2007*; Abstract 4037.
347. Saltz L, Lenz H-J, Kindler H et al. Interim report of randomized Phase II trial of cetuximab/bevacizumab/irinotecan (CBI) versus cetuximab/bevacizumab (CB) in irinotecan-refractory colorectal cancer. *American Society of Clinical Oncology Gastrointestinal Symposium*, FL, USA 27-29 January, 2005 (Abstract 169b)
348. Malik I, Hecht JR, Patnaik A et al. Safety and efficacy of panitumumab monotherapy in patients with metastatic colorectal cancer. *ASCO annual meeting 2005*: abstract 2. *Proc ASCO 2005*; 16S:251,A3520.

349. Van Cutsem E et al. Open-label phase III trial of panitumumab plus best supportive care compared with best supportive care alone in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2007 May; 25 (13): 1658-64.
350. Shaked Y, Bocci G, Munoz R, et al. Cellular and molecular surrogate markers to monitor targeted and non-targeted antiangiogenic drug activity and determine optimal biologic dose. *Curr Cancer Drug Targets*. 2005 Nov;5(7):551-9.
351. Uthoff SM, Duchrow M, Schmidt MH et al. VEGF isoforms and mutations in human colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2002 Sep 1;101(1):32-6.
352. Bocci G, Man S, Green SK, Francia G et al. Increased plasma vascular endothelial growth factor (VEGF) as a surrogate marker for optimal therapeutic dosing of VEGF receptor-2 monoclonal antibodies. *Cancer Res*. 2004 Sep 15;64(18):6616-25.
353. Falcone A et al. Improved activity with irinotecan, oxaliplatin and infusional 5FU/LV (FOLFOXIRI) compared with FOLFIRI in metastatic colorectal cancer (MCRC): results of a randomized phase III
354. Falcone A, Masi G, Murr R, et al. Bi-weekly irinotecan, oxaliplatin and infusional 5-FU/LV (FOLFOXIRI) versus FOLFIRI as first-line treatment of metastatic colorectal cancer: results of a randomized phase III trial by the Gruppo Oncologico Nord-Ovest. *Proceedings ASCO Gastrointestinal Symposium* 2006.
355. Ellis LM, Curley SA, Grothey A. Surgical resection after downsizing of colorectal liver metastasis in the era of bevacizumab. *J Clin Oncol* 2005;23(22):4853-5
356. J. Randolph Hecht, Edith Mitchell, Tarek Chidiac. A Randomized Phase IIIB Trial of Chemotherapy, Bevacizumab, and Panitumumab Compared With Chemotherapy and Bevacizumab Alone for Metastatic Colorectal Cancer. *JCO*. 29 Dec 2008. 19.8135,
357. Gordon MS, Margolin K, Talpaz M. Phase I safety and pharmacokinetic study of recombinant human anti-vascular endothelial growth factor in patients with advanced cancer. *J Clin Oncol* 2001; 19(3): 843–850
358. Margolin K, Gordon MS, Holmgren E. Phase Ib trial of intravenous recombinant humanised monoclonal antibody to vascular endothelial growth factor in combination with chemotherapy in patients with advanced cancer: Pharmacologic and longterm safety data. *J Clin Oncol* 2001; 19(3) 851–856.

## APPENDICI

### APPENDICE I: SCALA PER LA VALUTAZIONE DEL PERFORMANCE STATUS

#### Scale di valutazione delle condizioni generali (performance status) (Karnofsky ed ECOG)

<b>ECOG</b>	<b>Karnofsky</b>
<b>0</b> In grado di svolgere le attività normali senza restrizioni	<b>100%</b> Normale nessun disturbo né evidenza di malattia
	<b>90%</b> In grado di svolgere le attività normali; modesti segni o sintomi di malattia
<b>1</b> Presenta restrizioni alle attività fisiche strenue, ma deambula ed è in grado di svolgere attività lievi o sedentarie, quali lavori domestici	<b>80%</b> Attività normale con sforzo; alcuni segni o sintomi di malattia
<b>2</b> Deambula, è autosufficiente, ma non può svolgere attività lavorative; in piedi per più del 50% del tempo	<b>60%</b> Richiede assistenza saltuaria, ma può soddisfare la maggior parte delle sue esigenze
	<b>50%</b> Richiede notevole assistenza e frequenti cure mediche
<b>3</b> Appena autosufficiente, allettato o seduto per più del 50% del tempo	<b>40%</b> Disabile; richiede particolari cure e assistenza
	<b>30%</b> Gravemente disabile, sono opportuni il ricovero ospedaliero e un trattamento di sostegno efficace; il decesso non è imminente
<b>4</b> Completamente disabile; non autosufficiente; sempre allettato o seduto	<b>20%</b> molto ammalato; sono necessari il ricovero ospedaliero e un trattamento di sostegno efficace
	<b>10%</b> Moribondo, i processi fatali progrediscono rapidamente
<b>5</b> Deceduto	<b>0%</b> Deceduto

Per gentile concessione di Karnofsky et al: The use of the nitrogen mustards in the palliation treatment of carcinoma with particular reference to bronchogenic carcinoma, *Cancer* 1:634-656, 1948, e di Oken MM et al: Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group, *Am J Clin Oncol* 5:649-655, 1982.

**APPENDICE II: CRITERI NCI PER LA VALUTAZIONE DELLA  
TOSSICITA'**

<b>Tossicità</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>EMATOLOGICA</b>					
<b>Leucociti</b>	≥ 4,0	3,0-3,9	2,0-2,9	1,0-1,9	<1,0
<i>Piastrine</i>	NLN	75,0-normale	50,0-74,9	25,0-49,9	<25,0
<i>Emoglobina</i>	NLN	10,0-normale	8,0-10,0	6,5-7,9	<6,5
<i>Granulociti Neutrofili</i>	≥ 2,0	1,5-1,9	1,0-1,4	0,5-0,9	<0,5
Linfociti	≥ 2,0	1,5-1,9	1,0-1,4	0,5-0,9	<0,5
<b>GASTROINTESTINALE</b>					
<i>Nausea</i>	Assente	Alimentazione in quantità adeguata	Alimentazione possibile ma con rilevante riduzione	Alimentazione non rilevante	-
<i>Vomito</i>	Assente	1 episodio in 24h	2-5 episodi in 24h	6-10 episodi in 24h	>10 episodi nelle 24h, o richiede terapia parenterale
<i>Diarrea</i>	Assente	Aumento di 2-3 scariche/die	Aumento di 4-6 scariche/die o scariche notturne o crampi moderati	aumento di 7-9 scariche/die o incontinenza o crampi intensi	Aumento ≥ 10 scariche/die, o enterorragia, o richiede terapia parenterale
<i>Stomatite</i>	Assente	Ulcere non dolorose, eritema o dolore lieve	Eritema doloroso, edema o ulcere ma può mangiare	Eritema doloroso, edema o ulcere e non può mangiare	Richiede terapia parenterale o supporto enterale
<b>EPATICA</b>					
<i>Bilirubina</i>	NLN	-	< 1,5xVN	> 1,5-3,0xVN	> 3,0xVN
<i>Transaminasi (SGOT, SGPT)</i>	NLN	≤ 2,5xVN	2,6-5,0xVN	5,1-20,0xVN	>20,0xVN
<i>Fosfatasi Alcalina o 5'-nucleotidasi</i>	NLN	≤ 2,5xVN	2,6-5,0xVN	5,1-20,0xVN	>20,0xVN
<b>RENALE</b>					
<b>Creatinina</b>	NLN	< 1,5xVN	> 1,5-3,0xVN	3,1-6,0xVN	> 6,0xVN
<i>Proteinuria</i>	Nessuna Alterazione	1+ o < 0,3 g/dl o <3 g/l	2-3+ o 0,3-1,0 g/dl o 3-10 g/l	4+ o > 1,0 g/dl o >10 g/l	Sindrome Nefrosica
<i>Ematuria</i>	Assente	Solo Microscopica	Macroscopica senza coaguli	Macroscopica con Coaguli	Richiede Trasfusione
<b>ALOPECIA</b>	Assente	Lieve Perdita di Capelli	Perdita di Capelli cospicua o totale	-	-
<b>POLMONARE</b>	Nessun cambiamento	Assenza di sintomi Alterazione delle PFR	Dispnea all'esercizio rilevante	Dispnea con attività normale	Dispnea a Riposo

**CRITERI DEL NATIONAL CANCER INSTITUTE PER LA VALUTAZIONE DELLA TOSSICITA' (cont.)**

<b>Tossicità</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>CARDIACA</b> (cont.)					
<i>Aritmie</i>	Assenti	Asintomatiche, transitorie non richiedono terapia	Ricorrenti o persistenti, non richiedono terapia	E' necessaria terapia	Richiedono monitoraggio; ipotensione, tachicardia ventricolare o fibrillazione
<i>Funzione</i>	Normale	Assenza di sintomi, riduzione della frazione di eiezione a riposo <20% valore iniziale	Assenza di sintomi, riduzione della frazione di eiezione a riposo >20% valore iniziale	SCC lieve che risponde alla terapia	SCC grave e refrattario
<i>Ischemia</i>	Assente	Appiattimento non specifico delle onde T	Assenza di sintomi, alterazioni dell'onda T e del Tratto ST che suggeriscono ischemia	Angina senza evidenza di infarto	Infarto miocardio acuto
<i>Pericardica</i>	Assente	Versamento asintomatico, non richiede terapia	Pericardite (sfregamento, dolore toracico, alterazione dell'ECG)	Versamento sintomatico; è necessario il drenaggio	Tamponamento, è necessario il drenaggio tempestivo
<b>NEUROLOGICA</b>					
<i>Sensoriale</i>	Assente o nessun cambiamento	Lievi parestesie, perdita dei riflessi tendinei profondi	Deficit sensitivo obiettivo lieve o moderato; parestesie moderate	Deficit sensitivo obiettivo grave o parestesie che interferiscono con la funzione	-
<i>Motoria</i>	Assente o nessun cambiamento	Debolezza soggettiva; nessun reperto obiettivo	Lieve debolezza obiettiva senza alterazione significativa della funzione	Debolezza obiettiva con alterazione della funzione	Paralisi
<b>CUTANEA</b>	Assente o nessun cambiamento	Eruzione maculare o papule isolata o eritema asintomatica	Eruzione maculare o papule isolate o eritema con prurito o altri sintomi	Eruzione maculare papulare o vescicolare generalizzata	Dermatite esfoliativa o ulcerativa
<b>ALLERGIA</b>	Assente	Eruzione cutanea transitoria, febbre da farmaci <38°C	Orticaria, febbre da farmaci di 38°C lieve broncospasma	Malattia da siero, broncospasma, richiede terapia parenterale	Anafilassi
<b>FEBBRE SENZA INFEZIONE</b>		37,1-38,0 °C	38,1-40,0 °C	> 40 °C per meno di 24 h	> 40 °C per più di 24 h, o febbre associata ad ipotensione
<b>LOCALE</b>	Assente	Dolore	Dolore e gonfiore con infiammazione o flebite	Ulcerazione	E' indicata chirurgia plastica

**CRITERI DEL NATIONAL CANCER INSTITUTE PER LA VALUTAZIONE DELLA TOSSICITA' (cont.)**

<b>Tossicità</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>IPERTENSIONE</b>		Incremento asintomatico transitorio (<24H) >20 mmHg (pressione diastolica) o fino a >150/100 se precedentemente WNL; non indicati provvedimenti terapeutici.	Incremento ricorrente (≥24H) o sintomatico >20 mmHg (pressione diastolica) o fino a >150/100 se precedentemente WNL; può essere indicata una monoterapia.	Incremento ricorrente o persistente (≥24H) o sintomatico >20 mmHg (pressione diastolica) o fino a >150/100 se precedentemente WNL; può essere indicata una monoterapia.	Necessita di più di un farmaco o di una terapia più intensiva di quella precedente  Conseguenze che mettono in pericolo la vita.
<b>EMORRAGIA</b>					
<i>Ematoma</i>	-	Sintomi minimi, con indicato intervento invasivo	Indicata evacuazione o aspirazione minimamente invasiva	Indicati trasfusione, radiologia interventistica o intervento chirurgico	Conseguenze che mettono in pericolo la vita, indicato intervento maggiore urgente
<i>Emorragia GI</i>	-	Lieve, intervento non indicato (eccetto supplemento marziale)	Sintomatica, indicato intervento medico o cauterizzazione minore	Indicati trasfusione, radiologia interventistica o intervento endoscopico o chirurgico; radioterapia	Conseguenze che mettono in pericolo la vita, indicato intervento maggiore urgente
<b>COAGULAZIONE</b>					
<i>DIC (coagulazione intravascolare disseminata)</i>	-	-	Alterazioni di laboratorio in assenza di sanguinamento	Alterazioni di laboratorio e sanguinamento	Alterazioni di laboratorio, conseguenze che mettono in pericolo la vita o invalidanti (es. emorragia a carico del SNC, danno d'organo o perdita di sangue emodinamicamente significativa)
<i>Fibrinogeno</i>	-	≥0,75 e <1.0 x LLN o riduzione <25% rispetto ai valori basali	≥0,5 e <0,75 x LLN o riduzione ≥25% e <50% rispetto ai valori basali	≥0,25 e <0,5 x LLN o riduzione ≥50% e <75% rispetto ai valori basali	<0,25 x LLN o riduzione del75% rispetto ai valori basali o valore assoluto <50% mg/dL
<i>INR (International Normalized Ratio del tempo di protrombina)</i>	-	>ULN e ≤1,5 x ULN	>1,5 e ≤2 x ULN	>2 x ULN	-
<i>Tempo di tromboplastina parziale (PTT)</i>	-	>ULN e ≤1,5 x ULN	>1,5 e ≤2 x ULN	>2 x ULN	-



## **APPENDIX IV: CRITERI RECIST PER LA VALUTAZIONE DELLA RISPOSTA**

### ***R.response E.valuation C.criteri in S.solid T.umors (sintesi)***

#### ***Elegibilità***

- Solamente pazienti con malattia misurabile al momento della valutazione basale dovrebbero essere inseriti in protocolli in cui l'obiettivo primario è la valutazione della risposta obiettiva del tumore.

**Malattia misurabile:** si ha quando è presente almeno una lesione misurabile. Se la malattia misurabile è ristretta ad una lesione solitaria, la sua natura neoplastica dovrebbe essere confermata con una indagine istologica/citologica.

**Lesioni misurabili:** sono quelle lesioni che possono essere misurate accuratamente in almeno una dimensione e il cui diametro maggiore sia > 20 mm se valutate con le metodiche radiologiche tradizionali o > 10 mm se valutate con la TAC spirale.

**Lesioni non-misurabili:** sono tutte le lesioni che non rientrano nel criterio suddetto: lesioni aventi diametro maggiore inferiore a 20 mm se valutate con le metodiche radiologiche tradizionali o inferiore a 10 mm se valutate con la TC spirale, lesioni scheletriche, lesioni meningeae, ascite, versamento pleurico, versamento pericardico, carcinoma infiammatorio della mammella, linfangite carcinomatosa (cutanea o polmonare), lesioni cistiche ed anche masse addominali che non siano state confermate da metodiche di diagnostica per immagini.

- La valutazione delle lesioni deve essere effettuata utilizzando regoli o calibri e le misurazioni devono essere riportate utilizzando il sistema metrico decimale.

- La valutazione basale delle dimensioni di una lesione deve essere fatta entro 4 settimane prima dell'inizio del trattamento chemioterapico.

- Le lesioni dovrebbero essere sempre valutate con la stessa metodica diagnostica durante tutto il trattamento.

- Le lesioni apprezzabili all'esame clinico sono considerate misurabili solo se superficiali (ad es. noduli cutanei e linfonodi palpabili). In caso di lesioni cutanee si raccomanda di allegare documentazione fotografica con scala metrica che permetta una stima del diametro della lesione.

#### ***Metodi di Misurazione***

- TC e RMN sono attualmente le migliori metodiche disponibili e riproducibili per misurare le lesioni target selezionate per la valutazione della risposta. TC convenzionale e RMN dovrebbero essere effettuate con scansioni contigue < 10 mm. La TC spirale dovrebbe essere eseguita utilizzando un algoritmo di ricostruzione contigua a 5 mm. Queste indicazioni si applicano a tumori del torace, dell'addome e della pelvi. I tumori del distretto testa/collo e quelli delle estremità richiedono di solito specifici protocolli.

- Le lesioni valutate con Rx torace sono accettabili come lesioni misurabili quando sono chiaramente definite e circondate da parenchima polmonare aerato. Comunque la TC è preferibile.
- Quando l'endpoint primario dello studio è la valutazione della risposta obiettiva, l'ecografia non dovrebbe essere utilizzata per misurare le lesioni tumorali. Può comunque essere una possibile alternativa alle misurazioni cliniche di linfonodi palpabili e superficiali, lesioni sottocutanee e noduli tiroidei. L'ecografia può essere utile per confermare la scomparsa completa di lesioni superficiali valutate solitamente con l'esame clinico.
- L'utilizzo di endoscopia e laparoscopia per la valutazione obiettiva di lesioni tumorali non è stata ancora convalidata pienamente ed estesamente. I loro usi in questo specifico contesto richiedono attrezzatura sofisticata ed un livello alto di esperienza che può essere solamente disponibile in alcuni centri. Perciò, l'utilizzo di tali tecniche per la valutazione obiettiva della risposta tumorale dovrebbe essere ristretta a scopi di conferma in centri specializzati. Comunque, tali tecniche possono essere utili per confermare una risposta completa patologica con biopsie.
- I marcatori tumorali non possono essere usati da soli per valutare la risposta. Se i marcatori sono inizialmente superiori al limite di normalità devono normalizzare perché un paziente possa essere considerato in risposta clinica completa quando tutte le lesioni siano scomparse.
- La valutazione citologica ed istologica in alcuni casi possono essere usate per distinguere una RP da una RC.

#### ***Valutazione Basale: lesioni Target e non Target***

- Tutte le lesioni misurabili fino ad massimo di 5 per organo ed un totale di 10, rappresentative di tutti gli organi interessati dalla malattia vengono identificate come lesioni “*target*” e quindi registrate e misurate nel corso della valutazione basale.
- Le lesioni “*target*” devono essere selezionate in base alla dimensione del diametro maggiore (privilegiare le lesioni con diametro più lungo) e alla possibilità di poterle rivalutare nel corso del trattamento (con tecniche di immagine o clinicamente).
- La somma dei diametri maggiori di *tutte le lesioni target* deve essere calcolata e registrata al momento della valutazione basale ed utilizzata in seguito come riferimento per la valutazione della risposta obiettiva del tumore.
- Tutte le altre lesioni (o sedi di malattia) dovrebbero essere definite come lesioni “*non target*” e possono essere registrate durante la valutazione basale. La loro misurazione non è necessaria ma la loro presenza o scomparsa può essere valutata nel corso del follow-up

#### ***Valutazione delle lesioni Target***

**Risposta Completa (RC)** si osserva la scomparsa di tutte le lesioni “*target*”

**Risposta Parziale (RP)** si osserva una diminuzione del 30% della somma dei diametri maggiori delle lesioni “*target*” prendendo come riferimento la somma dei diametri maggiori calcolata al momento della valutazione basale

**Progressione (PD)**

si osserva un aumento del 20% della somma dei diametri maggiori delle lesioni “*target*” prendendo come riferimento la somma più piccola dei diametri maggiori osservata dall’inizio del trattamento oppure si osserva la comparsa di una o più nuove lesioni

**Stabilità (SD)** non si osserva una ne’ una diminuzione del 30% della somma dei diametri maggiori delle lesioni “*target*” ne’ un aumento del 20% della somma dei diametri maggiori delle lesioni “*target*”

**Valutazione delle lesioni Non-Target**

**Risposta Completa (CR)** si osserva la scomparsa di tutte le lesioni “*non target*” e la normalizzazione dei livelli sierici dei markers tumorali

**Stabilità (SD)** rimangono una o più lesioni “*non target*” e/o i livelli sierici dei

markers tumorali restano sopra i valori normali

**Progressione (PD)** si osservano una più nuove lesioni e/o un inequivocabile

progressione delle pre-esistenti lesioni “*non target*” sebbene una chiara progressione delle lesioni “*non target*” soltanto sia un evento raro, in alcune circostanze l’opinione del medico può prevalere e la progressione deve poi essere confermata dal comitato revisore o dal coordinatore dello studio.

**Valutazione della migliore risposta globale**

La migliore risposta globale è la migliore risposta osservata dall’inizio del trattamento fino a quando non si ha progressione o ripresa della malattia (prendendo come riferimento la somma più piccola dei diametri maggiori osservata dall’inizio del trattamento).

<b>Lesioni Target</b>	<b>Lesioni Non Target</b>	<b>Nuove Lesioni</b>	<b>Risposta Globale</b>
<b>RC</b>	<b>RC</b>	<b>NO</b>	<b>RC</b>
<b>RC</b>	<b>SD</b>	<b>NO</b>	<b>RP</b>
<b>RP</b>	<b>Non PD</b>	<b>NO</b>	<b>RP</b>
<b>SD</b>	<b>Non PD</b>	<b>NO</b>	<b>SD</b>
<b>PD</b>	<b>Qualsiasi risposta</b>	<b>SI-NO</b>	<b>PD</b>
<b>Qualsiasi risposta</b>	<b>PD</b>	<b>SI-NO</b>	<b>PD</b>
<b>Qualsiasi risposta</b>	<b>Qualsiasi risposta</b>	<b>SI</b>	<b>PD</b>

- I pazienti che a causa di peggioramento globale dello status di salute devono interrompere il trattamento senza che si osservi l'evidenza obiettiva di una progressione di malattia dovrebbero essere classificati come pazienti con "deterioramento sintomatico" e dovrà essere fatto ogni sforzo per documentarne la progressione dopo la sospensione del trattamento
- In alcune circostanze può essere difficile distinguere la malattia residua dal tessuto sano. Pertanto quando la valutazione della risposta completa dipende da questa determinazione si raccomanda di indagare la lesione residua con agoaspirato o biopsia per confermare la risposta completa.

### **Conferma**

- L'obiettivo principale della conferma della risposta obiettiva è quello di evitare una sovrastima della percentuale di risposte osservate. Nel caso in cui non sia possibile confermare la risposta ciò deve essere chiaramente riportato nei risultati dello studio.
- La risposta parziale (PR) o completa (CR) devono essere confermate eseguendo una rivalutazione delle lesioni non prima di 4 settimane dopo la prima osservazione. Intervalli superiori, se previsti dal protocollo dello studio, possono essere ugualmente appropriati.
- Nel caso di SD questa deve essere confermata almeno in una successiva misurazione da eseguire dopo l'intervallo minimo previsto nel protocollo dello studio (generalmente, non inferiore a 6-8 settimane).

### **Durata della risposta globale**

- La durata della risposta globale è misurata dal momento in cui i criteri di misurazione consentono di definire una RC o RP fino alla prima data in cui sia documentata obiettivamente ripresa di malattia o PD, prendendo come riferimento per la definizione della PD le più piccole misurazioni registrate dall'inizio del trattamento.

### **Durata della stabilità di malattia**

- La SD è misurata dall'inizio del trattamento fino a quando i criteri di misurazione permettano di definire una PD prendendo come riferimento le più piccole misurazioni registrate dall'inizio del trattamento.
- L'importanza clinica della durata di una SD può essere diversa per differenti tipi di tumore. E' pertanto di fondamentale importanza che il protocollo specifichi il minimo intervallo di tempo richiesto tra due misurazioni per la determinazione di una SD. Questo intervallo di tempo dovrebbe prendere in considerazione l'aspettato beneficio clinico che tale status può portare alla popolazione in studio.

### **Revisione delle risposte**

- Per studi in cui l'obiettivo primario sia la percentuale di risposte si raccomanda fortemente che tutte le risposte siano verificate e confermate da uno o più esperti indipendenti al momento del completamento dello studio. La revisione simultanea delle cartelle dei pazienti ed delle immagini radiologiche è l'approccio migliore.

### ***Presentazione dei risultati***

- Tutti i pazienti inseriti nello studio devono essere valutati per la risposta al trattamento, anche se si siano verificate violazioni importanti del protocollo o se il paziente sia risultato ineleggibile. Ciascun paziente sarà classificato in una delle categorie seguenti: 1) risposta completa, 2) risposta parziale, 3) malattia stabile, 4) progressione di malattia, 5) decesso precoce per la malattia maligna, 6) decesso precoce per tossicità, 7) decesso precoce per altre cause, o 9) sconosciuto (dati non valutabili, insufficienti).
- Tutti i pazienti che hanno soddisfatto i criteri di eleggibilità dovrebbero essere inclusi nell'analisi della percentuale di risposta. I pazienti la cui risposta rientri nelle categorie 4-9 dovrebbero essere considerati come non responsivi al trattamento (progressione di malattia). Un errore nella scheda di trattamento o nella somministrazione di un farmaco non determina l'esclusione dalla valutazione della risposta. La definizione precisa delle categorie 4-9 deve essere specificata nel protocollo.
- Tutte le conclusioni dovrebbero essere basate sull'analisi di tutti i pazienti eleggibili.
- Le analisi su sottogruppi di pazienti possono essere effettuate escludendo i pazienti in cui si siano verificate importanti violazioni del protocollo (es., decesso precoce per altre cause, precoce interruzione del trattamento, significative deviazioni dal protocollo ecc.). Comunque, queste subanalisi non possono essere utilizzate come base per trarre conclusioni riguardo all'efficacia del trattamento, e le ragioni per cui i pazienti sono stati esclusi dall'analisi devono essere riportate chiaramente.
- Devono essere riportati gli intervalli di confidenza al 95%.

## **RINGRAZIAMENTI**

*I miei ringraziamenti più sentiti vanno al dott. Gianluca Masi per avermi seguito con grande disponibilità nel lavoro di stesura di questa tesi.*

*Un particolare ringraziamento va a tutti gli specializzandi della U.O. di Medicina Oncologica di Livorno per l'aiuto che mi hanno offerto.*

*Un grazie speciale va ai miei genitori per il sostegno su cui ho potuto sempre contare, e a mia sorella per essermi sempre stata vicino.*

*Infine, grazie a tutti coloro che mi hanno accompagnato in questi anni di studi con sincera amicizia.*

*Febbraio 2008*

*Riccardo*