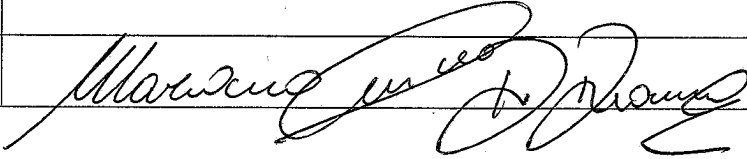


**PROGETTO DI RICERCA / RESEARCH PROJECT**  
**(max 5 pagine / max 5 pages)**

<b>Cognome/Surname</b>	DI DONNA
<b>Nome / Name</b>	MARIANO CATELLO
<b>Titolo del progetto / Project title</b>	IMPATTO DELLA PERITONECTOMIA TOTALE VERSUS PERITONECTOMIA SELETTIVA SEGUITA DA HIPEC SULLO STATO DI ATTIVAZIONE IMMUNITARIA NELLE PAZIENTI SOTTOPOSTE A CITORIDUZIONE PER CARCINOMA OVARICO AVANZATO/RECIDIVANTE
<b>Corso di dottorato / PhD</b>	ONCOLOGIA E CHIRURGIA SPERIMENTALI
<b>Firma del candidato / Applicant's signature</b>	

## 1 - Sommario / Abstract

Il peritoneo rappresenta una membrana sierosa mesoteliale che costituisce la struttura di rivestimento delle pareti della cavità addominale, riflettendosi nella sua componente viscerale sugli organi endoaddominali conferendogli motilità, rivestimento e protezione. La sottile membrana peritoneale risulta costituita da uno strato di cellule mesoteliali, la lamina basale, lo stroma submesoteliale e la lamina elastica. Nonostante la semplicità anatomica, il peritoneo svolge non solo funzioni di barriera, ma anche un ruolo complesso di vero e proprio organo del sistema immunitario mediando l'attivazione della risposta immunitaria ed infiammatoria essendo caratterizzato da un complesso e diffuso infiltrato linfo-monocitario che viene prontamente attivato in caso di risposta contro l'ospite<sup>1</sup>. Dal punto di vista oncologico, il peritoneo costituisce anche una frequente sede di localizzazione metastatica nelle pazienti con carcinoma ovarico configurando un quadro cosiddetto di carcinosi peritoneale (PC). Il trattamento di tale condizione richiede spesso approcci locoregionali trimodali che combinano l'asportazione chirurgica del peritoneo (peritonectomia) con l'infusione all'interno della cavità addominale di farmaci antitumorali associati a temperature elevate (39-43°C) approccio conosciuto con l'acronimo di HIPEC (hyperthermic intraperitoneal chemotherapy)<sup>2-4</sup>. In tale contesto la radicalità dell'asportazione chirurgica appare come un elemento particolarmente controverso, se da un lato numerose evidenze suggeriscono che l'asportazione del solo peritoneo coinvolto dalla PC (peritonectomia selettiva, PerS) possa garantire un adeguato risultato oncologico, dall'altro lato l'asportazione completa del peritoneo parietale (peritonectomia totale, PerT) sia sano che coinvolto dalla diffusione metastatica continua a rappresentare l'opzione terapeutica di scelta nelle pazienti con PC, soprattutto per i tumori mucinosi<sup>5-7</sup>. Sebbene l'impatto di tali trattamenti sulla risposta immunitaria peritoneale sia poco conosciuto, recenti studi hanno messo in evidenza come, l'effetto killer dell'HIPEC nei confronti delle cellule tumorali sia almeno in parte mediato da un'attivazione della risposta immunitaria. La combinazione di alte dosi di chemioterapico con l'ipertermia determina infatti l'attivazione delle cellule dendritiche (DCs) che a loro volta potenziano la risposta linfocitaria citotossica antigene dipendente contro le cellule tumorali<sup>8</sup>. Tali evidenze suggerirebbero quindi che la preservazione chirurgica del peritoneo non coinvolto dalla diffusione metastatica possa essere di beneficio nella risposta immunitaria anti-neoplastica peritoneale. Nonostante la rilevanza di tale tema, non sono al momento disponibili dati sperimentali circa l'impatto sul sistema immunitario addominale della PerT rispetto alla PerS nelle pazienti affette da carcinoma ovarico sottoposte a chirurgia radicale seguita da HIPEC per PC, lo scopo del nostro progetto è quindi quello di confrontare l'assetto immunologico peritoneale nei due gruppi di pazienti. I risultati del nostro studio permetteranno di fornire delle basi biologiche per la scelta chirurgica tra PerT e PerS nel suddetto setting clinico.

## 2 - Descrizione del progetto / Project

## 2.1 Introduzione

I tumori epiteliali dell'ovaio rappresentano la principale causa di morte per cancro della sfera ginecologica e la quinta causa di morte per cancro nel sesso femminile<sup>9</sup>. Il 70-80% delle pazienti presenta già alla prima

diagnosi una malattia in stadio avanzato con disseminazione intra-peritoneale (Stadio FIGO III-IV). Per questo gruppo di pazienti, il tasso di sopravvivenza a 5 anni è inferiore al 20-30%<sup>10</sup>. Il trattamento standard delle pazienti affette da cancro ovarico avanzato con PC è basato sulla chirurgia di debulking primaria, generalmente seguita da chemioterapia adiuvante a base di platino<sup>11-13</sup>. L'obiettivo principale del trattamento chirurgico è l'asportazione di tutta la malattia macroscopicamente visibile (debulking completo). Il residuo di malattia al termine della chirurgia è infatti riconosciuto come il principale fattore prognostico delle pazienti affette da carcinoma ovarico avanzato<sup>14-16</sup>. In tale contesto, è stato progressivamente integrato nel trattamento delle pazienti con PC da carcinoma ovarico avanzato/recidivante l'utilizzo dell'infusione intracavitaria di farmaci antitumorali a base di platino con soluzioni ipertermiche (HIPEC) dopo citoriduzione, con l'obiettivo di poter rimuovere i focolai microscopici di malattia non identificabili ed asportabili dalla chirurgia. Tuttavia, se il ruolo dell'HIPEC sta progressivamente emergendo nell'ambito del trattamento trimodale della PC, al contrario molto controverso è l'approccio chirurgico da adottare; infatti, attualmente, la strategia chirurgica può comportare un'asportazione completa della sierosa peritoneale (PerT) o viceversa la rimozione della sola porzione di peritoneo coinvolto dalla malattia (PerS)<sup>5</sup>. La PerT appare sostenuta dal razionale oncologico legato all'asportazione completa dell'organo sede di metastasi, dall'altra parte il peritoneo è attualmente riconosciuto come un vero e proprio organo del sistema immunitario coinvolto nello svolgimento delle funzioni di difesa e risposta contro le cellule tumorali, pertanto, la sua asportazione completa potrebbe comportare una perdita di immunocompetenza determinando un ambiente locale immunotollerogenico in grado di favorire la crescita dei microfocolai neoplastici. A tal proposito, numerose evidenze sperimentali, sembrano infatti suggerire che almeno in parte l'effetto antineoplastico dell'HIPEC sia mediato da un potenziamento della risposta immunitaria citotossica contro le cellule tumorali<sup>8</sup>. Pertanto, tali dati supporterebbero una radicalità chirurgica modulata a livello peritoneale in favore della PerS in grado di rimuovere la PC, preservando porzioni sane di peritoneo parietale. Nonostante la rilevanza del tema, non sono al momento disponibili dati relativi all'impatto immunologico della PerT versus PerS nelle pazienti sottoposte a citoriduzione seguita da HIPEC per carcinoma ovarico avanzato/recidivante.

## 2.2 Disegno dello studio

Lo studio in oggetto si pone dunque quale endpoint primario comparare attraverso un arruolamento prospettico l'assetto immunologico in un gruppo di 30 pazienti affette da carcinoma ovarico avanzato/recidivante sottoposte a PerT versus PerS seguita da HIPEC.

In particolare, lo studio prevede la valutazione sperimentale dei due seguenti aspetti chiave della risposta immunologica locale:

1) uno dei principali fattori che identificano il milieu immunologico nelle pazienti affette da carcinoma ovarico è senz'altro l'entità dell'infiltrato linfocitario T-CD4 Treg. Tale sottopopolazione linfocitaria, identificabile attraverso l'espressione del recettore di superficie Foxp3 agisce sopprimendo la risposta immunitaria citotossica e pertanto abolendo l'azione antineoplastica del sistema immunitario. Non stupisce dunque, che anche nel carcinoma ovarico, numerosi studi abbiano correlato un elevato infiltrato linfocitario Treg tumorale ad un dato prognostico sfavorevole in virtù in uno spiccato microambiente immunotollerogenico favorente la proliferazione neoplastica<sup>17-18</sup>. Appare dunque di particolare interesse conoscere l'entità dell'infiltrato neoplastico linfocitario Treg a livello addominale nelle pazienti sottoposte a PerT versus PerS seguita da HIPEC per carcinoma ovarico avanzato/recidivante.

-Pertanto, a tutte le pazienti arruolate nel presente studio verranno effettuati, 30 minuti dopo il completamento dell'HIPEC, 3 prelievi tissutali random a livello del peritoneo parietale residuo dopo PerS ed a livello della parete addominale nelle pazienti sottoposte a PerT. Tali campioni tissutali verranno utilizzati per la valutazione immunoistochimica dei livelli di espressione di Foxp3, ottenendo così una quantificazione dell'infiltrato linfocitario Treg che verrà dunque comparato tra i due gruppi (PerS versus PerT) al fine di valutare l'impatto delle due procedure chirurgiche sul milieu immunologico peritoneale.

2) un secondo elemento di rilievo nella valutazione della risposta immunitaria è senz'altro rappresentato dall'entità e tipologia di cascata citochinica attivata. In particolare, i livelli tissutali di IL2 ed IL6 agiscono modulando significativamente la risposta immunologica locale determinando anch'essi un complessivo effetto di stimolo allo sviluppo di un milieu immunotollerogenico<sup>19-20</sup>, che in un'ultima analisi favorirebbe la proliferazione tumorale riducendo la risposta immunitaria citotossica. Appare quindi di particolare rilievo la comparazione dei livelli di IL2 ed IL6 a livello addominale nelle pazienti sottoposte a PerS versus PerT.

-Pertanto, come sopra descritto, a tutte le pazienti arruolate nel presente studio verranno effettuati, 30 minuti dopo il completamento dell'HIPEC, 3 prelievi tissutali random a livello del peritoneo parietale residuo dopo PerS ed a livello della parete addominale nelle pazienti sottoposte a PerT. Tali campioni tissutali verranno utilizzati per la valutazione immunoistochimica dei livelli di espressione di IL2 ed IL6, ottenendo così una quantificazione dell'infiltrato citochinico che verrà dunque comparato tra i due gruppi (PerS versus PerT) al fine di valutare l'impatto delle due procedure chirurgiche sul milieu immunologico peritoneale.

Come sopra detto lo studio in oggetto verrà condotto presso la UOC di Ginecologia Oncologica dell'ARNAS Civico di Palermo reclutando prospetticamente una corte consecutiva di 30 pazienti affette da carcinoma ovarico avanzato/recidivante sottoposte a citoreduzione seguita da HIPEC, di cui 15 trattate con PerS e 15 con PerT.

Per tutte le pazienti verrà ottenuto consenso informato scritto per la raccolta ed analisi dei dati clinici e dei suddetti campioni biologici peritoneali.

I risultati ottenuti relativi al milieu immunologico locale verranno inoltre analizzati e corretti nel contesto dei maggiori fattori prognostico/predittivi nel carcinoma ovarico avanzato/recidivante quali: l'età, il BMI, lo status mutazionale BRCA, il residuo tumore post chirurgia. Tale analisi verrà intrapresa al fine di identificare potenziali correlazioni tra le suddette variabili e l'assetto immunologico post citoreduzione seguita da HIPEC e costituiscono gli endpoint secondari del presente studio.

### 2.3 Impatto clinico del presente studio

I risultati del presente studio forniranno per la prima volta dati sperimentali relativi all'impatto sul sistema immunitario locale delle procedure trimodali di trattamento della PC comprendenti PerS/PerT seguita da HIPEC. Tali dati permetteranno di guidare la scelta chirurgica tra PerS e PerT indicando la procedura più idonea nella singola paziente nell'ottica di un progressivo percorso di personalizzazione degli approcci chirurgici oncologici.

### 3 - Bibliografia/References

1. van Baal JOAM, van Noorden CJF, Nieuwland R, et al. Development of Peritoneal Carcinomatosis in Epithelial Ovarian Cancer: A Review. *J Histochem Cytochem.* 2018;66(2):67-83. doi:10.1369/0022155417742897
2. Elias D, Lefevre JH, Chevalier J, et al. Complete cytoreductive surgery plus intraperitoneal chemohyperthermia with oxaliplatin for peritoneal carcinomatosis of colorectal origin. *J Clin Oncol.* 2009;27(5):681-685. doi:10.1200/JCO.2008.19.7160
3. Bakrin N, Bereder JM, Decullier E, et al. Peritoneal carcinomatosis treated with cytoreductive surgery and Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy (HIPEC) for advanced ovarian carcinoma: a French multicentre retrospective cohort study of 566 patients. *Eur J Surg Oncol.* 2013;39(12):1435-1443. doi:10.1016/j.ejso.2013.09.030
4. Ansaloni L, Agnoletti V, Amadori A, et al. Evaluation of extensive cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) in patients with advanced epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2012;22(5):778-785. doi:10.1097/IGC.0b013e31824d836c
5. Baratti D, Kusamura S, Cabras AD, Deraco M. Cytoreductive surgery with selective versus complete parietal peritonectomy followed by hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in patients with diffuse malignant peritoneal mesothelioma: a controlled study. *Ann Surg Oncol.* 2012;19(5):1416-1424. doi:10.1245/s10434-012-2237-2
6. Sugarbaker PH. New standard of care for appendiceal epithelial neoplasm with pseudomyxoma peritonei syndrome. *Lancet Oncol.* 2006;1:69-76.
7. Sugarbaker PH. Peritonectomy procedures. *Ann Surg.* 1995;221(1):29-42. doi:10.1097/00000658-199501000-00004
8. Zunino B, Rubio-Patiño C, Villa E, et al. Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy leads to an anticancer immune response via exposure of cell surface heat shock protein 90. *Oncogene.* 2016;35(2):261-268. doi:10.1038/onc.2015.82
9. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2017. *CA Cancer J Clin* 2017; 67:7-30.
10. Lluca JA, Martinez-Ramos D, Escrig-Sos J, Torrella-Ramos A, Herraiz JL, et al. Current status of ovarian cancer in the Spanish Province of Castellon. Prognostic factors in observed and relative survival. A population cancer registry-based study between 2004 and 2008. *Prog Obstet Gynecol.* 2014;57:405-12.

11. G.D. Alletti , et al., Aggressive surgical effort and improved survival in advanced-stage ovarian cancer, *Obstet. Gynecol.* 107 (1) (2006) 77-85.
12. A.P. Heintz, et al., Carcinoma of the ovary FIGO 26TH Annual Report on the Result of Treatment in Gynecological Cancer, *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 95 (2006) S161-92 Suppl 1.
13. R.F. Ozols, et al., Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer: a gynecologic oncology group study, *J. Clin. Oncol.* 21 (17) (2003) 3194-3200.
14. V.D. Sioulas, et al., Optimal primary management of bulky stage IIIC ovarian, fallopian tube and peritoneal carcinoma: are the only options complete gross resection at primary debulking surgery or neoadjuvant chemotherapy? *Gynecol. Oncol.* 145 (1) (2017) 15-20.
15. S. Wallace, et al., Efforts at maximal cytoreduction improve survival in ovarian cancer patients, even when complete gross resection is not feasible, *Gynecol. Oncol.* 145 (1) (2017) 21-26.
16. du Bois A, Reuss A, Pujade-Lauraine E, Harter P, Ray-Coquard I, Pfisterer J. Role of surgical outcome as prognostic factor in advanced epithelial ovarian cancer: a combined exploratory analysis of 3 prospectively randomized phase 3 multicenter trials: by the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Studiengruppe Ovarialkarzinom (AGO-OVAR) and the Groupe d'Investigateurs Nationaux Pour les Etudes des Cancers de l'Ovaire (GINECO). *Cancer.* 2009;115:1234-44.
17. Downs-Canner S, Berkey S, Delgoffe GM, et al. Suppressive IL-17A<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> and ex-Th17 IL-17A<sup>neg</sup>Foxp3<sup>+</sup> T<sub>reg</sub> cells are a source of tumour-associated T<sub>reg</sub> cells. *Nat Commun.* 2017;8:14649. Published 2017 Mar 14. doi:10.1038/ncomms14649
18. Santoiemma PP, Powell DJ Jr. Tumor infiltrating lymphocytes in ovarian cancer. *Cancer Biol Ther.* 2015;16(6):807-820. doi:10.1080/15384047.2015.1040960
19. Browning L, Patel MR, Horvath EB, Tawara K, Jorcyk CL. IL-6 and ovarian cancer: inflammatory cytokines in promotion of metastasis. *Cancer Manag Res.* 2018;10:6685-6693. Published 2018 Dec 5. doi:10.2147/CMAR.S179189
20. Macciò A, Madeddu C. Inflammation and ovarian cancer. *Cytokine.* 2012;58(2):133-147. doi:10.1016/j.cyto.2012.01.015