

A.G.C. 20 - Assistenza Sanitaria - Deliberazione n. 1135 del 19 giugno 2009 – Progetto "SCREENING MOLECOLARE PER LA VALUTAZIONE PROGNOSTICA DEL CARCINOMA DELLA LARINGE". Approvazione.

CONSIDERATO :

Che i tumori del distretto testa-collo rappresentano il 10,5% di tutti i tumori maligni del maschio adulto, ed il 4% di quelli della donna;

Che la sopravvivenza a lungo termine da oltre venti anni si è attestata su soglie che sono rimaste sostanzialmente invariate con una sopravvivenza mediana a 5 anni di circa il 50% dei soggetti affetti;

Che la distribuzione di mortalità per sesso negli ultimi anni si è andata via via spostando verso una alta percentuale di donne che ammalano di tumori del distretto testa-collo,

Che alla luce di quanto la epidemiologia ci narra c'è bisogno di più efficaci misure preventive per una diagnostica precoce di tali tumori;

ATTESO:

Che, se scoperti in fase di carcinoma "in situ" i tumori di tale distretto possono essere curati radicalmente e portare nella maggior parte dei casi a guarigione completa, senza insorgenza di metastasi, e con trattamenti non demolitivi;

Che oggi si ha disponibilità di fattori bio-molecolari, che studiati su piccole coorti di pazienti, sembrano rappresentare un indice attendibile diagnostico in fase precoce dell'insorgenza di questi tumori;

che tra essi spicca di certo per l'interesse che ha suscitato nei ricercatori, le mutazioni a carico di P53;

che oltre alla sovraespressione e mutazione di P53, anche livelli alti di InterLeuchina-2, di EGFR, e riarrangiamenti genici possono concorrere a discriminare meglio fra metastasi vs. ricorrenza di malattia, e/o costituire efficaci marcatori di clonalità tumorale;

che tali marcatori potrebbero giocare un ruolo determinante come fattori prognostici di terapia;

che le più recenti ed avanzate evidenze scientifiche segnalano un ruolo prognostico di primo piano del Fattore di Assemblaggio Cromatinico 1 (CAF-1) e che il complesso CAF-1/p60 potrebbe avere un ruolo di marker fondamentale per predire la progressione tumorale nei tessuti del distretto testa collo;

CONSIDERATO

Che è pervenuto in data 17.12.2008 presso questo Assessorato il progetto denominato "SCREENING MOLECOLARE PER LA VALUTAZIONE PROGNOSTICA DEL CARCINOMA DELLA LARINGE" presentato dal Direttore del Dipartimento di Scienze Biomorfologiche e Funzionali dell'Università degli Studi Federico II di Napoli;

Che il progetto si propone di studiare la popolazione di tutti i pazienti operati per lesioni neoplastiche o paraneoplastiche della laringe presso il dipartimento di ORL della Facoltà di medicina e Chirurgia dell'Università Federico II di Napoli, in un arco di tempo che va dal 1993 al 2006;

Che tale studio, della durata di tre anni, è teso a dimostrare se il complesso CAF-1/p60 può giocare un ruolo determinante come marcatore di aggressività per i tumori della laringe;

Che data la non complessità dell'esecuzione di tali metodiche di indagine, qualora i dati confermassero l'ipotesi di studio, potrebbe pensarsi in una fase successiva alla possibilità di realizzare a costi estremamente contenuti e con procedure semplici screening mirati su tutta la popolazione campana a rischio;

CONSIDERATO :

altresì che scopo del progetto, oltre a quelli su esposti, è anche quello di disegnare una mappa della distribuzione nella nostra regione dei casi di tumore laringeo correlata alla presenza di fattori ambientali di rischio presenti nelle varie zone della nostra regione;

che l'impatto di tale progetto sulla popolazione in termini di assistenza, specificità e accuratezza diagnostica e appropriatezza delle cure può risultare rilevante;

Che alla luce delle direttive nazionali e regionali che spingono a percorrere nuove strade per migliorare la qualità di vita dei pazienti affetti da tumore, ed in particolare per quelli affetti da laringeo, consentendogli la guarigione o sopravvivenza più lunga e una qualità di vita migliore avendo subito condotte terapeutiche meno destruenti per la precocità dell'intervento terapeutico

ATTESO:

Che il presente progetto, alla luce di una attenta analisi comparazionale non ne trova analoghi tra quelli pervenuti;

che appare congruo con gli obiettivi di salute prefissati in ambito nazionale e regionale

Che i costi preventivati per la sua esecuzione nell'arco di tempo di tre anni nella misura di 350.000,00 euro appaiono sostenibili ed, ad una analisi in termini di risparmio indiretto per ricoveri inappropriati, gestione delle complicazioni evitabili, in linea con i più moderni modelli economici di gestione delle risorse in sanità;

PROPONE e la Giunta a voto unanime

DELIBERA

Per quanto esposto in narrativa e che qui si intende integralmente riportato

di approvare il progetto denominato "**SCREENING MOLECOLARE PER LA VALUTAZIONE PROGNOSTICA DEL CARCINOMA DELLA LARINGE**"

presentato dal Direttore del Dipartimento di Scienze Biomorfologiche e Funzionali dell'Università degli Studi Federico II di Napoli,

di imputare la spesa di euro 350.000,00 sul capitolo 7092 UPB 4.15.38 del bilancio esercizio 2009;

di trasmettere il presente atto all'Area Assistenza Sanitaria per il seguito di competenza di impegno e liquidazione che sarà effettuata nella misura del 50% all'atto della comunicazione di inizio delle attività ed il restante 50% a presentazione della rendicontazione e relazione finale ;

di trasmettere il presente atto al BURC per la successiva pubblicazione.

Il Segretario
D'Elia

Il Presidente
Bassolino

Titolo del Progetto:

**PROGETTO DI SCREENING MOLECOLARE PER LA
VALUTAZIONE PROGNOSTICA DEL CARCINOMA DELLA
LARINGE**

Proponente:

Prof. Gaetano De Rosa,

**Dipartimento di Scienze Biomorfologiche e Funzionali,
sezione di Anatomia Patologica e Citopatologia**

AOU Federico II, Napoli

Tel. 081.7463414/2398

FAX: 081.7463414

e-mail: gaderosa@unina.it

BACKGROUND SCIENTIFICO

Epidemiologia e fattori di rischio

Le neoplasie della testa e del collo rappresentano, a livello mondiale, circa il 10% dei tumori maligni negli uomini ed il 4% nelle donne. Le variazioni nella loro incidenza e mortalità sono molto marcate, con i tassi più elevati in India e Francia settentrionale. Nell'ambito di questo gruppo di tumori, il carcinoma della laringe occupa un posto preminente, dal momento che, da solo, costituisce il 5-8% delle neoplasie maligne ed il secondo tumore delle alte vie respiratorie. Il carcinoma laringeo è il tumore del distretto testa-collo in cui si riscontra la massima differenza tra i due sessi (19,8 per 100.000 negli uomini e 1,5 nelle donne alla fine degli anni 90). Va detto, però, che nel sesso maschile si è evidenziata, negli ultimi anni, una progressiva diminuzione di incidenza dei tumori della laringe, della faringe e del cavo orale. Nel sesso femminile, invece, si è registrato un aumento progressivo correlato in gran parte al mutato stile di vita (nell'ultimo decennio si è registrato infatti un incremento progressivo delle donne fumatrici, in controtendenza all'aumento numerico di uomini che decidono di smettere).

Il fumo di tabacco costituisce indubbiamente il principale agente causale ambientale. Come è noto, esso contiene circa 3000

composti, fra cui nicotina, CO, benzene ed acido cianidrico, che agiscono sia direttamente sull'epitelio respiratorio, che attraverso l'azione dilazionata nel tempo epletata dagli idrocarburi aromatici (soprattutto il benzopirene) originati dalla combustione.

I principali fattori di rischio, oltre al fumo di sigaretta, sono costituiti dal consumo di alcol e da qualunque condizione di infiammazione cronica delle mucose di faringe e laringe (stretta correlazione con alcuni inquinanti ambientali, tra i quali le polveri sottili, l'inalazione di cromo, nickel, amianto, e l'esposizione a radiazioni ionizzanti). Sono inoltre considerati fattori di rischio il reflusso gastro-esofageo (GERD), deficit del sistema immunitario e deficit nutrizionali (alimentazione poco equilibrata e, soprattutto, povera di verdura e frutta: l'epitelio delle alte vie digerenti e respiratorie è tra i più vulnerabili a deficit di sostanze anti-ossidanti. Questa circostanza è molto frequente nei forti bevitori, per i quali un quarto o un terzo delle calorie quotidiane deriva dall'alcool. E' dimostrato l'effetto favorevole di un consumo elevato di verdura e frutta, ma non sono ancora sufficienti i dati riguardanti l'utilità di agenti chemopreventivi specifici, tipo betacarotene).

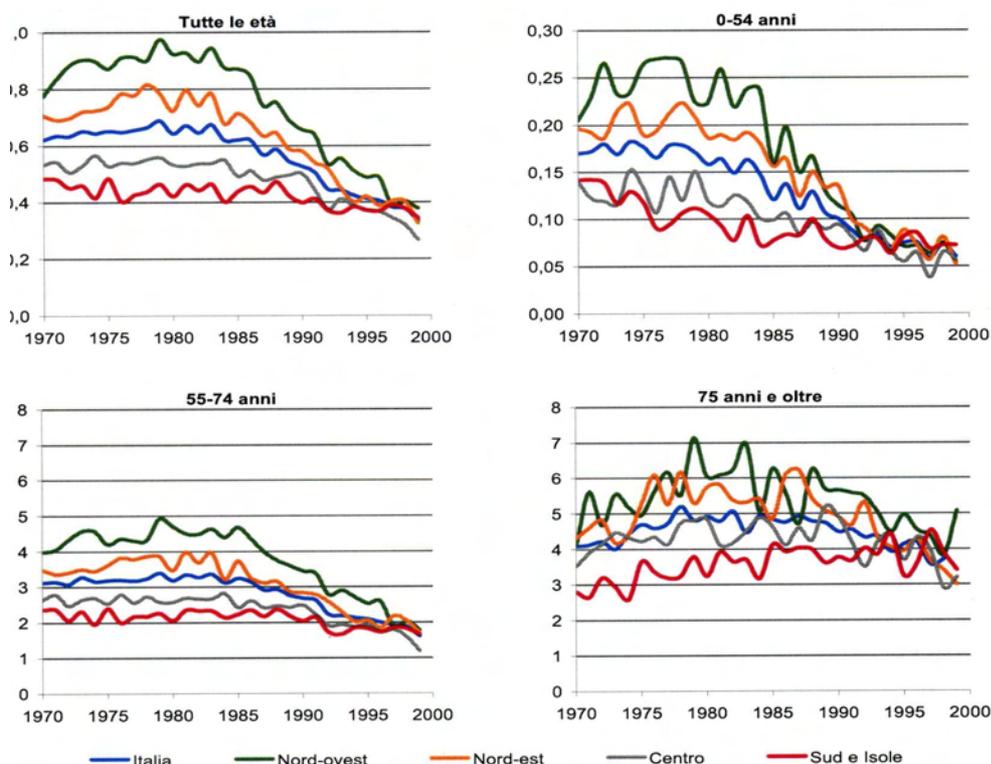
Altri fattori di rischio sono costituiti dalla bassa classe socio-economica di appartenenza, e dall'integrazione nel genoma del DNA

di papillomavirus umani ad alto rischio. In Italia si contano 5.000 circa nuovi casi l'anno tra gli uomini e 500 tra le donne.

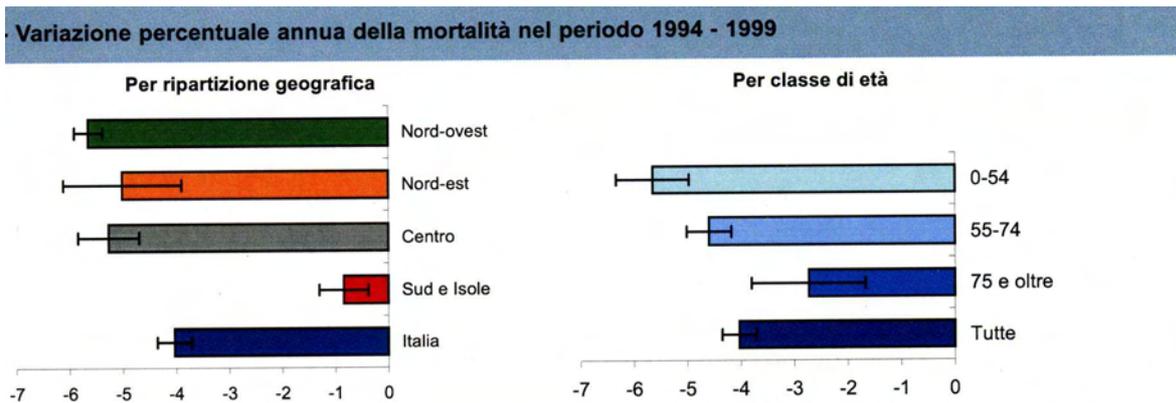
La sopravvivenza a lungo termine dei pazienti colpiti da carcinoma della laringe è rimasta sostanzialmente immodificata negli ultimi venti anni.

Complessivamente, la sopravvivenza a cinque anni dalla diagnosi è intorno al 50 per cento e oscilla tra il 79 per cento dei pazienti con tumori confinati alla sede di insorgenza e il 19 per cento dei pazienti con tumori metastatici.

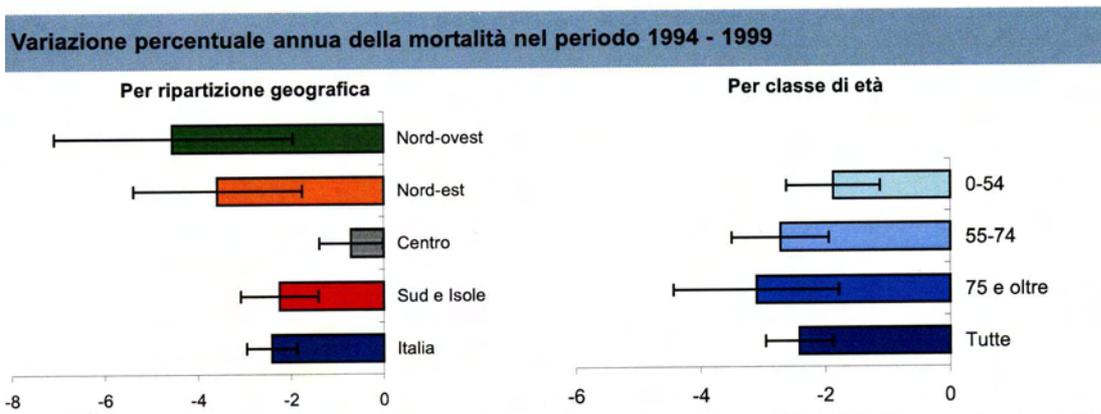
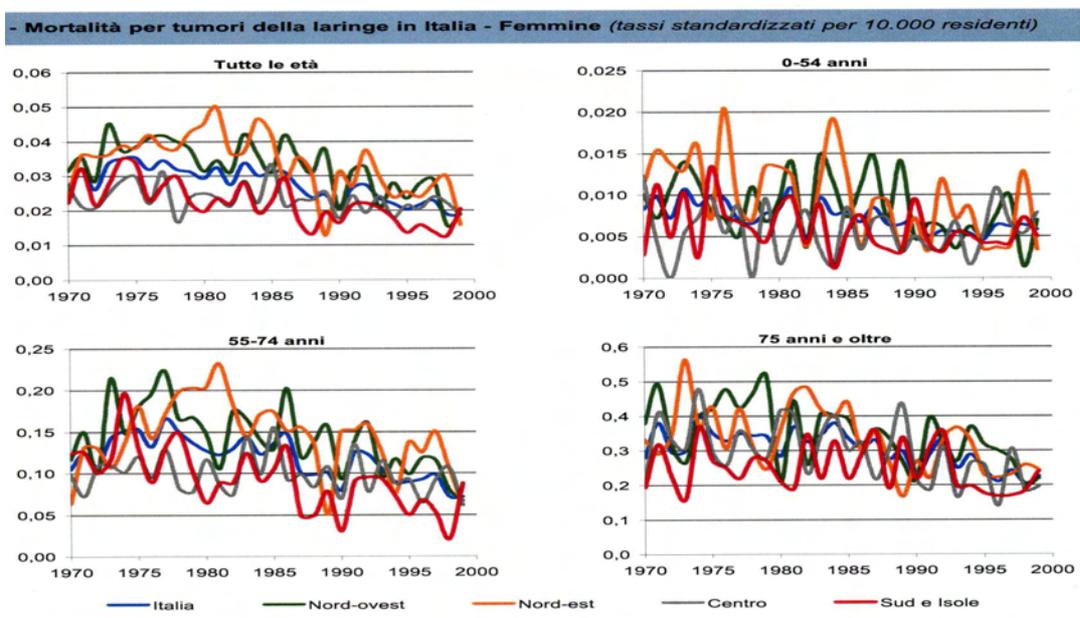
Mortalità per tumori della laringe in Italia - Maschi (tassi standardizzati per 10.000 residenti)



(ISTAT - Nuove evidenze dell'evoluzione della mortalità per tumori in Italia. N.5, 2005)



(ISTAT - Nuove evidenze dell'evoluzione della mortalità per tumori in Italia. N.5, 2005)



(ISTAT - Nuove evidenze dell'evoluzione della mortalità per tumori in Italia. N.5, 2005)

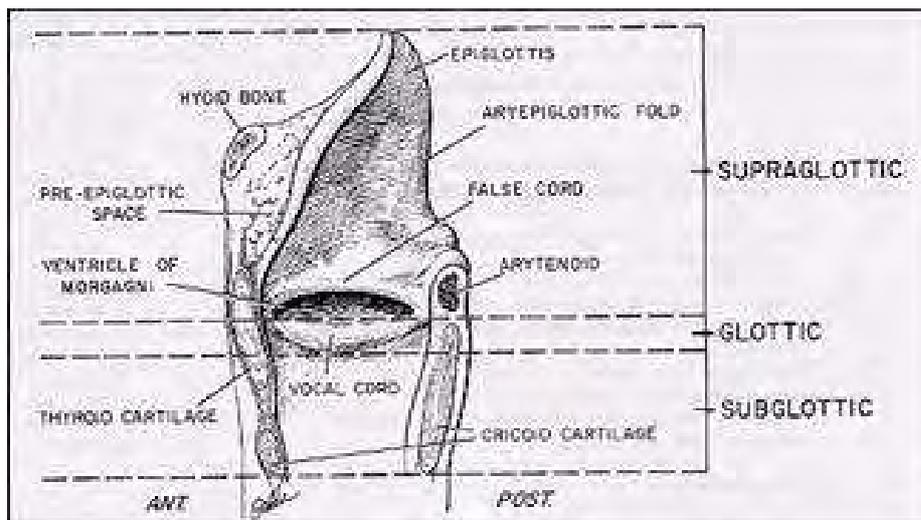
Si evince dalle rilevazioni ISTAT che, dopo un significativo decremento della mortalità per carcinoma laringeo nei primi anni dell'ultimo decennio, soprattutto nel sesso maschile, in Italia si è registrata una sostanziale stabilizzazione della mortalità in entrambi i sessi. Ciò denuncia la necessità di introdurre nuove e più efficaci misure di prevenzione e diagnosi precoce di tale patologia, nel nostro Paese. Questo evidente bias può essere dovuto ad un insieme di fattori. Il principale rimane ancora un livello insufficiente di attenzione nei confronti di una sintomatologia spesso sfumata.

E' infatti noto che la forma precoce del tumore, il carcinoma in situ, può essere curata con successo prima che dia luogo a metastasi. Purtroppo i sintomi della presenza di un cancro alla laringe non sono molto specifici e variano a seconda della sede e dell'estensione della massa tumorale. Spesso, quindi, sono trascurati dai pazienti che si accorgono di avere sviluppato il cancro a uno stadio avanzato della malattia.

Si può sospettare la presenza di una neoplasia maligna della laringe quando c'è un abbassamento di voce immotivato, una variazione del suo timbro (voce che diventa roca), si prova dolore e difficoltà nel deglutire o si soffre per un mal di gola cronico (oltre le due settimane). Oppure in presenza di una tumefazione laterocervicale, ascrivibile a metastasi linfonodali.

Le più comuni sedi di origine del carcinoma della laringe sono la corda vocale vera, l'epiglottide, il seno piriforme e l'area post-cricoidea.

La storia clinica e la progressione topografica del carcinoma laringeo sono strettamente legate alla diversa derivazione embriologica dei diversi distretti laringei (sovraglottico, glottico, sottoglottico).



La laringe sovraglottica deriva dalla tasca bucco-faringea (III e IV arco branchiale), mentre l'area sottoglottica dall'abbozzo tracheobronchiale (V e VI arco branchiale). I Carcinomi insorti a livello delle corde vocali (area glottica) sono spesso unilaterali, e tendono a essere "contenuti" anatomicamente dalla commissura anteriore. Per questa localizzazione è più facile la diagnosi precoce, perché il paziente si reca dallo specialista ORL o viene inviato allo specialista ORL, per una disfonia che può presentarsi allo stadio I di malattia

Se il paziente si reca dallo specialista in seguito ad episodio dispnoico, disfagia o per la valutazione di una adenopatia laterocervicale è improbabile che lo stadio della sua malattia sia I o II, ma purtroppo più

frequentemente stadio III e IV. La diagnosi tardiva, dovuta alla sede particolare della malattia, porterà ad una prognosi peggiore e a trattamenti più radicali

In linea generale, il carcinoma laringeo, in stadio precoce, rimane confinato dalle barriere embriologiche. In stadi avanzati, il carcinoma non è limitato da questi compartimenti ed è possibile l'invasione neoplastica di tutti i distretti. Il carcinoma laringeo, che nella gran parte dei casi è un carcinoma a cellule squamose, presenta un'alta tendenza alla metastatizzazione loco regionale (il drenaggio linfatico della laringe è assicurato da circa 300 linfonodi!) ed alla disseminazione a distanza.

Va infine considerata una caratteristica peculiare dei tumori laringei che, come tutti i carcinomi della testa e del collo tendono ad essere accompagnati (5-10% dei casi) o seguiti (10-20% dei casi entro 5 anni) da un altro carcinoma a carico della stessa regione o dell'esofago e del polmone (organi target degli stessi carcinogeni). L'alta frequenza di tumori multipli si spiega con la persistente influenza dei fattori di rischio coinvolti (soprattutto del fumo) a livello di ampie aree degli epitelii delle alte vie digerenti e del tratto respiratorio che hanno subito già le prime trasformazioni preneoplastiche (cosiddetta field cancerization).

Il trattamento comprende:

chirurgia endoscopica laser /stadio I); chirurgia conservativa-ricostruttiva /stadio II-III); radioterapia (stadio I-IV).

La laringectomia può portare alla perdita completa della capacità di parlare. Anche in assenza di laringe e corde vocali, però, i pazienti possono tornare a usare parzialmente la voce grazie a un addestramento logoterapico ed all'impiego di speciali devices.

Con tale premessa possono essere frequenti, principalmente in un primo stadio del decorso post-operatorio, risposte aggressive, di chiusura, di disistima, di abuso di farmaci, oppure all'opposto, sindromi depressive di varia gravità : il " lasciarsi andare" , la mancanza di motivazione, il tutto in una condizione di stress generalizzato.

Emerge chiara, da quanto enunciato finora, la necessità di identificare rapidamente nuovi parametri in grado di migliorare la nostra capacità di diagnosi precoce e di previsione del rischio individuale di progressione di malattia. Solo un abbattimento dei tempi diagnostici, soprattutto nei pazienti paucisintomatici, potrà infatti contribuire significativamente a migliorare la prognosi e la qualità di vita dei singoli pazienti.

FATTORI PROGNOSTICI: STATO ATTUALE

Il processo di cancerogenesi nei tumori delle vie aeree e digestive superiori è multifasico ed ognuno dei fattori finora proposti come indicatori di prognosi può essere indicativo di una o più fasi.

Studi condotti su casistiche significative e con almeno due anni di follow-up (medio) per il controllo loco-regionale della malattia, cinque anni per la sopravvivenza, indicano che l'età > 60 anni, il sesso maschile e un basso grado di performance status sono indicatori di prognosi sfavorevole

Stadio clinico e differenziazione del tumore (grading), restano tuttora i fattori più attendibili di prognosi; ploidia, indice mitotico ed angiogenesi (usualmente considerati indici biologici dell'aggressività della malattia) così come i margini di resezione, sono risultati fattori prognostici significativi solo in alcuni lavori. Generalmente questi fattori sono stati analizzati in studi prospettici su casistiche limitate o con un breve follow-up; tuttavia essi sono stati valutati come significativi anche in alcuni studi retrospettivi su casistiche numerose e con un follow-up superiore a 5 anni.

Marcatori quali ploidia e proliferazione cellulare, che riflettono proprietà conferite al clone cellulare dall'effetto combinato di alterazioni multiple, hanno dimostrato una rilevanza prognostica e

quindi sono di particolare interesse clinico, mentre minore e spesso discordante appare il significato prognostico di alterazioni di singoli geni.

Ploidia: è stato dimostrato che i tumori aneuploidi (con anomalie nel contenuto di DNA) sono a crescita più rapida e presentano una maggior frequenza di recidive dopo chirurgia non radicale. Per contro, tali tumori presentano una più spiccata sensibilità ai trattamenti radio-chemioterapici con maggiore frequenza di remissione clinica e/o patologica.

Proliferazione cellulare: i marcatori fino ad ora valutati si sono dimostrati scarsamente indicativi di aggressività biologica o di comparsa di recidive in pazienti trattati con chirurgia radicale. Per contro, si sono dimostrati significativamente predittivi di risposta al trattamento radioterapico. Inoltre decrementi del valore di questi parametri in corso di terapia sono indicatori precoci di prognosi più favorevole. Infine dati preliminari sembrano evidenziare come nei tumori a rapida proliferazione le associazioni chemio-radioterapiche sincrone siano più efficaci di schemi sequenziali.

Alterazioni geniche: come sopra menzionato, gli studi finora condotti sul significato prognostico di specifiche alterazioni geniche non hanno prodotto risultati di sicura utilità clinica ed è pertanto essenziale che futuri studi siano rivolti a valutazioni multiparametriche su casistiche più accuratamente selezionate e con

approcci clinico-sperimentali più integrati. Vanno però ricordati i risultati sul possibile utilizzo diagnostico di specifiche alterazioni geniche quali le mutazioni di P53 che appaiono utili nella rilevazione di persistenza del clone tumorale in margini di resezione istologicamente negativi e nell'accertare l'invasione metastatica in linfonodi istologicamente negativi. Inoltre mutazioni di P53 si sono dimostrati efficaci marcatori di clonalità tumorale, capaci di discriminare obiettivamente fra metastasi e/o ricorrenza di malattia e secondo tumore primitivo nei carcinomi a cellule squamose della testa e del collo.

Alcuni fattori biologici e molecolari, promettenti su piccole serie di pazienti, meritano di essere studiati e devono essere validati attraverso studi su casistiche di dimensioni adeguate. Tra i più studiati sono overespressione e mutazione della p53, livelli serici di IL-2, EGFR, riarrangiamenti genici.

Per quanto riguarda la predittività della risposta alle varie terapie solo pochi fattori si sono oggi rivelati affidabili; questo può essere dovuto al fatto che prelievi biotici su cui vengono condotte le determinazioni non sono adeguatamente rappresentativi della eterogeneità cellulare della neoplasia. Sulla base di questa analisi e delle considerazioni sopra esposte si può proporre una classificazione dei fattori prognostici delle neoplasie della testa e del collo per il loro impiego nella pratica clinica

Allo stato attuale, i classici parametri di predittività prognostica non sono in grado di consentire un'accurata fine discriminazione prognostica nell'ambito di sottogruppi di carcinomi laringei omogenei per caratteri clinico-patologici.

Attualmente, quindi, le possibilità di istituire strategie terapeutiche post-chirurgiche realmente "personalizzate" sono ancora trascurabili.

Nonostante la gran mole di studi in tal senso, i meccanismi molecolari in grado di condizionare il comportamento biologico del carcinoma a cellule squamose della laringe rimangono ancora in gran parte sconosciuti.

RAZIONALE DEL PROGETTO

Recentemente, gli sforzi dei ricercatori in campo oncologico si sono concentrati sullo studio delle alterazioni dei meccanismi di controllo (check-point) critici per la regolazione della crescita e della differenziazione cellulare.

Studi sperimentali su colture cellulari e su tessuti paraffinati di pazienti affette da carcinoma mammario, hanno segnalato un ruolo prognostico di primo piano del Fattore di Assemblaggio Cromatinico 1 (CAF-1), coinvolto nella deregolazione dell'organizzazione della cromatina durante la replicazione cellulare neoplastica.

CAF-1 è un complesso proteico costituito da tre subunità: p150, p60 e p48. Le prime due subunità hanno funzione di "chaperone di istoni" e partecipano direttamente al processo di rimodellamento dei nucleosomi durante la replicazione e la riparazione del DNA.

In particolare, la subunità proteica CAF-1/p60 è stata proposta come nuovo marcatore di proliferazione, con elevato valore predittivo prognostico, per le lesioni epiteliali preneoplastiche e neoplastiche della mammella e, del tutto recentemente, del cavo orale.

Basandosi su questi presupposti, ci proponiamo ora di valutare l'espressione di CAF-1/p60 su una serie selezionata di casi di lesioni preneoplastiche e carcinomi infiltranti della laringe, allo scopo di stabilire il suo eventuale ruolo di marker di progressione tumorale e nuovo fattore prognostico anche per questo gruppo di lesioni.

La popolazione studio verrà selezionata fra tutte le lesioni neoplastiche e preneoplastiche della laringe trattate chirurgicamente presso il Dipartimento di Otorinolaringoiatria della facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università Federico II di Napoli, in un arco temporale compreso fra 1993 e 2006. Requisito fondamentale sarà la disponibilità dei dati completi di follow-up dei singoli pazienti, relativi ad un periodo non inferiore a due anni dall'intervento chirurgico (per i carcinomi) o dalla biopsia (per le lesioni preneoplastiche).

Lo studio (durata prevista 3 anni) verrà condotto mediante indagine immunoistochimica e validazione dei dati risultanti con metodiche di biologia molecolare applicate su tessuti paraffinati d'archivio. I dati relativi alle indagini su tessuto verranno quindi correlati a quelli clinico-patologici e di follow-up, e sottoposti ad esame statistico per la ricerca delle significatività.

Se i risultati dello studio evidenzieranno un ruolo significativo di CAF-1/p60 come marcatore di aggressività nella popolazione-studio selezionata, si potrà proporre un successivo studio di conferma, su casistiche allargate multi-istituzionali, allo scopo di validare definitivamente il ruolo di questa proteina come nuovo, sensibile strumento di valutazione, su preparati istologici routinari, dell'aggressività dei singoli casi di carcinoma a cellule squamose della laringe.

Un corollario di indubbio interesse è costituito dalla semplicità di esecuzione tecnica dello studio e dalla disponibilità oramai ubiquitaria nei laboratori di anatomia patologica delle metodiche previste per la

valutazione dell'espressione di CAF-1/p60, oramai in tutto il territorio italiano. Ciò consentirà, infatti, l'immediata possibilità di disporre di questo nuovo indicatore prognostico pressochè in ogni laboratorio accreditato di anatomia patologica .

Se l'esito della ricerca sarà favorevole, sarà possibile ipotizzare un ruolo di rilievo della valutazione dell'espressione di CAF-1 anche come strumento di previsione dell'eventuale ripresa di malattia dei pazienti con pregresso carcinoma squamoso della laringe, nel contesto dei protocolli di follow-up post-chirurgico.

Se tali ipotesi verranno confermate dai risultati dello studio, sarà quindi ipotizzabile proporre la semplice valutazione dell'espressione della proteina CAF-1/p60 in un programma mirato di screening della popolazione campana.

SINTESI DEI PRINCIPALI OBIETTIVI DEL PROGETTO

- valutare la distribuzione dei casi di carcinomi laringei e relative lesioni preneoplastiche in Campania alla luce della presenza e tipologia dei diversi fattori di rischio ambientali significativamente correlati all'insorgenza di tali lesioni ;
- costruire quindi una mappa geografica del rischio di cancerogenesi laringea in Campania;
- correlare, per ogni area topografica, i principali caratteri istomorfologici con i dati clinici, l'età di insorgenza, il sesso ed i dati anamnestici dei pazienti;
- identificare eventuali parametri istologici peculiari significativamente riscontrati nei carcinomi laringei della popolazione campana;
- Definire nuovi markers tumorali per la diagnosi molecolare del carcinoma laringeo e nuovi fattori prognostici per classificare i diversi sottogruppi di pazienti, ottimizzare il management e la terapia ;
- Identificare nuovi target tumorali per lo sviluppo di nuove terapie molecolari;
- Verificare l'attendibilità della determinazione dell'espressione della proteina CAF-1/p60 come fattore discriminante di buona/cattiva prognosi per i carcinomi e/o basso/alto rischio di progressione per le

lesioni preneoplastiche laringee nel contesto di procedure di screening di popolazione.

DESCRIZIONE SCHEMATICA DEL PROGETTO

- Raccolta prospettica (tessuti criopreservati e paraffinati d'archivio) e retrospettiva (tessuti paraffinati d'archivio) dei casi di carcinomi e lesioni preneoplastiche della laringe diagnosticati e trattati in Campania.
- Registrazione dei principali parametri istologici.
- Raccolta dei dati clinico-anamnestici e registrazione del tempo di sopravvivenza libera da malattia e del tempo di progressione e/o morte.
- Valutazione immunoistochimica dei principali indicatori biomolecolari di prognosi attualmente accreditati dalla letteratura internazionale per i carcinomi laringei, in associazione alla valutazione dei parametri clinico-patologici (fenotipo istopatologico, diagnosi, decorso clinico, prognosi, risposta alla terapia). Utilizzando una enorme casistica, sarà quindi attuata una specie di "mappa di espressione proteica" di base dei singoli casi o gruppi di pazienti
- Ricerca immunoistochimica di espressione della proteina CAF-1/p60 su tutti i casi arruolati, retrospettivamente e prospetticamente, e correlazione con tutti i dati clinico-anamnestici, istopatologici e di follow-up dei singoli pazienti;
- Analisi biostatistica: Tutti i risultati dell'analisi morfologica ed immunoistochimica saranno confrontati con i parametri clinici contenuti nelle banche dati relative ai pazienti e relative famiglie, per verificare la significatività delle correlazioni e classificare

molecolarmente specifici sottogruppi di pazienti, ad alto e a basso rischio, per i quali possano essere istituiti protocolli di follow-up personalizzati ed approcci terapeutici più mirati.

- Sulla base dei risultati ottenuti, proposta di inserimento della valutazione dell'espressione di CAF-1/p60 in un protocollo di screening regionale della popolazione campana, per l'identificazione dei soggetti ad alto rischio di progressione neoplastica laringea.

Descrizione delle attrezzature già disponibili ed utilizzabili per il Programma

n°	Descrizione
1.	ANALIZZATORE DI IMMAGINE LEICA Q500 IW per citometria statica
2.	ATTREZZATURA PER acquisizione digitale d'immagine
3.	CRIOSTATO 1720 DIGITALE LEICA
4.	MICRODISSETTORE LASER
5.	MICROSCOPI OTTICI LEICA
6.	STAZIONE DI LAVORO AUTOMATICA PER IMMUNOISTOCHEMICA

Costo complessivo del Programma

Voce di spesa	Descrizione	Spesa in Euro
Risorse umane	PERSONALE A CONTRATTO, CONSULENZA, BORSE DI STUDIO	80.000
Attrezzature	Strumentazione per laboratori di biologia molecolare, istologia, immunoistochimica. Periferiche per PC e microfotografia digitale.	50.000
Materiali di consumo	Materiale di consumo per laboratorio (Colture cellulari, biologia molecolare, istologia, immunoistochimica).	80.000
Elaborazione Dati	PC, softwares, hardwares, etc.	30.000
Collaborazioni con altre Istituzioni	Permanenza fuori sede [Istituzioni assistenziali e/o di ricerca]; scambio e/o condivisione di expertise fra istituzioni interamente o parzialmente coinvolte nella ricerca	50.000
Spese per la divulgazione dei risultati	Pubblicazioni, organizzazione convegni, etc	10.000
TOTALE		300.000

Tutti gli importi sono espressi in Euro arrotondati alle centinaia.

Durata (in mesi, massimo 36):

Articolazione in fasi del progetto	I anno			II anno			III anno		
Analisi epidemiologica: segnalazione dei casi, raccolta dei dati clinico-patologici, anamnesi familiare, costruzione degli alberi genealogici, archiviazione in "databases" informatici integrati	■	■	■						
Analisi morfologica ed immunoistochimica, retrospettiva e prospettica			■	■	■	■			
Analisi biostatistica: confronto dei dati ottenuti con quelli anatomo-clinici, verifica delle correlazioni								■	■
Iniziative di divulgazione (presentazione dei dati, confronto con dati di altri gruppi), pubblicazioni, rendicontazione della ricerca									■

BIBLIOGRAFIA DI RIFERIMENTO

1. Franceschi S., Barzan L., Talamini R. Screening for cancer of the head and neck: if not now, when? *Oral. Oncol.*, 33: 313-316, 1997
2. Negri E., La Vecchia C., Franceschi S., Tavani A. Attributable risk of oral cancer in Northern Italy. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2: 189-193, 1993
3. Parkin D.M., Whelan S.L., Ferlay J., Raymond L., Young J. (eds.). *Cancer Incidence in Five Continents. Vol. VII. IARC Scientific Publication No. 143.* Lyon. International Agency for Research on Cancer, 1997.
4. Schottenfeld D., Fraumeni J.F. Jr. (eds). *Cancer Epidemiology and Prevention. Second Edition.* New York: Oxford University Press, 1996.
5. Tavani A., Negri E., Franceschi S., Barbone F., La Vecchia C. Attributable risk for laryngeal cancer in Northern Italy. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 3: 121-125, 1994
6. Wennerberg J. Predicting response to therapy of squamous cell carcinoma of the head and neck (review). *Anticancer Res.*, 16: 2389-2396, 1996.
7. Janot F., Klijanienko J., Russo A., et al. Prognostic value of clinicopathological parameters in head and neck squamous cell carcinoma: a prospettic analysis. *Brit. J. Cancer*, 73: 531-538, 1996.
8. Goldstein AM., Blot WJ., Greenberg RS., et al. Familial risk in oral and pharyngeal cancer. *Eur. J. Cancer B - Oral Oncol.*, 30: 319-322, 1994.
9. Bundgaard T., Bentzen SM., Wildt J., et al. Histopathologic, stereologic, epidemiologic, and clinical parameters in the prognostic evaluation of squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Head Neck* 18: 142-152, 1996.
10. Barzan L. Talamini R. Analysis of prognostic factors for recurrence after neck dissection. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 122: 1299-1302, 1996.
11. Pinsolle J., Pinsolle V., Majoufre C., et al. Prognostic value of histologic findings in neck dissections for squamous cell carcinoma. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 123: 145-148, 1997.

12. Peters LJ., Goepfert H., Ang KK., et al. Evaluation of the dose for postoperative radiation therapy of head and neck cancer: first report of a prospective randomized trial. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 26: 3-11, 1993.
13. Wong G., Stidley C., Dressler L., et al. Predictive value of flow cytometric analysis in DNA contents in patients with locally advanced head and neck carcinoma. *J. Laryngol. Otol.*, 110: 243-248, 1996.
14. Baretton G., Li X., Stoll C., et al. Prognostic significance of DNA ploidy in oral squamous cell carcinomas. A retrospective flow and image cytometric study with comparison of DNA ploidy in excisional biopsy specimens and resection specimens, primary tumours and lymph node metastases. *Oral Surg., Oral Med., Oral Pathol., Oral Radiol. Endod.*, 79: 68-76, 1995.
15. Corvò R., Giaretti W., Geido E., et al. Cell kinetics and tumor regression during radiotherapy in head and neck squamous-cell carcinomas. *Int. J. Cancer*, 68: 151-155, 1996.
16. Gleich LL., Biddinger PW., Pavelic ZP., Gluckman JL. Tumor angiogenesis in T1 oral cavity squamous cell carcinoma: role in predicting tumor aggressiveness. *Head Neck*, 18: 343-346, 1996.
17. Chao KS., Emami B., Akhileswaran R., et al. The impact of surgical margin status and use of an interstitial implant on T1, T2 oral tongue cancers after surgery. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 36: 1039-43, 1996.
18. Brennan JA, Mao L., Iiruban RH, et al. Molecular assessment of histopathological staging in squamous-cell carcinoma of the head and neck. *New Engl. J. Med*, 332; 7: 429-435, 1995.
19. Corvò R, Giaretti W, Sanguinetti G, et al. In vivo cell kinetics in head and neck squamous cell carcinoma predicts local control and helps guide radiotherapy regimen. *J. Clin. Oncol.*, 13; 8: 1843-1850, 1995.
20. Friedman M, Grey P, Venkatesan TK, et al. Prognostic significance of Bcl-2 expression in localized squamous cell carcinoma of the head and neck. *Ann. Oto. Rhinol. Laryng.*, 106: 445-450, 1997.
21. Gasparotto D, Maestro R, Barzan L, et al. Recurrency and second primary tumours in the head and neck region: differentiation by p53 mutation analysis. *Ann. Oncol.*, 6: 933-939, 1995.

22. Hirvikaski P, Kumpulainen E, Virtaniemi J, et al. p53 expression and cell proliferation as prognostic factors in laryngeal squamous cell carcinoma. *J. Clin. Oncol*, 15: 3111-3120, 1997.
23. Terry NH and Peters LJ. The predictive value of tumor-cell kinetic parameters in radiotherapy: considerations regarding data production and analysis. *J. Clin. Oncol*, 13: 1833-1836, 1995
24. Toffoli G, Franchin G, Barzan L, et al. Brief report: prognostic importance of cellular DNA content in T1-2 N0 laryngeal squamous cell carcinomas treated with radiotherapy. *Laryngoscope*, 105: 649-652, 1995
25. Veneroni S, Silvestrini R, Costa A, et al. Biological indicators of survival in patients treated by surgery for squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx. *Eur. J. Cancer. Oral Oncol.*, 33: 408-413, 1997.
26. Yun Oh and Li Mao. Biomarkers in head and neck carcinoma. *Curr. Opin. Oncol.*, 9: 247-256, 1997.
27. Nuove evidenze nell'evoluzione della mortalità per tumori in Italia – ISTAT, n.5, 2005
- 28.1: Rafferty M, Helliwell TR, Husband DJ, Fenton J, Jones TM, Jones AS. Expression of cell cycle associated proteins influences radiocurability of T2N0 squamous cell carcinoma of the larynx. *Oral Oncol*. 2008 Mar 6. [Epub ahead of print]
29. Sackett MK, Bairati I, Meyer F, Jobin E, Lussier S, Fortin A, Gélinas M, Nabid A, Brochet F, Têtu B. Prognostic significance of cyclooxygenase-2 overexpression in glottic cancer. *Clin Cancer Res*. 2008 Jan 1;14(1):67-73.
30. Morshed K, Skomra D, Korobowicz E, Szymański M, Polz-Dacewicz M, Gołabek W. An immunohistochemical study of cyclin D1 protein expression in laryngeal squamous cell carcinoma. *Acta Otolaryngol*. 2007 Jul;127(7):760-9.
31. Cabanillas R, Rodrigo JP, Astudillo A, Domínguez F, Suárez C, Chiara MD. P53 expression in squamous cell carcinomas of the supraglottic larynx and its lymph node metastases: new results for an old question. *Cancer*. 2007 May 1;109(9):1791-8.
32. Salerno G, Di Vizio D, Staibano S, Mottola G, Quaremba G, Mascolo M, Galli V, De Rosa G, Insabato L. Prognostic value of p27Kip1 expression in

- Basaloid Squamous Cell Carcinoma of the larynx. *BMC Cancer*. 2006 Jun 1;6:146.
33. Almadori G, Bussu F, Cadoni G, Galli J, Paludetti G, Maurizi M. Molecular markers in laryngeal squamous cell carcinoma: towards an integrated clinicobiological approach. *Eur J Cancer*. 2005 Mar;41(5):683-93. Review.
34. Khademi B, Shirazi FM, Vasei M, Doroudchi M, Gandomi B, Modjtahedi H, Pezeshki AM, Ghaderi A. The expression of p53, c-erbB-1 and c-erbB-2 molecules and their correlation with prognostic markers in patients with head and neck tumors. *Cancer Lett*. 2002 Oct 28;184(2):223-30.
35. Lazaris ACh, Rigopoulou A, Tseleni-Balafouta S, Kavantzias N, Thimara I, Zorzos HS, Eutychiadis CA, Petraki K, Kandiloros D, Davaris P. Immunodetection and clinico-pathological correlates of two tumour growth regulators in laryngeal carcinoma. *Histol Histopathol*. 2002 Jan;17(1):131-8.
36. Baatenburg de Jong RJ, Hermans J, Molenaar J, Briaire JJ, le Cessie S. Prediction of survival in patients with head and neck cancer. *Head Neck*. 2001 Sep;23(9):718-24.
37. Sion-Vardy N, Fliss DM, Prinsloo I, Shoham-Vardi I, Benharroch D. Neoangiogenesis in squamous cell carcinoma of the larynx - iological and prognostic associations. *Pathol Res Pract*. 2001;197(1):1-5.
38. Haas S, Bosch FX, Klein-Kühne W, Nollert J, Rudat V, Conradt C, Dietz A. Prognostic significance of cell-cycle regulatory proteins for outcome after primary radiochemotherapy in patients with advanced head and neck cancer. *HNO*. 1999 Sep;47(9):777-86.
39. Krecicki T, Jeleń M, Zalesska-Krecicka M, Szkudlarek T, Szajowski K. Immunohistochemically stained markers (p53, PCNA, bcl-2) in dysplastic lesions of the larynx. *Cancer Lett*. 1999; 23;143(1):23-8.
40. Staibano S, Merolla F, Testa D, Iovine R, Mascolo M, Guarino V, Castellone MD, Di Benedetto M, Galli V, Motta S, Melillo RM, De Rosa G, Santoro M, Celetti A. OPN/CD44v6 overexpression in laryngeal dysplasia and correlation with clinical outcome. *Br J Cancer*. 2007 Dec 3;97(11):1545-51.
41. Staibano S, Mignogna C, Lo Muzio L, Mascolo M, Salvatore G, Di Benedetto M, Califano L, Rubini C, De Rosa G. Chromatin assembly factor-1 (CAF-1)-

mediated regulation of cell proliferation and DNA repair: a link with the biological behaviour of squamous cell carcinoma of the tongue?

Histopathology. 2007 Jun;50(7):911-9.

42. Testa D, Galli V, de Rosa G, Iovine R, Staibano S, Somma P, Mignogna C, Iengo M. Clinical and prognostic aspects of laryngeal clear cell carcinoma. J Laryngol Otol. 2005 Dec;119(12):991-4. Review.

43. Celetti A, Testa D, Staibano S, Merolla F, Guarino V, Castellone MD, Iovine R, Mansueto G, Somma P, De Rosa G, Galli V, Melillo RM, Santoro M. Overexpression of the cytokine osteopontin identifies aggressive laryngeal squamous cell carcinomas and enhances carcinoma cell proliferation and invasiveness.

Clin Cancer Res. 2005 Nov 15;11(22):8019-27.