

Esami di ammissione dottorato di ricerca in Oncologia e Chirurgie Sperimentali

(Indirizzo: Scienze Stomatologiche e Chirurgia Cervico-Facciale)

XXXVII Ciclo – Progetto di ricerca di Martina Coppini

Titolo specifico del progetto di ricerca:

Studio di biomarcatori salivari per la diagnosi precoce del cancro orale.

Stato dell'arte:

Il cancro orale è l'undicesimo tumore maligno più frequente a livello mondiale⁽¹⁾. L'incidenza annuale varia in base all'area geografica e questa variazione è strettamente relazionata allo stile di vita delle diverse popolazioni. L'età media al momento della diagnosi è di 60 anni, con una tendenza globale in aumento nelle persone più giovani⁽²⁾.

Nonostante il carcinoma orale si localizzi in zone facilmente ispezionabili, nella maggior parte dei casi questo tipo di tumore viene diagnosticato soltanto in stadi avanzati, quando la prognosi è sfavorevole.

Il cancro è una malattia multifattoriale alla cui base vi è un'alterazione nel ciclo riproduttivo cellulare legata a un danno nella catena del DNA irreversibile causato da alcune sostanze, definite cancerogene, che hanno la capacità di indurre queste alterazioni. Alcuni stili di vita possono configurare delle condizioni di rischio importanti ai fini dell'insorgenza del carcinoma orale, tra questi i più studiati sono il fumo e l'abuso di bevande alcoliche. Tra gli altri fattori di rischio vanno menzionati anche l'esposizione ai raggi UV e determinate infezioni, tra cui la Candida Albicans e il Papillomavirus umano.

Nella maggior parte dei casi il carcinoma orale è preceduto da lesioni potenzialmente maligna.⁽³⁾

La Organizzazione Mondiale della Salute (OMS) definisce una lesione potenzialmente maligna come quella alterazione morfologica della mucosa orale a livello della quale l'insorgenza di un carcinoma risulta statisticamente più frequente rispetto al tessuto sano circostante. Le più frequenti tra questo gruppo di lesioni orali sono la leucoplachia, l'eritroplachia e l'eritroleucoplachie⁽⁴⁾.

Attualmente, la biopsia e successivo esame istopatologico rappresentano il "Gold Standard" per la diagnosi delle lesioni potenzialmente maligne e del carcinoma del cavo orale.

Esiste un'altra tecnologia promettente, chiamata biopsia liquida, che consente la rilevazione di cellule tumorali circolanti (CTC) e frammenti di DNA tumorale dalla saliva, consentendo in tal modo una diagnosi precoce non invasiva di vari tumori.⁽⁵⁾

L'utilizzo della saliva come un biofluido ha molti vantaggi, tra cui la rapidità e semplicità di campionamento e il basso costo.⁽⁶⁾

Attualmente, nella saliva sono stati studiati marcatori tumorali utili per la diagnosi precoce del cancro orale, del pancreas, del seno, dei polmoni o dell'apparato digerente.⁽⁷⁾

Un biomarcatore può essere definito come un parametro biologico misurabile e quantificabile che può servire come un indicatore di salute, di uno stato patologico, esposizione ambientale o risposta farmacologica a un intervento terapeutico.⁽⁸⁾

In pazienti con carcinoma orale diagnosticato sono stati riscontrati tre tipi di marcatori tumorali, tra cui Cyfra 21-1, anti polipeptide tissutale gen (TPA) e antigene del cancro CA-125. In particolare, Cyfra-21-1 è presente in pazienti con disturbi potenzialmente maligni e maligni del cavo orale.^(9,10)

Sarebbe interessante verificare se dall'analisi di campioni di saliva di pazienti affetti da cancro orale e lesioni potenzialmente maligne, si potesse verificare la presenza di biomarcatori salivari. Lo studio di un campione biologico, per il quale il campionamento non richiede atti invasivi, come la saliva potrebbe fornire non solo un nuovo approccio per lo screening e la diagnosi precoce di lesioni orali maligne o potenzialmente maligne, ma anche per il follow-up dei pazienti già affetti da cancro orale.

Obiettivi

- Eseguire l'analisi qualitativa e quantitativa di marcatori salivari presenti in campioni biologici prelevati da pazienti affetti da carcinoma orale.
- Eseguire l'analisi qualitativa e quantitativa di marcatori salivari presenti in campioni biologici prelevati da pazienti affetti da lesioni potenzialmente maligne.
- Confrontare i risultati ottenuti con i dati raccolti da pazienti sani.

Obiettivi secondari

- Analisi della letteratura scientifica nazionale ed internazionale riguardo i diversi metodi di diagnosi del cancro orale.

Obiettivi opzionali

- Eseguire l'analisi qualitativa e quantitativa di marcatori salivari presenti in campioni biologici prelevati da pazienti affetti da carcinoma orale nel periodo di follow-up successivo alla terapia medica-chirurgica

Disegno dello studio

Lo studio sarà uno studio longitudinale prospettico caso-controllo, con un primo gruppo test (K), formato da pazienti affetti da cancro orale, un secondo gruppo test (P), formato da pazienti affetti da lesioni potenzialmente maligne e un gruppo Controllo (K), formato da pazienti clinicamente sani.

Pazienti e Metodi

Tutte le fasi di questo studio verranno eseguite presso il Dipartimento di Discipline Chirurgiche, Oncologiche Stomatologiche (DiChirOnS) e presso l'ambulatorio di Medicina Orale dell'AOUP "Paolo Giaccone" Palermo.

Dopo approvazione dello studio da parte del comitato etico del Policlinico, si inizierà l'arruolamento dei pazienti secondo i criteri di inclusione:

- 1) diagnosi di carcinoma squamoso del cavo orale confermato a livello istologico

2) assenza di precedente trattamento chemio-radioterapico

3) assenza di infezione da HPV dimostrata a livello istologico. Saranno invece esclusi casi di tumori delle ghiandole salivari e di carcinoma squamoso cutaneo.

Dopo la raccolta dei dati anamnestici, i pazienti saranno sottoposti ad una visita odontoiatrica in cui si valuterà lo stato di salute orale, la presenza di lesioni cliniche, si eseguiranno esami radiografici ,risonanza magnetica, biopsia, analisi istologiche , prelievo del campione di saliva e follow up.

Le analisi istopatologiche saranno eseguiti presso l'UO di Anatomia patologica dell'AOUP "P.Giaccone" di Palermo.

L'analisi della saliva sarà eseguita presso l'UO di Oncologia Medica dell'AOUP "P.Giaccone" di Palermo.

Analisi statistica

Su tutti i dati verrà effettuata un'analisi descrittiva. Nello specifico le variabili quantitative saranno riassunte con medie, mediane, deviazioni standard e range. Le variabili qualitative verranno riassunte con distribuzioni di frequenza.

Il progetto di ricerca verrà diviso in 4 Work Packages, integrati funzionalmente e cronologicamente. I Work Packages a loro volta saranno suddivisi in una o più task da seguire.

Work Package 1: Coordinamento del progetto e continuo aggiornamento della letteratura.

- WP1/Task1:Coordinamento del progetto di ricerca attraverso la redazione di diario giornaliero.
- WP1/Task2: Ricerca elettronica degli articoli scientifici effettuata tramite il database di PubMed , con le parole chiave : *oral cancer, saliva, salivary marker, early diagnosis of oral carcinoma, liquid biopsy.*

Work Package 2: Reclutamento pazienti e campionamento saliva

- WP2/Task1 Reclutamento pazienti.

Previa approvazione del Comitato Etico dell'A.O.U.P. "Paolo Giaccone" di Palermo, i pazienti saranno reclutati consecutivamente presso il Dipartimento di DiChirOnS e presso il reparto di Medicina Orale dell'AOUP "Paolo Giaccone" Palermo.

- Esami strumentali, biopsia e analisi istologiche.

Work Package 3: Prelievo di saliva e studio di marcatori salivari.

Work Package 4: Analisi statistica dati.

WP4/Task 1 : Analisi dei dati raccolti di WP2 tra il gruppo T e il gruppo K.

WP4/Task 2 : Confronto dei risultati ottenuti nei WP2 e WP3 del gruppo T con dati presenti in letteratura.

Confrontare risultati ottenuti mediante il campione di saliva e quelli ottenuti mediante biopsia)

Punti di verifica

Durante i 36 mesi del progetto di ricerca si valuteranno i progressi della ricerca attraverso punti di verifica (tabella 1) suddivisi nei sei semestri.

Fasi progetto di ricerca	Work package	Punti di verifica
Fine I semestre	WP1, WP2	<ul style="list-style-type: none">• Controllo procedure e coordinamento da parte del tutor• Reclutamento pazienti gruppo T e C• Fase clinica• Monitoraggio e registrazione indici e parametri• Analisi obiettivi opzionali
Fine II semestre	WP1, WP2	<ul style="list-style-type: none">• Controllo procedure e coordinamento da parte del tutor• Reclutamento pazienti gruppo T e C Fase clinica• Monitoraggio e registrazione indici e parametri• Analisi obiettivi opzionali
Fine III semestre	WP1, WP2	<ul style="list-style-type: none">• Controllo procedure e coordinamento da parte del tutor• Reclutamento pazienti gruppo T e C Fase clinica• Monitoraggio e registrazione indici e parametri• Analisi obiettivi opzionali
Fine IV semestre	WP1, WP2	<ul style="list-style-type: none">• Controllo procedure e coordinamento da parte del tutor• Reclutamento pazienti gruppo T e C• Fase clinica• Monitoraggio e registrazione indici e parametri• Analisi obiettivi opzionali• Revisione sistematica dati presenti in letteratura su ONJ
Fine V semestre	WP1, WP2, WP3	<ul style="list-style-type: none">• Controllo procedure e coordinamento da parte del tutor• Monitoraggio e registrazione indici e parametri• Revisione sistematica dati presenti in letteratura su ONJ• Submission articoli scientifici
Fine VI semestre	WP1, WP2, WP3, WP4	<ul style="list-style-type: none">• Controllo procedure e coordinamento da parte del tutor• Monitoraggio e registrazione indici e parametri• Revisione sistematica dati presenti in letteratura su ONJ• Submission articoli scientifici• Analisi dei dati raccolti di WP2 tra il gruppo T e il gruppo K.• Confronto dei risultati ottenuti nei WP2 e WP3 del gruppo T con dati presenti in letteratura.

Tabella 1: Punti di verifica.

Risultati attesi

Attraverso questo studio si potrà valutare l'utilizzo di marcatori salivari come metodica non invasiva che potrà essere utilizzata in fase diagnostica e di follow-up di pazienti che presentano carcinoma orale o lesioni potenzialmente maligne.

Ricadute

Grazie alla solidità scientifica di questo studio longitudinale prospettico caso-controllo e al numero statisticamente significativo di pazienti arruolati, si potrebbe standardizzare la tecnica dello studio del campione di saliva e integrarla come metodo diagnostico nei protocolli nazionali ed internazionali.

La validazione di un nuovo protocollo in cui si dimostra l'efficienza dell'associazione dei marcatori salivari con il carcinoma orale consentirebbe l'introduzione di un potenziale *Gold Standard* nella diagnosi del cancro orale.

Prodotti del progetto di ricerca

Al termine del progetto si effettuerà la divulgazione dei dati attraverso la presentazione a congressi nazionali ed internazionali dei risultati della ricerca e la pubblicazione di articoli su riviste di rilevanza nazionale e internazionale.

Bibliografia

1. Ghantous Y, Abu Elnaaj I. [GLOBAL INCIDENCE AND RISK FACTORS OF ORAL CANCER]. Harefuah. 2017 Oct;156(10):645–9.
2. Ng JH, Iyer NG, Tan M-H, Edgren G. Changing epidemiology of oral squamous cell carcinoma of the tongue: A global study. Head Neck. 39(2):297–304.
3. Ghosh S, Pal S, Ghatak S, Saha S, Biswas S, Srivastava P. A clinicopathologic and epidemiologic study of chronic white lesions in the oral mucosa. Ear Nose Throat J. 2017 Aug;96(8):E13–7.
4. Panwar A, Lindau R, Wieland A. Management for premalignant lesions of the oral cavity. Expert Rev Anticancer Ther. 2014 Mar;14(3):349–57.
5. Hofman P. Liquid Biopsy and Therapeutic Targets: Present and Future Issues in Thoracic Oncology. Cancers [Internet]. 2017 Nov 10 [cited 2018 Jul 19];9(11). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5704172/>
6. Buczko P, Zalewska A, Szarmach I. Saliva and oxidative stress in oral cavity and in some systemic disorders. J Physiol Pharmacol Off J Pol Physiol Soc. 2015 Feb;66(1):3–9.

7. Mikkonen JJW, Singh SP, Herrala M, Lappalainen R, Myllymaa S, Kullaa AM. Salivary metabolomics in the diagnosis of oral cancer and periodontal diseases. *J Periodontal Res.* 2016 Aug;51(4):431–7.
8. Spielmann N, Wong DT. Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives. *Oral Dis.* 2011 May;17(4):345–54.
9. Nagler R, Bahar G, Shpitzer T, Feinmesser R. Concomitant analysis of salivary tumor markers- a new diagnostic tool for oral cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2006 Jul 1;12(13):3979–84.
10. Cheng Y-SL, Rees T, Wright J. A review of research on salivary biomarkers for oral cancer detection. *Clin Transl Med.* 2014 Feb 24;3(1):3.

Motira Coppini