

Valutazione dei fattori prognostici nel cancro coloretale: grading, staging e caratteristiche genetiche in 334 casi

M. BRULATTI

U.O. Chirurgia Generale ad Indirizzo Oncologico, Dipartimento di Scienze Oncologiche
Ospedale Bellaria - AUSL di Bologna

RIASSUNTO: Valutazione dei fattori prognostici nel cancro coloretale: grading; staging e caratteristiche genetiche in 334 casi.

M. BRULATTI

Obiettivo: Scopo del presente studio è l'analisi dei fattori prognostici nel cancro coloretale radicalmente operato.

Metodi: Sono stati analizzati i risultati relativi a 334 pazienti operati radicalmente (RO) per cancro coloretale in un periodo di due anni e mezzo: 195 uomini e 139 donne, di età media di 68.5 anni. I pezzi operatori sono stati esaminati per il grading, lo staging e, tramite analisi del DNA con tecnica PCR per lo studio genetico dei markers microsatellitari: i risultati sono stati espressi in tumore stabile (MSS: nessun markers instabile), MSI-LOW (< al 40%, bassa instabilità) e MSI-HIGH (\geq al 40%, alta instabilità). La terapia adiuvante è stata eseguita secondo i protocolli internazionali; il follow-up, disponibile per 318 pazienti, è stato in media di 49 mesi.

Risultati: La sopravvivenza libera da malattia è stata del 60% ed è risultata per i vari fattori esaminati: grading G1 75%, G2 62% e G3 34%; stadio I 90%, II 68%, III 45%, IV 7%; MSS 56%, MSI-LOW 54%, MSI-HIGH 60%; la correlazione fra i dati istologici e quelli genetici mostra che la sopravvivenza è risultata significativamente migliore ($p < 0.05$) per i tumori instabili nei G2 (MSS 59%, MSI-HIGH 81%), negli stadi I e II (MSS 75%, MSI-HIGH 96%), ma nettamente peggiore ($p < 0.05$) negli stadi III-IV (MSS 34%, MSI-HIGH 0%).

Conclusioni: I principali fattori prognostici nel cancro coloretale operato sono senza dubbio quelli legati alle caratteristiche istopatologiche, grading e staging, ma dai nostri dati emerge chiaramente che anche i fattori genetici ed in particolare lo stato microsatellitare sono cruciali nel determinare la prognosi.

PAROLE CHIAVE: cancro coloretale, prognosi, stadiazione, genetica.

SUMMARY: Assessment of prognostic factors in colorectal cancer: grading, staging and genetic features in 334 cases.

M. BRULATTI

Aim: The aim of this study is the assessment of prognostic factors in resected colorectal cancer. **Methods:** The outcome of 334 patients, 195 men and 139 women of median age of 68.5 years, radically resected (RO) for colorectal cancer from december 2003 to june 2006 was examined for pathologic and genetic characteristics; all resected specimens were evaluated for grading, staging and, tested for markers of microsatellite instability with the examination of extracted DNA by polymerase chain reaction (PCR): results are expressed in MSS no instable markers, MSI-LOW < 40% of instable markers and MSI-HIGH \geq of instable markers. Adjuvant therapy was performed in selected patients; median follow-up, available for 318 patients, was of 49 months

Results: Overall disease free survival was of 60%; based on the pathologic and genetic correlations, survival was for grading: G1 75%, G2 62%, G3 34%; for staging: I 90%, II 68%, III 45%, IV 7%; for MS status: MSS 59%, MSI-LOW 54%, MSI-HIGH 60%. If pathologic and genetic correlations are considered, the data showed that disease-free survival is significantly better for MSI-HIGH tumors in G2 (MSS 59%, MSI-HIGH 81%) and in stage I-II (MSS 75%, MSI-HIGH 96%), but significantly worse for stage III-IV (MSS 34%, MSI-HIGH 0%).

Conclusion: Our data showed that grading and staging are the most important prognostic factors in radically resected colorectal cancer, but correlation between pathologic and genetic features, showed that microsatellite status of tumors is a determining factor that must be carefully evaluated in prognosis in order to improve treatment results.

KEY WORDS: colorectal cancer, prognosis, staging, grading, genetic.

Introduzione

Il cancro coloretale (CCR) rappresenta uno dei più comuni tumori che affliggono l'uomo; i dati indicano che si trova al terzo posto come nuovi casi diagnosticati nel mondo e la seconda causa di morte cancro-correlata in molti paesi occidentali (1). In Italia i dati sono in linea con quelli degli altri paesi occidentali: in termini di nuove diagnosi è uno dei tumori più importanti e in quanto a mortalità è responsabile dell'11%

Corrispondenza Autore:
Dott. Mauro Brulatti
Chirurgia Generale
Ospedale Bellaria
Via Altura, 3 - 40139 Bologna
E-mail: brulatti@hotmail.com

negli uomini e del 14% nelle donne su tutte le morti da neoplasia (2). Le strategie terapeutiche, un tempo basate quasi esclusivamente sulla centralità della chirurgia, oggi si avvalgono di trattamenti integrati sempre più efficaci nel ridurre la mortalità (3, 5). Queste ultime, sia di tipo neoadiuvante preoperatorie che adiu-vante postoperatorie, sono strettamente dipendenti dalla stadiazione patologica della neoplasia, che rappresenta quindi, a tutt'oggi il fattore determinante sia nelle scelte terapeutiche integrate sia nella valutazione prognostica a distanza (3-5). Il CCR è anche una malattia disomogenea dal punto di vista genetico e presenta differenti profili fenotipici, che possono tradursi in peculiari caratteristiche cliniche, patologiche e soprattutto prognostiche: l'instabilità cromosomica (CIN) e l'instabilità microsatellitare (MSI) (6, 7). Lo studio dei fattori prognostici ai fini dei trattamenti integrati non può più basarsi quindi soltanto sulle caratteristiche e sulla stadiazione istopatologiche, ma deve tener conto anche della valutazione del profilo genetico (4, 8). Lo scopo del presente studio è quello di presentare i nostri dati su una serie consecutiva di pazienti operati per CCR, con un particolare riguardo alla valutazione integrata dei dati patologici e genetici ai fini della valutazione della prognosi.

Materiali e metodi

Dal dicembre 2003 al giugno 2006 sono stati operati presso la Chirurgia generale ad indirizzo oncologico dell'Ospedale Bellaria di Bologna 334 pazienti, sottoposti a resezione maggiore con intendimenti radicali (R0) affetti da adenocarcinoma del grosso intestino: si trattava di 195 uomini (58%) e 139 donne (42%), di età media di 68.5 anni (34-88); 234 neoplasie erano localizzate al colon (70%) e 100 al retto (30%). Tutti i pezzi operatori sono stati sottoposti all'esame anatomico e istopatologico completo per determinare il grado di differenziazione, secondo le indicazioni accettate dalla letteratura internazionale, e la stadiazione patologica della neoplasia, secondo la 6^a edizione del TNM; inoltre sono stati testati per le caratteristiche genetiche dello stato microsatellitare (MS): a questo fine il DNA è stato estratto dal tessuto fissato, amplificato e marcato tramite PCR (polymerase chain reaction) e i frammenti analizzati mediante elettroforesi capillare e sono state analizzate le sequenze per i seguenti dieci markers microsatellitari: BAT-25, BAT-26, BAT-40, NR-21, D18S58, NR24, TGFBR, D2S123, D5S346 e D17S250; i risultati, espressi in percentuale di instabilità sono stati espressi nel seguente modo: MSS = nessun marker instabile, MSI-LOW < al 40% di markers instabili, MSI-HIGH ≥ al 40% di markers instabili. I pazienti sono stati sottoposti a terapia neoadiuvante e

terapia adiu-vante secondo i protocolli internazionali in uso per questo tipo di neoplasia. Il follow-up medio è di 49 mesi (34-64); i dati di follow-up sono disponibili per 318 pazienti pari al 95,5%; nella tabella 1 sono riassunte le principali caratteristiche della casistica.

Risultati

Le caratteristiche patologiche di grado, stadio e quelle genetiche rilevate nei pezzi operatori asportati, sono riportate nella tabella 1: ben differenziati (G1) 9%, moderatamente differenziati (G2) 73%, scarsamente differenziati (G3) 18%; stadio TNM: I 29%, II 29%, III 26% e IV 16%; lo stato MS era: MSS 72%, MSI-LOW 17%, MSI-HIGH 11%. Nella tabella 2 sono correlate le principali caratteristiche cliniche e patologiche con le caratteristiche del profilo genetico dell'instabilità microsatellitare.

La sopravvivenza globale libera da malattia sui 318 pazienti con follow-up medio disponibile di 49 mesi e un range di 34-64 mesi, è stata del 57%. La sopravvivenza suddivisa per grado e stadio è stata secondo il grado: G1 75%, G2 62%, G3 34%; secondo lo stadio: I 90%, II 68%, III 45% e IV 7%; secondo lo stato MS: MSS 56%, MSI-LOW 54%, MSI-HIGH 60%. Nella correlazione fra grado, stadio e stato MS è emerso che i tumori MSI-HIGH rispetto a quelli MSS hanno una prognosi significativamente migliore nel G" (1005 vs 77%, p<0.05), negli stadi I e II (96% vs 75%, p<0.05), ma nettamente peggiore negli stadi III e IV (0% vs 34%, p<0.05), mentre i tumori MSI-LOW presentano in parte caratteristiche simili a quelli MSS, in parte caratteristiche intermedie fra MSS e MSI-HIGH (Tabelle 3 e 4).

TABELLA 1 - CARATTERISTICHE ISTOPATOLOGICHE E GENETICHE (MS STATUS).

Caratteristica	N. (%)
Grado di differenziazione	
G1 ben differenziato	32 (9%)
G2 moderatamente differenziato	243 (73%)
G3 scarsamente differenziato	59 (18%)
Stadio (TNM 6 ^a edizione)	
Stadio I	96 (29%)
Stadio II	96 (29%)
Stadio III	88 (26%)
Stadio IV	54 (16%)
Numero medio linfonodi per pezzo operatorio (range)	15.5 ± 7
Stato microsatellitare (MS)	
MSS	240 (72%)
MSI-LOW	59 (17%)
MSI-HIGH	35 (11%)

TABELLA 2 - CORRELAZIONI FRA LE CARATTERISTICHE CLINICHE, PATOLOGICHE E GENETICHE (MS STATUS).

Caratteristica	MSS	MSI-LOW	MSI-HIGH
% sesso femminile	40%	36%	60%
% localizzazione destra	27%	20%	74%
% grado G3	15%	15%	37%
% tumori localmente avanzati (T3-T4)	66%	68%	75%
% tumori N+	41%	37%	31%
Numero medio linfonodi per pezzo operatorio	15 ± 8	13 ± 7	17 ± 9
% tumori M1	15%	20%	14%

TABELLA 3 - SOPRAVVIVENZA LIBERA DA MALATTIA AL FOLLOW-UP PER PATOLOGIA E GENETICA.

Caratteristica	%
Grado di differenziazione	
G1 ben differenziato	75%
G2 moderatamente differenziato	62%
G3 scarsamente differenziato	34%
Stadio (TNM 6 ^a edizione)	
Stadio I	90%
Stadio II	68%
Stadio III	45%
Stadio IV	7%
Stato MS	
MSS	56%
MSI-LOW	54%
MSI-HIGH	60%

Discussione

La stadiazione patologica secondo il TNM rimane a tutt'oggi il gold standard per una completa valutazione prognostica e soprattutto per l'indicazione alle terapie adiuvanti postoperatorie del CCR operato, mentre il grado di differenziazione è considerato un fattore prognostico addizionale (4, 9). La nostra esperienza, riportata nel presente studio, conferma questi dati con un progressivo decremento della sopravvivenza all'aumentare dello stadio e al peggioramento del grado di differenziazione, in linea con quanto riportato dalla letteratura internazionale. Lo studio del profilo genetico ha però dimostrato che può essere in grado di identifi-

TABELLA 4 - SOPRAVVIVENZA LIBERA DA MALATTIA SULLA BASE DELLE CORRELAZIONI PATOLOGICHE E GENETICHE.

Staging	MSS	MSI-LOW	MSI-HIGH
G1	77%	70%	100% [°]
G2	59%	63%	81% [*]
G3	39%	22%	30% [°]
Tutti gli stadi (I-IV)	56%	54%	60% [°]
Stadi I- II	75%	73%	96% [*]
Stadi III-IV	34%	35%	0% [*]

[°] p = NS
^{*} p < 0.05

care sottogruppi di tumori con un comportamento più o meno aggressivo o differenti risposte ai trattamenti integrati, influenzando in tal modo la prognosi a distanza (7, 8). Lo studio della instabilità microsatellitare è senza dubbio uno dei più promettenti, perché è in grado di identificare una serie di CCRs a comportamento differente. Il profilo MSI-HIGH presenta caratteristiche cliniche e patologiche decisamente differenti dal profilo MSS: è più frequente nelle donne e nelle localizzazioni coliche di destra, ha una maggiore tendenza a presentarsi scarsamente differenziato e con una maggiore tendenza alla aggressività locale e meno alla diffusione linfonodale, anche se il numero di linfonodi ritrovati nei pezzi operatori è nettamente superiore; inoltre presenta una notevole grado di resistenza alle fluoropirimidine, che rappresentano ancora oggi la base di tutti i protocolli di terapia adiuvante; infine viene considerato avere una prognosi a distanza migliore (6, 11, 12). In realtà il nostro studio che correla i fattori patologici con quelli genetici, dimostra che i tumori MSI-HIGH presentano una prognosi nettamente migliore rispetto ai MSS solo negli stadi più precoci della malattia I e II, che normalmente non sono sottoposti a chemioterapia adiuvante postoperatoria; negli stadi più avanzati invece, normalmente sottoposti a chemioterapia adiuvante, la prognosi è nettamente peggiore, probabilmente proprio a causa della resistenza ai farmaci utilizzati, peculiarità legata alle caratteristiche genetiche del tumore (13). Questo dato, emerso in diversi studi, necessita ancora di conferme definitive, potrebbe rivelarsi utile nell'identificare tumori potenzialmente sensibili a differenti farmaci (8, 9, 11, 12).

Conclusioni

I dati che emergono da questo studio indicano chiaramente che, ai fini della prognosi, lo studio del profi-

lo genetico può affiancarsi utilmente al tradizionale studio anatomico e istopatologico nei CCRs operati: a nostro avviso e sulla base della nostra esperienza la determinazione dello stato microsatellitare dovrebbe diventare un esame di routine nello studio patologico e accuratamente valutato nell'ambito di strategie terapeutiche integrate.

Bibliografia

1. Parkin M, Bray F, Ferlay B et al. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer* 2001;153-156.
2. Grande E, Inghelmann R, Francisci S et al. Regional estimates of colorectal cancer burden in Italy. *Tumori* 2007;93:352-359.
3. Ponz de Leon M, Benatti P, Di Gregorio C et al. Staging and survival of colorectal cancer: are we making progress?. *Digest Liv Dis* 2000;32:312-317.
4. Zlobec I, Lugli A. Prognostic and predictive factors in colorectal cancer. *J Clin Pathol* 2008;61:561-569.
5. Adjuvant chemotherapy versus observation in patients with colorectal cancer: a randomized study. *Lancet* 2007;370:202-209.
6. Jass JR. Molecular heterogeneity of colorectal cancer: implications for cancer control. *Surg Oncol* 2007;16:57-59.
7. Soreide K, Janssen EAM, Soiland H et al. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Br J Surg* 2006;93:395-46.
8. Brulatti M, Tallini G, Turchetti D et al. L'instabilità dei microsatelliti nel cancro coloretale: correlazioni clinicopatologiche e fattori prognostici in 300 casi. *Min Chir* 2008;63 (Suppl 1 N. 3):43-46.
9. Chang SC, Lin JK, Lin TC et al. Loss of heterozygosity: an independent prognostic factor of colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2005;11:778-784.
10. Monga DK, O'Connell MJ. Surgical adjuvant therapy for colorectal cancer: current approaches and future directions. *Ann Surg Pathol* 2006;13:1021-1034.
11. Walther, A, Houston R, Tomlinson I: Association between chromosomal instability and prognosis in colorectal cancer: a meta-analysis. *Gut* 2008;57:941-950.
12. Bennati P, Gafa R, Barana D et al. Microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *Clin Cancer Res* 2008;11:8332-8340.
13. 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. *New Eng J Med* 2003;349:247-257.