

## **Protocollo: “PROFILING”**

### **Studio prospettico per la determinazione del profilo molecolare di resistenza alle “terapie target” in pazienti con tumori solidi**

<b>Tipo di studio</b>	Spontaneo, osservazionale, prospettico, multicentrico, non profit
<b>Durata</b>	5 anni
<b>Sperimentatore principale</b>	Prof. Paolo Maria Comoglio. Direttore scientifico pro-tempore FPO-IRCC
<b>Co-Sperimentatore principale</b>	Prof. Livio Trusolino, Dip.to di Scienze Oncologiche, Università degli studi di Torino.
<b>N° protocollo</b>	001-IRCC-00IIS-10
<b>Versione (Data):</b>	V 3.0; (17/11/2011)
<b>Promotore</b>	Prof. Paolo Maria Comoglio.
<b>Centro Coordinatore</b>	FPO-IRCC, Istituto per la Ricerca e la Cura del Cancro. Candiolo, Torino.
<b>Centri partecipanti</b>	10
	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Ospedale Mauriziano Umberto I – Torino.</li><li>2. A.O.U. San Giovanni Battista Molinette – Torino.</li><li>3. Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta – Milano.</li><li>4. Azienda Ospedaliera Niguarda Ca'Granda – Milano.</li><li>5. Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo – Pavia.</li><li>6. Ospedale Oncologico Businco – Cagliari</li><li>7. Azienda ospedaliero universitaria di Cagliari.</li><li>8. Azienda Ospedaliera di Padova</li><li>9. Istituto Oncologico Veneto – Padova</li><li>10. Policlinico S.Orsola Malpighi – Bologna. A.O.U Santa Maria della Misericordia – Udine</li></ol>

## **Centro IRCC-FPO: Centro Coordinatore**

### **Sperimentatore principale:**

Prof. Paolo Maria Comoglio. Direttore scientifico pro-tempore FPO-IRCC

<b>Unità coinvolte</b>	<b>Nominativo</b>
Unità Coordinamento Trial Clinici	Dott. Silvia Marsoni
S.C.D.O. Chirurgia Oncologica	Dott. Michele De Simone
S.C.D.O. Ginecologia Oncologica	Dott. Riccardo Ponzzone
S.C.D.U. Oncologia Medica	Prof. Massimo Aglietta
S.C.D.O. Dermochirurgia	Dott. Franco Picciotto
S.C.D.O. Anatomia Patologica	Dott. Mauro Risio
S.C.D.O. Gastroenterologia ed endoscopia digestiva	Dott. Giovanni Galatola
S.C.D.O. Pneumologia	Dott. Angelo Albano

## **Centro: IRCC- Università degli studi di Torino**

### **Co-Sperimentatore principale:**

Prof. Livio Trusolino, Dip.to di Scienze Oncologiche, Università degli studi di Torino.

<b>Unità</b>	<b>Nominativo</b>
Dipartimento di Scienze Oncologiche - IRCC	Dott. Andrea Bertotti Prof. Alberto Bardelli Prof. Silvia Giordano Prof. Carla Boccaccio Prof. Maria Flavia Di Renzo Prof. Enzo Medico Prof. Luca Tamagnone Prof. Federico Bussolino

## **Altri centri partecipanti:**

<b>Ospedale Mauriziano Umberto I – Torino</b>	
Chirurgia epato-bilio-pancreatica e digestiva	Dott. Lorenzo Capussotti
Ginecologia	Dott. Piero Sismondi

<b>AOU S.Giovanni Battista Molinette - Torino</b>	
Chirurgia toraco-polmonare,	Dott. Enrico Ruffini
Chirurgia generale 8	Prof. Mauro Salizzoni

<b>Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta - Milano</b>	
Neurologia 8	Dott. Gaetano Finocchiaro

<b>Azienda Ospedaliera Niguarda Ca'Granda - Milano</b>	
Oncologia Falck	Prof. Salvatore Siena

<b>Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo - Pavia</b>	
Dip. Cardioracovascolare, Pneumologia	Dott. Giulia Maria Stella

<b>Ospedale Oncologico Businco - Cagliari</b>	
Dip.to Chirurgia Oncologica, Chirurgia Toracica	Dott. Renato Versace

<b>Azienda ospedaliero universitaria di Cagliari – presidio policlinico di Monserrato</b>	
Dip.to Scienze Chirurgiche, Chirurgia Generale	Prof. Giuseppe Casula

*(segue)*

<b>Azienda ospedaliera di Padova</b>	
Chirurgia Generale 2	Prof. Donato Nitti.
Anatomia Patologica	Prof. Massimo Rugge

<b>Istituto Oncologico Veneto</b>	
Oncologia 1	Dott. Vittorina Zagonel

<b>Policlinico S.Orsola Malpighi - Bologna</b>	
Oncologia Medica	Dott. Carmine Pinto
Anatomia Patologica	Dott. Walter Grigioni

<b>A.O.U. Santa Maria della Misericordia - Udine</b>	
Chirurgia Generale, Clinica Urologica	Dott. Bruno Frea
Anatomia Patologica	Dott. Stefano Pizzolitto

<b>1.0 SINOSSI</b>	<b>7</b>
<b>2.0 INTRODUZIONE E RAZIONALE</b>	<b>9</b>
2.1 STUDIO GENETICO-MOLECOLARE	9
2.2 OBBIETTIVI DELLO STUDIO	11
<b>3.0 METODOLOGIA E DESCRIZIONE DELLA RICERCA</b>	<b>11</b>
3.1 DISEGNO GENERALE DELLO STUDIO	11
3.2 CENTRI E/O STRUTTURE COINVOLTE	11
3.3 PROCEDURE PER LA RACCOLTA DI MATERIALE BIOLOGICO	12
3.4 STUDIO DELLE FIRME MOLECOLARI	13
3.5 STUDIO DELLE CORRELAZIONI TRA STATUS GENETICO E RISPOSTA A FARMACI MOLECOLARMENTE MIRATI IN MODELLI PRE-CLINICI	14
<b>4.0 RECLUTAMENTO</b>	<b>15</b>
<b>5.0 CALCOLO DEL CAMPIONE E RACCOLTA DATI</b>	<b>15</b>
5.1 RACCOLTA DATI DEI PAZIENTI	15
<b>6.0 INFORMATIVA AL PAZIENTE, CONSENSO INFORMATO E INFORMATIVA SULLA PRIVACY</b>	<b>15</b>
6.1 RISERVATEZZA DEI DATI E CONFIDENZIALITÀ DELLE INFORMAZIONI	16
6.2 UTILIZZO DEL MATERIALE BIOLOGICO	17
<b>7.0 CONSERVAZIONE E DURATA DELLA CONSERVAZIONE DEL MATERIALE BIOLOGICO</b>	<b>17</b>
<b>8.0 ASSICURAZIONE</b>	<b>17</b>
<b>9.0 BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE</b>	<b>18</b>

## 1.0 SINOSSI

Introduzione e razionale	I nuovi farmaci mirati richiedono la stratificazione dei pazienti attraverso uno studio genetico - molecolare dei tumori che dimostri l'efficacia del singolo farmaco verso il singolo tumore (medicina personalizzata).
Metodologia e Descrizione della ricerca	Lo studio prevede che per ciascun paziente partecipante, venga ottenuto del materiale biologico (tessuto tumorale "avanzato" da quello utilizzato per le procedure diagnostiche, un campione di sangue, un campione di saliva). Il materiale biologico verrà processato per permetterne l'analisi genetico - molecolare, e in alcuni casi successivamente inoculato e propagato in animali immuno-compromessi per gli studi di definizione della risposta a selezionati farmaci "target".
Criteri di inclusione	Pazienti con tumori primari del colon-retto o con metastasi epatiche sincrone o metacrone. Tumori della Prostata, tumori della testa e del collo, tumori primari dello stomaco, glioblastomi, tumori primari dell'ovaio o con metastasi, tumori primari del polmone, tumori primari della mammella, tumori rari definiti da incidenza $\leq 5 \times 10^{-6}$ , sarcomi e melanomi metastatici. Pazienti con disseminazione peritoneale o pleurica di cellule tumorali prelevate in corso di paracentesi o toracentesi diagnostica o terapeutica o palliativa. Pazienti affetti da patologie linf e mieloproliferative. Pazienti che abbiano firmato il Consenso Informato scritto.
Calcolo del campione e raccolta dati	Il reclutamento si protrarrà per 5 anni dal 1 gennaio 2011. Si stima, che verranno arruolati 200 pazienti/anno per 5 anni. Questo dovrebbe assicurare un "sample size" sufficiente almeno per le patologie ad alta frequenza. Trattandosi di uno studio "hypothesis generating" non è possibile tuttavia definire con più precisione, al momento, l'entità del campionamento necessario.
Informativa al paziente, consenso informato e informativa sulla privacy	La partecipazione al protocollo richiede il consenso informato scritto del paziente. Tutte le informazioni personali, saranno soggette alle norme sulla privacy (Decreto legislativo 30 giugno 2003, n. 196 aggiornato in base ai successivi provvedimenti).
Conservazione e durata della conservazione del materiale biologico	Il materiale biologico sarà archiviato per 15 anni (5 di reclutamento, 10 di follow-up) presso il Dipartimento di Scienze Oncologiche della Università di Torino (sede IRCC) che potrà eventualmente delegare lo stoccaggio del materiale crioconservato a terzi (Biorep S.r.l.) per ragioni di sicurezza e sotto controllo di qualità.
Assicurazione	Lo studio non richiede una specifica copertura assicurativa,

	(Determinazione AIFA del 20 marzo 2008).
--	--



## **2.0 INTRODUZIONE E RAZIONALE**

La recente introduzione nella diagnosi e nella terapia dei tumori di tecnologie sofisticate ad alta processività ha permesso di riconsiderare aspetti diagnostici e terapeutici. In particolare i nuovi farmaci mirati richiedono la stratificazione dei pazienti attraverso uno studio genetico - molecolare dei tumori che dimostri l'efficacia del singolo farmaco verso il singolo tumore (medicina personalizzata). Pertanto uno studio molecolare dei tumori è preliminarmente necessario per introdurre nuovi parametri di valutazione.

Queste tecnologie sofisticate sono adesso disponibili presso il presidio IRCC di Candiolo: microarray di espressione, CGH su array ad alta densità, sequenziamento di nuova generazione robotizzato, RT-PCR quantitativa real-time ad alta processività (su piastre a 384 pozzetti o con carte microfluidiche e robotizzata), analisi morfologiche su larga scala mediante BD-PathwayHT, che permette di eseguire saggi in cellula singola in piastre da 96 pozzetti con microscopio confocale. Grazie a questi strumenti si rende finalmente possibile uno studio sistematico ed estremamente dettagliato dei tumori dei singoli pazienti. In aggiunta, la recente sperimentazione della propagazione di metastasi da carcinomi colorettali in animali immunocompromessi in cui è stato possibile valutare in fase preclinica la responsività del tumore a terapie innovative, suggerisce di provare a sviluppare questo sistema di propagazione, in teoria indefinito, per tumori di origine diversa.

## **2.1 STUDIO GENETICO-MOLECOLARE**

L'analisi mutazionale e lo studio delle firme molecolari (profili di espressione) dei tumori primitivi e delle metastasi serve a definire correlazioni tra genetica del tumore e firma molecolare e poi decorso clinico. Inoltre serve a definire la possibile risposta a terapie molecolarmente mirate. La recente introduzione nella terapia anti-neoplastica di inibitori capaci di bloccare selettivamente oncogeni attivati in modo aberrante, ha portato ad una importante riconsiderazione dei criteri predittivi di responsività terapeutica. Infatti la presenza o assenza di certe anomalie genetiche (mutazioni e/o amplificazioni di oncogeni o oncosoppressori) condiziona, a priori, il successo o meno delle terapie, in particolare di quelle con farmaci molecolarmente mirati. Inoltre, lesioni genetiche coesistenti (a carico di altri oncogeni o oncosoppressori) possono influenzare la risposta terapeutica grazie alla loro

capacità di ingenerare resistenza primaria o secondaria a uno specifico farmaco. Sulla base di queste considerazioni, l'analisi genetica dello stato mutazionale degli oncogeni per i quali sono disponibili inibitori mirati e la valutazione dei possibili determinanti di resistenza, si propongono come requisiti necessari per stratificare in sede di pre-trattamento i pazienti candidati a terapie con inibitori selettivi.

Pertanto la ricerca prevede di analizzare campioni tumorali eseguendo un profilo molecolare integrato comprendente profili di espressione genica con DNA microarray e ricerca di mutazioni genetiche somatiche a carico delle principali vie di trasduzione del segnale alterate in questa patologia.

Lo studio delle firme molecolari mira a definirne l'associazione con l'evoluzione invasivo - metastatica della malattia e la sua risposta alla terapia.

Le analisi genetiche somatiche sul campione tumorale hanno lo scopo di associare lo stato mutazionale con le firme molecolari. Inoltre poiché sono disponibili inibitori farmacologici altamente selettivi per alcuni oncogeni (per esempio EGFR e MET) e sono in fase di avanzato sviluppo per altri (per esempio PI3K), per questi geni in particolare e' necessaria la definizione dello stato mutazionale come marcatore predittivo di responsività terapeutica alla loro inibizione. L'analisi mutazione dei geni a valle nelle vie di trasduzione (RAS e RAF) permetterà di definire le cause di mancata risposta a terapie mirate contro i geni che sono a monte nelle vie di trasduzione.

## 2.2 OBIETTIVI DELLO STUDIO

Questo studio si iscrive in un più ampio progetto che esplora i meccanismi di resistenza primaria e secondaria ai correnti farmaci *target* contro le principali vie di trasduzione del segnale nei tumori solidi (Grant AIRC 5x1000 2010-2013). Gli obiettivi della parte di ricerca oggetto di questo studio sono:

1. analizzare il profilo molecolare di selezionati tumori solidi
2. mettere a confronto la firma molecolare del tumore dei pazienti con l'outcome della terapia a cui il paziente è stato sottoposto. **Si sottolinea che la scelta della specifica terapia antitumorale di ciascun paziente reclutato in questo studio è indipendente dallo studio medesimo e pertanto NON è oggetto del protocollo.**
3. verificare la potenziale riproducibilità/congruenza di alcune aspetti del profilo molecolare tumorale in altri campioni biologici quali il sangue e la saliva.
4. studiare le correlazioni tra status genetico e risposta a farmaci molecularmente mirati in modelli pre-clinici.

## 3.0 METODOLOGIA E DESCRIZIONE DELLA RICERCA

### 3.1 DISEGNO GENERALE DELLO STUDIO

Lo studio prevede che per ciascun paziente partecipante, previo ottenimento del Consenso Informato, venga ottenuto del materiale biologico (tessuto tumorale “avanzato” da quello utilizzato per le procedure diagnostiche, un campione di sangue, un campione di saliva). Il materiale biologico verrà processato per permetterne l'analisi genetico - molecolare, e in alcuni casi successivamente inoculato e propagato in animali immunocompromessi per gli studi di definizione della risposta a selezionati farmaci “target”.

I profili molecolari dei “pezzi” biologici, nonché i profili di sensibilità/resistenza ai trattamenti con farmaci target ottenuti sulle linee cellulari derivate e trattate in vitro/in vivo verranno correlate ai risultati riscontrati nei pazienti che riceveranno terapie standard per la loro patologia (non oggetto dello studio).

### 3.2 CENTRI E/O STRUTTURE COINVOLTE

Lo studio è multicentrico e sarà condotto, presso IRCC, nelle seguenti strutture:

- **biopsie in “tru-cut” e chirurgia, prelievi plasma e saliva:** Chirurgia Oncologica, Ginecologia, Dermochirurgia, e Servizio di Gastroenterologia-Endoscopia digestiva.

- **valutazione patologica e markers diagnostici:** Anatomia Patologica
- **valutazione delle caratteristiche cliniche e outcome terapeutico nel paziente; prelievi plasma e saliva:** Oncologia medica e Pneumologia
- **determinazione dei profili molecolari:** Dipartimento di Scienze Oncologiche Università di Torino – SEDE IRCC
- **uso di modelli sperimentali *in vivo/in vitro* :** Dipartimento di Scienze Oncologiche Università di Torino – sede IRCC
- **coordinamento dello studio:** Direzione Scientifica – IRCC

Per gli altri centri coinvolti si veda pagina 4.

### 3.3 PROCEDURE PER LA RACCOLTA DI MATERIALE BIOLOGICO

#### ***Tumore***

Il tessuto tumorale sarà confezionato dai chirurghi in sacchetti sterili, mantenuto in ghiaccio e trasportato nei locali di anatomia patologica per essere processato. Contemporaneamente i Ricercatori autorizzati alla manipolazione dei campioni verranno avvisati.

Il patologo procederà al prelievo del materiale biologico come segue, e lo consegnerà ai Ricercatori autorizzati:

- a. Frammenti di tumore (senza contaminazione di tessuto sano) da mantenere mediante soluzioni stabilizzanti l'RNA come l'RNAlater per analisi genomica e di espressione (n=2; tre o più se disponibili più di 5 frammenti).
- b. Frammenti di tumore (senza contaminazione di tessuto sano) non necrotico da mantenere in mezzo con antibiotici per xeno-trapianto (vedi dopo) (n=2; tre o più se disponibili più di 4 frammenti).
- c. Frammenti di tumore (anche strisce di confine sano-patologico) sottoposte a congelamento rapido e archiviate in una delle sedi del progetto.
- d. Frammenti di tessuto sano (non contaminato da tumore) da conservare in RNAlater come campione di controllo per analisi genomica e di espressione (n=2/5 secondo la disponibilità)
- e. In aggiunta alle inclusioni previste dalle normali procedure vigenti in Anatomia Patologica, il Patologo, se possibile, provvede all'inclusione in paraffina di un frammento supplementare da archiviare e rendere disponibile ai ricercatori.

f. Inoltre, i campioni inclusi in paraffina e/o crioconservati per la diagnosi potranno essere utilizzati dal Patologo o dai ricercatori sotto la sua diretta supervisione per analisi di immunoistochimica e/o di amplificazione genica tipo FISH, qualora necessari per i protocolli di ricerca.

### ***Sangue***

Prima dell'intervento, nel corso di un prelievo routinario per esami diagnostici (NON verranno quindi effettuati prelievi ad hoc) verranno raccolti ulteriori 30 ml di sangue in provette con anticoagulante, conservato in un frigorifero a +4 C circa, per non più di 2-3 gg e consegnato ai ricreatori di base che lo congeleranno. Dai globuli bianchi sarà estratto il DNA che verrà usato sia per verificare che eventuali mutazioni identificate nel tumore (vedi dopo) non siano presenti nella linea germinale del paziente sia per identificare mutazioni germinali. Inoltre sarà valutata la presenza di cellule tumorali circolanti e di DNA circolante.

### ***Saliva***

Durante la degenza prima dell'intervento verrà raccolto un campione di saliva in appositi contenitori.

## **3.4 STUDIO DELLE FIRME MOLECOLARI**

Il progetto prevede l'analisi di due tipi di firme molecolari, intese sia come alterazioni della espressione genica (RNA) sia come alterazioni molecolari somatiche a carico del DNA. A questo proposito a partire dal campione tumorale fresco, crioconservato o preservato in RNAlater, verranno estratti RNA e DNA che verranno analizzati mediante DNA microarray e sequenziamento ad alta capacità. I dati così ottenuti verranno correlati con i vari parametri clinici in studio, quali per esempio l'evoluzione metastatica e la responsività a trattamenti farmacologici. Si prevede di effettuare ulteriori validazioni dei risultati mediante PCR quantitativa.

Ove possibile, i dati generati verranno integrati con i profili di espressione genica già pubblicati, in un approccio di meta-analisi che consentirà di definire marcatori più attendibili e la cui performance sia indipendente dalla piattaforma tecnologica utilizzata. Verrà inoltre effettuata l'annotazione funzionale dei geni, mediante accesso a diversi database di annotazione genica, quali ad esempio Ensembl, Unigene, LocusLink, Gene Ontology, KEGG. Tale annotazione avrà lo scopo di

classificare in categorie funzionali i geni espressi nei tumori, in modo da comprendere quali possano essere i meccanismi alla base della progressione tumorale e della risposta ai farmaci.

Si deve prevedere che ulteriori conoscenze suggeriranno di condurre in futuro altre indagini genetiche e molecolari. Per questo motivo si prevede la conservazione non solo di alcuni frammenti congelati, ma anche di estratti molecolari da essi derivati: DNA, RNA e proteine.

Se la qualità e la quantità del materiale di partenza sarà sufficiente, i campioni saranno sottoposti anche ad analisi di numero di copie geniche e FISH e affiancata, se possibile, ad una validazione dei risultati mediante CGH su DNA array, per la più accurata valutazione di amplificazioni o delezioni geniche.

Limitatamente ai campioni provenienti da pazienti affetti da tumori della testa e del collo, parte del materiale verrà anche sottoposto ad indagini molecolari per la ricerca di HPV (Human papilloma virus).

### **3.5 STUDIO DELLE CORRELAZIONI TRA STATUS GENETICO E RISPOSTA A FARMACI MOLECOLARMENTE MIRATI IN MODELLI PRE-CLINICI**

Il progetto prevede il trattamento ex vivo con farmaci del tessuto tumorale. A questo scopo, parte del materiale prelevato sarà trapiantato sottocute o intraperitoneo o in sede ortotopica, in topi immunodepressi con l'obiettivo di generare delle linee primarie di tumori in xeno-trapianto. In questo modo, il topo fungerà da vettore per il mantenimento del tessuto tumorale umano e gli effetti terapeutici degli inibitori selezionati potranno essere valutati attraverso il monitoraggio dell'andamento clinico della malattia nel topo stesso. Sarà pertanto necessario preservare la vitalità del tessuto neoplastico per tutta la durata dell'esperimento. Inoltre, parte del materiale propagato nel topo dovrà essere sottoposto a un'accurata caratterizzazione istologica e molecolare. Da un lato, questo tipo di analisi ci permetterà di tenere sotto controllo l'entità e la qualità del viraggio genetico e istologico che il tumore subirà durante il processo di trapianto e attecchimento nel topo; dall'altro lato, le analisi genetiche condotte a priori ci forniranno le basi per identificare i criteri molecolari predittivi di risposta al trattamento con gli inibitori di chinasi.

## **4.0 RECLUTAMENTO**

Il reclutamento si protrarrà per 5 anni dal 1 marzo 2011.

I campioni biotici apparterranno a pazienti che verranno reclutati in base ai seguenti criteri:

- 1) Pazienti con tumori primari del colon-retto o con metastasi epatiche sincrone o metacrone, tumori della prostata, tumori della testa e del collo, tumori primari dello stomaco, tumori primari del fegato e delle vie biliari, glioblastomi, tumori primari dell'ovaio o con metastasi, tumori primari del polmone, tumori primari della mammella, tumori rari definiti da incidenza  $\leq 5 \times 10^{-6}$ , sarcomi e melanomi metastatici; pazienti con disseminazione peritoneale o pleurica di cellule tumorali prelevate in corso di paracentesi o toracentesi di tipo diagnostico o terapeutico o palliativo.
- 2) Pazienti affetti da patologie linfiche e mieloproliferative.
- 3) Pazienti che abbiano firmato il Consenso Informato scritto.

## **5.0 CALCOLO DEL CAMPIONE E RACCOLTA DATI**

Trattandosi di uno studio "hypothesis generating" non è possibile al momento definire l'entità del campionamento necessario per analisi statistiche specifiche. Sulla base dell'ampiezza della casistica di IRCC per le patologie considerate al punto 4.0 si stima che verranno arruolati da 150 a 200 pazienti/anno per 5 anni, quindi un totale di 750-1000 pazienti. Questo dovrebbe assicurare un "sample size" sufficiente almeno per le patologie ad altra frequenza.

### **5.1 RACCOLTA DATI DEI PAZIENTI**

Informazioni anagrafiche e cliniche sui pazienti verranno raccolti dai clinici per gli scopi di questa ricerca in una Scheda Raccolta Dati (Bozza allegata).

## **6.0 INFORMATIVA AL PAZIENTE, CONSENSO INFORMATO E INFORMATIVA SULLA PRIVACY**

La partecipazione al protocollo richiede il consenso informato scritto del paziente, come da allegato 1. Tutte le informazioni personali, cliniche e non, relative ai

pazienti in oggetto di studio, saranno soggette alle norme sulla privacy (Decreto legislativo 30 giugno 2003, n. 196 aggiornato in base ai successivi provvedimenti).

## **6.1 RISERVATEZZA DEI DATI E CONFIDENZIALITÀ DELLE INFORMAZIONI**

La riservatezza e la confidenzialità delle informazioni saranno garantite come segue:

- Verrà creato un registro informatico dei casi in studio (Registro) nel quale per ogni caso verranno registrati i codici di identificazione dei pazienti, le sue iniziali e la data di nascita e un corrispondente Codice Univoco Paziente (CUP) che identificherà in maniera univoca la paziente.
- Il registro risiede nel server dell'Unità di Coordinamento Clinico (UCC) ed è custodito sotto la responsabilità del dirigente pro-tempore di questa Unità e non può essere reso disponibile in alcun caso ad altre persone diverse dagli sperimentatori (clinici e non) e comunque sotto la vigilanza della commissione di cui al punto 6.2.
- Il CUP verrà utilizzato per identificare (con etichette) sia i campioni biologici che le schede per la registrazione dei dati.
- Il chirurgo o l'oncologo medico responsabile principale del paziente, o persona da essi delegata, ha la responsabilità di
  1. ottenere il Consenso informato
  2. iscrivere il paziente nel Registro
  3. assegnare il CUP
  4. apporre sulla Scheda Raccolta Dati l'etichetta con il numero CUP corrispondente.
- Quando il paziente viene registrato ed associato ad un CUP, un kit per la conservazione del materiale biologico corredato di etichette col CUP verrà consegnato, a opera della UCC al personale responsabile dei prelievi
- I dati relativi al profilo genico, alle caratteristiche ed alle risposte dei trattamenti verranno accoppiati ed analizzati solo in base al CUP.
- I dati saranno pubblicati solo in forma aggregata ed anonima
- I dati disaggregati per paziente non sono comunicabili se non al paziente stesso e su sua richiesta scritta. Nel caso ciò avvenisse, l'unica persona autorizzata a rilasciare i dati è il, responsabile clinico del paziente stesso a cui verranno rilasciate le informazioni recuperate tramite il Registro.



- I dati clinici potranno eventualmente essere trasmessi per via telematica e, sempre sotto la responsabilità di FPO-IRCC, affidati per l'elaborazione a terzi, localizzati nel territorio nazionale o nella comunità europea.

Il protocollo sarà condotto secondo le norme di buona pratica clinica e buona pratica di laboratorio.

Il protocollo sarà sottoposto per approvazione al Comitato Etico di riferimento dell'Istituzione proponente.

## **6.2 UTILIZZO DEL MATERIALE BIOLOGICO**

Viene istituita una commissione (Steering Committee) di 7 elementi così composta: i dirigenti pro-tempore delle unità di Chirurgia Oncologica, Oncologia Medica ed Anatomia Patologica o loro delegati; il direttore pro-tempore dell'unità di Coordinamento Clinico o suo delegato; 3 sperimentatori o loro delegati designati dal dipartimento di Scienze Oncologiche dell'Università degli studi di Torino.

Tale commissione vigilerà sulla custodia del Registro, sull'utilizzo dei dati in esso contenuti e delibererà, qualora necessario, su:

- 1) definizione delle priorità nell'utilizzo del materiale,
- 2) nuovi protocolli sperimentali al momento non prevedibili,
- 3) qualsiasi eventuale controversia.

## **7.0 CONSERVAZIONE E DURATA DELLA CONSERVAZIONE DEL MATERIALE BIOLOGICO**

Il materiale biologico sarà archiviato presso il Dipartimento di Scienze Oncologiche dell'Università di Torino (sede IRCC) che potrà eventualmente delegare lo stoccaggio del materiale crioconservato a terzi (Biorep s.r.l.) per ragioni di sicurezza e sotto controllo di qualità.

Il materiale verrà conservato per 15 anni (5 di reclutamento, 10 di follow-up).

## **8.0 ASSICURAZIONE**

Lo studio non richiede una specifica copertura assicurativa, in quanto trattasi di studio osservazionale (Determinazione AIFA del 20 marzo 2008). Non è infatti previsto alcun intervento aggiuntivo né di carattere diagnostico né di tipo medico/chirurgico (a parte la raccolta del campione di saliva che avviene con metodi

NON invasivi) rispetto a quanto effettuato di routine presso i vari dipartimenti di IRCC; inoltre i dati relativi al profilo genico delle pazienti non sono in grado, singolarmente, di predire la risposta alle terapia.

## 9.0 BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

- Sjoblom, T., Jones, S., Wood, L.D., et al (2006). Science 314, 268-274  
*The consensus coding sequences of human breast and colorectal cancers.*
- Wood, L. D., Parsons, D. W. Jones, S. et al (2007) Science 318, 1108-1113  
*The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers.*
- Leary, R.J., Lin, J.C. Cummins, J., et al (2008). Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105, 16224-16229  
*Integrated analysis of homozygous deletions, focal amplifications, and sequence alterations in breast and colorectal cancers.*
- Dean, M., Fojo, T. and Bates, S. (2005) Nat. Rev. Cancer 5, 275-284  
*Tumour stem cells and drug resistance.*
- Siena, S. Sartore-Bianchi, A. Di Nicolantonio, F., et al (2009) J.Natl. Cancer Inst. 101 1308-1324.  
*Biomarkers predicting clinical outcome of epidermal growth factor receptor-targeted therapy in metastatic colorectal cancer.*
- Lievre, A. Bachet, J.B., LeCorre, D., et al (2006) Cancer Res. 66, 3992-3995  
*KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer.*
- De Roock, W. Piessevaux, H., De Schutter, J., et al (2008) Ann Oncol. 19, 508-515  
*KRAS wild-type state predicts survival and is associated to early radiological response in metastatic colorectal cancer treated with cetuximab.*