



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE  
FACOLTÀ DI SCIENZE  
DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE  
CORSO DI LAUREA TRIENNALE IN SCIENZE BIOLOGICHE

# **Tumori delle vie biliari: nuovi orizzonti terapeutici nell'era dell'immuno- oncologia**

---

**Tumors of the biliary tract:  
new therapeutic horizons in the era  
of immuno-oncology**

Relatore:  
Prof. MARCO BARUCCA

Laureando:  
DAVIDE BLASUCCI  
Matricola 1094191

# Indice

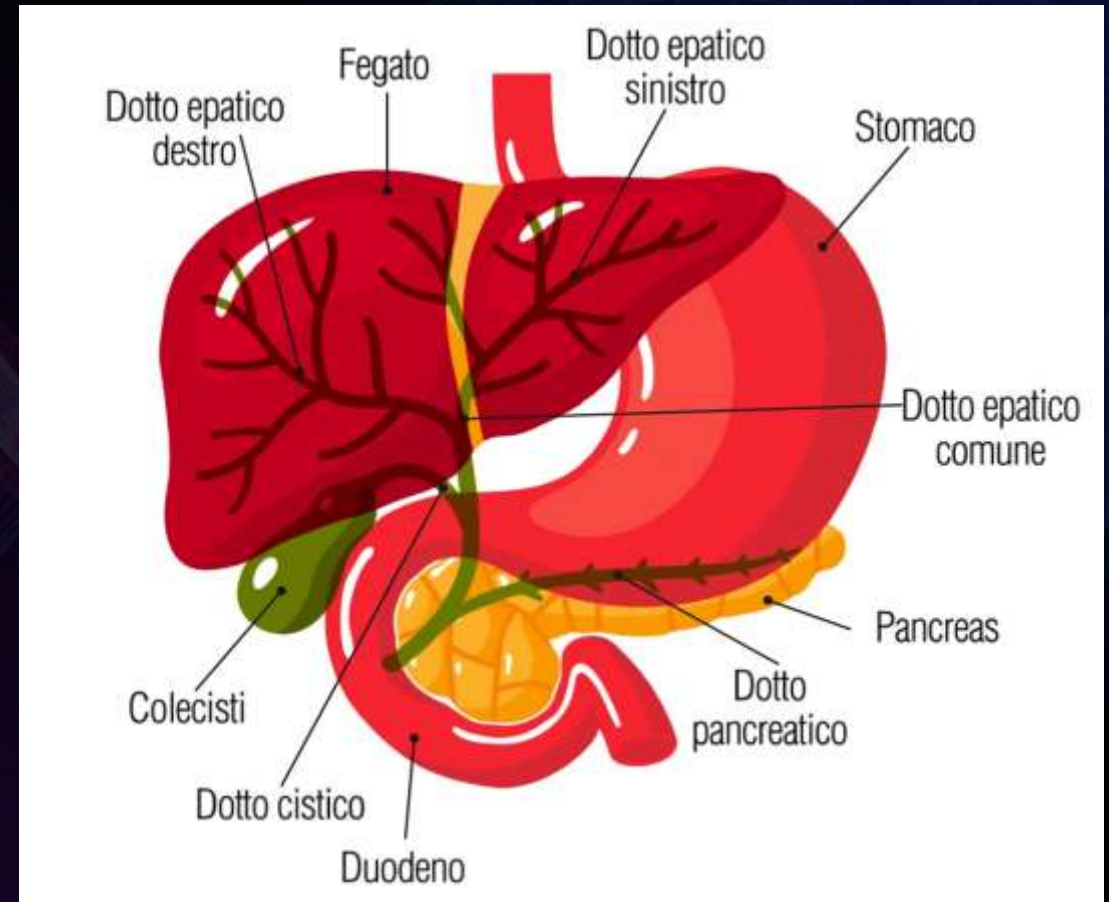
---

- Introduzione
- La medicina di precisione
- Mutazione somatiche e percorsi funzionali
- I marcatori di metilazione del DNA
- Mutazione somatiche nei campioni di sangue, bile e citologici
- I marcatori molecolari non DNA
- Terapia mirata e immunoterapia
- Conclusioni

# Introduzione

Per tumori delle vie biliari (BTC) si intendono quei tumori maligni che originano dall'epitelio delle vie biliari, di cui fanno parte i dotti biliari e la cistifellea.

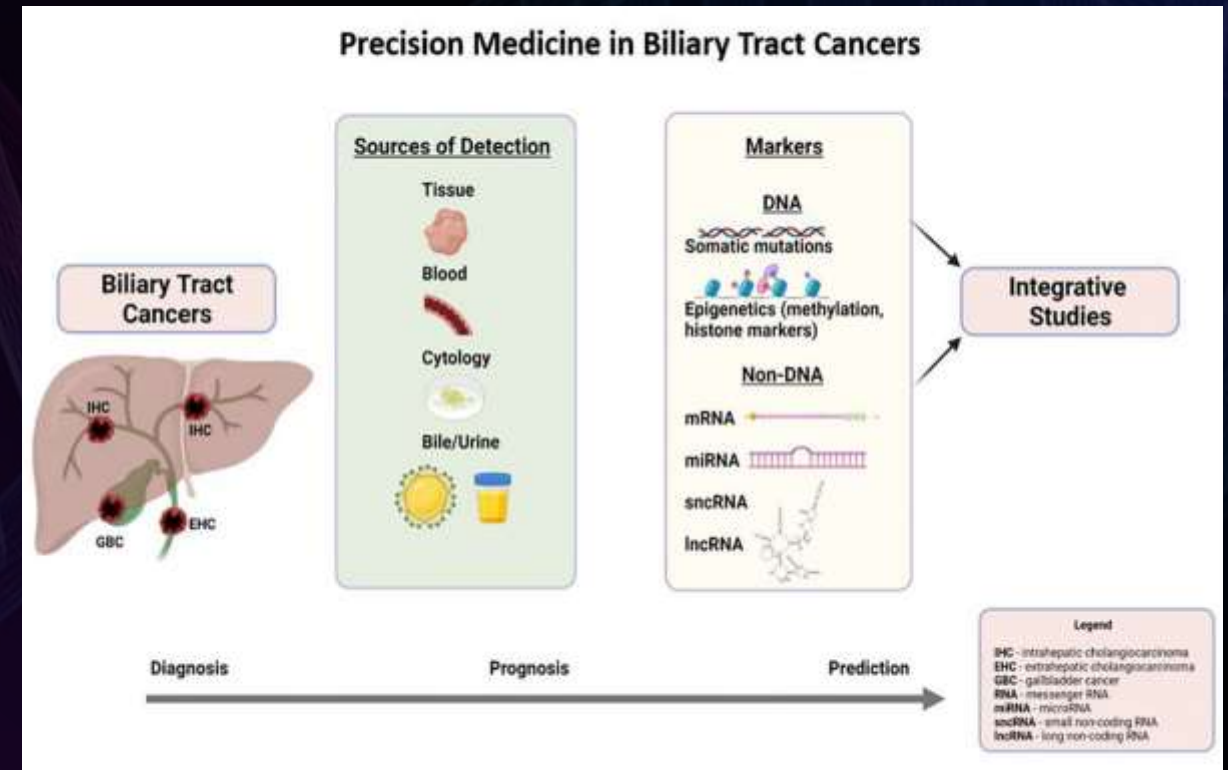
Il colangiocarcinoma (CCA) raggruppa quei tumori che originano dai dotti biliari suddivisi in: intraepatici (IHC) ed extraepatici (EHC), epatocellulari (HCC) e della cistifellea (GBC). Queste tipologie di tumore risultano essere molto rare e aggressive, con ad oggi 200.000 casi registrati e un tasso di sopravvivenza a cinque anni del solo 2%.



# La medicina di precisione

La medicina di precisione consiste nel personalizzare un percorso specifico per ogni paziente in base alle informazioni raccolte inerenti la genetica, il profilo molecolare e le caratteristiche delle cellule tumorali.

Tutto ciò è stato reso possibile anche grazie alla profilazione genomica completa (CGP) basata sul sequenziamento di nuova generazione (NGS).



# Mutazioni somatiche e percorsi funzionali

Le mutazioni somatiche sono alterazioni che riguardano una qualsiasi cellula di un organismo, escludendo quelle della linea germinale. Come in ogni tipologia tumorale vi sono alcuni geni che mutano più di altri (tabella 1).

TABELLA 1 | Differenze prominenti nei geni mutati tra i BTC.

BTC specifico	Molto probabilmente esclusivo	Più frequente	Meno frequente
Colangiocarcinoma intraepatico	Presente—IDH1/2	BAP1, CDK2NA, ARD1A, FGFR1-3, MET	TP53, PIKCA, HER2
Colangiocarcinoma extraepatico	Assente—FGFR1-3, MET EGFR	KRAS b	CDK2NA/B, ARD1Aa
Carcinoma della cistifellea	Nessuna mutazione esclusiva	TP53, PIK3CA, HER2, BRAF, EGFR	BAP1

\*Mutazioni meno frequenti in IHC rispetto a EHC insieme a KRAS, HER2 e SMAD4.

°Mutazioni più frequenti in IHC rispetto a EHC insieme a PBRM1.

# Mutazioni somatiche e percorsi funzionali

Le vie di segnalazione cellulare in base al tumore preso in analisi sono molte.

E' stato visto come circa il 19% dei BTC presenti mutazioni del gene DDR che spesso coesistono con alterazioni cromosomiche. Le mutazioni somatiche con potenziale valore prognostico sono evidenziate in *tabella 2*.

TABELLA 2 | Mutazioni somatiche e loro valore prognostico nei tumori delle vie biliari.

Gruppo tumorale	Peggioro	Migliore	Nessun effetto
Tumori delle vie biliari	ARID1A	FGFR2	CDKN2A, CDKN2B, IDH, PIK3CA, alterazione MYC
	KRASa Del a 7q22.1 TMB alto TP53	PRB1A	
Colangiocarcinoma intraepatico	KRAS	(mutazioni puntiformi e traslocazioni) IDH1b	CDK2NA
	CDK2NA/B		BRAF
	BAP1a		PTEN
	ARID1Aa		LEI2
	PBRM1		
	BRCA1/2		
Colangiocarcinoma extraepatico	PBRM1	PIK3CA	TP53
	BRCA1/2		KRAS
	BRCA1/2		CDK2NB A1RD1 PBRM1 SMAD4
Tumori della cistifellea	Nessuno identificato	Nessuno identificato	TP53
			KRAS
			CDK2NA/B
			ARID1A
			IDH1
			PIK3CA
			SMAD4 ILMO c

TMB, carico mutazionale del tumore.

<sup>a</sup>Nessun effetto in uno studio e cattiva prognosi in altri.

<sup>b</sup>Nessun effetto in alcuni studi e buona prognosi in altri.

<sup>c</sup>PFS è diverso ma non OS.

# I marcatori di metilazione del DNA

Per cambiamenti epigenetici si intendono tutte quelle modificazioni nel genoma che non interessano la sequenza nucleotidica e a volte sono ereditabili.

Li distinguiamo in:

1. **Ipo/Ipermetilazione;**
2. **Modificazioni istoniche (fosforilazione, acetilazione e sumoilazione);**
3. **Modifiche cromosomiche;**
4. **Silenziamento associato all'RNA.**

# I marcatori di metilazione del DNA

- Numerose ricerche si sono concentrate sui marcatori di metilazione del DNA. E' stato visto come nei CCA i geni piu' frequentemente metilati sono APC, DAPK, MGMT (Fig. 1). Quest'ultimo a bassa espressione nei tessuti tumorali e' legato a caratteristiche ed esiti clinopatologici peggiori.

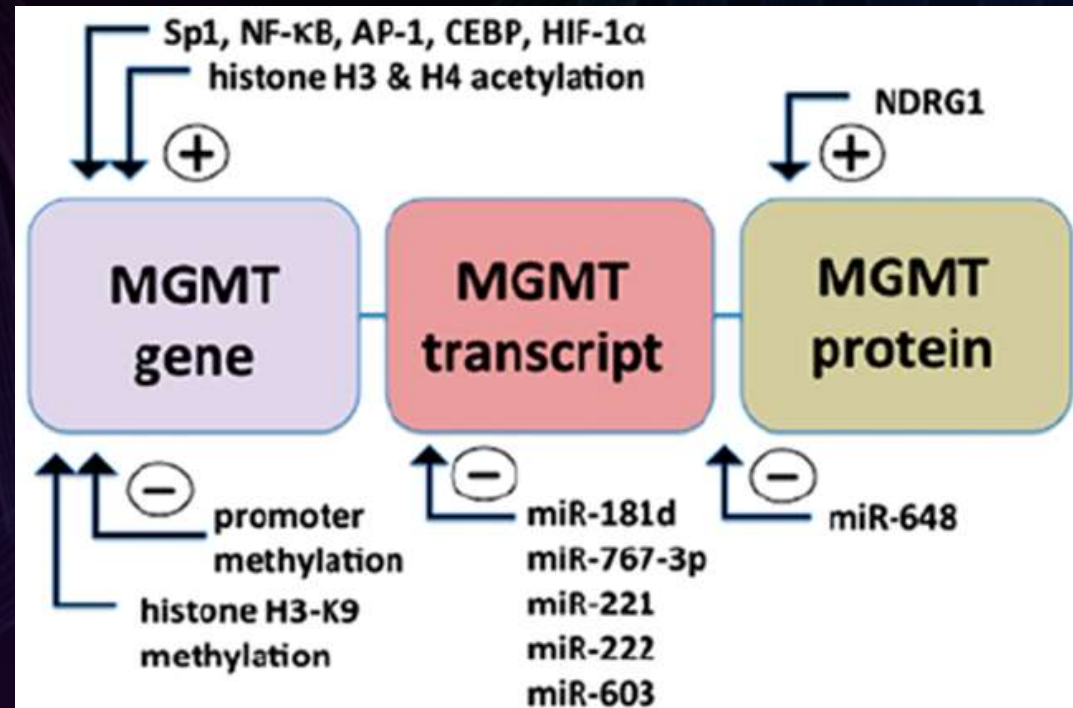


Fig. 1 Riepilogo dei diversi modulatori noti dell'espressione genica MGMT.

# Mutazione somatiche nei campioni di sangue, bile e citologici

Il DNA circolante libero da cellule (cfDNA) in genere riguarda gli acidi nucleici riscontrati nel sangue periferico a seguito di apoptosi o necrosi.

Nei soggetti malati di cancro una parte di cfDNA deriva da cellule normali mentre una piccola percentuale deriva da tumori primari, metastasi o cellule tumorali circolanti (CTC) ed è chiamata DNA tumorale circolante (ctDNA).

- Le biopsie liquide in tumori come i BTC sono tecniche che permettono di ottenere tessuto utile al sequenziamento.
- Il cfDNA come anche il ctDNA sono molto affidabili per la diagnosi e il rilevamento di mutazioni.
- Ad oggi per identificare le cellule maligne ci si avvale dell'esame di campioni citologici derivanti dalla colangiopancreatografia retrograda endoscopica (ERCP).
- E' stato anche visto che in pazienti affetti da BTC isolando il ctDNA dalla bile possiamo rilevare mutazioni con una specificità vicina al 100%.

# I marcatori molecolari non DNA

Dei marcatori non DNA fanno parte RNA messaggero (mRNA), RNA non codificante (ncRNA), proteine e metaboliti. L'ncRNA non è altro che RNA non tradotto in proteine, viene individuato nel sangue e per questo motivo è ampiamente studiato.

Un'ottima fonte di marcatori molecolari nel sangue sono le vescicole extracellulari suddivise in tre tipologie:

- **Microvescicole;**
- **Esosomi;**
- **Corpi apoptotici.**

Uno dei marcatori dell'RNA più utilizzato è sicuramente il miR (tabella 3).

TABELLA 3 | Marcatori non DNA nei tumori delle vie biliari.

Fonte	Marcatore non DNA
Tessuto	miR-22, -125a/b, -127, -199a, -376a/c, -142-3p, -25, -15a/b, -193, -17-5p, -374, -108a/b, -224, -130b, -19a, -331, -324-5p, -20, 17-3p, -223, -15b, -103, -98, -204, -338, -198, -302d, -328, -337, -302b, -184, -320, -371, -185, -222, -214, -373, -145, -200c, let-7a, let-7b, -21, -135b, -122, -27a, -29a, -429, -24, -203, -29b, -20a/-20b, -93, -30e, -30b, -151-3p, -10a, -181a, -98, -863b, -103, -221, -107, -424, -340, -451, -145, -99a, -830, let-7c, -144, -100, -139-5p, -337-3p, -1, -126, -376c, -517c+-519a, -520e, -30c, -98, -30b, -100, -145 lncRNA PANDAR 141, AFAP1-AS1 140, CCAT-1, NEAT-1, MALT-1, CPS1-IT1 Valore prognostico: miR-192, -675-5p, -652-3p, -338-3p, -126, -21, 192, -21, -214, -151-3p, -373
Sangue	In RNA libero circolante: mRNA/PSC/UC: CMIP, GAD1, NME1, CSD1, NME1, CDS1, CK1B, CKS1B; miR-21H1/b, -221H/b, -194 con miR483-5pH/b, -222 con miR483-5pPSC, -122H, -192h/Liverfluke, 26aH, -150H/I, -108AHL, -26aPSC, -122PSC, -1281PSC, -128PSC, -30bPSC In EV: miR-804H, -1224H, -200c-3p, -98-5p, -151a-5p, -191-5p, -4732-3p, -551BH/PSC/UC, -200a/c-3p; lncRNA—LOC100134868, LOC843855, PTTg3P Valore prognostico: sette firme mRNA, vale a dire CD38, GGCX, UBASH3B, DBN1, PTTG1, CCNA2 e SPATS2. Nei tumori resecati, il declino postoperatorio del livello totale di miR (di 20), miR-108a, -192, -26a, -150, miR-200a/c-3p (in EV)
Bile	MIR8, -145, -105, -147b, let-7f-2, let-7i, -302c, 199a-3p, -222a più elevati senza circolazione di miRNA-1247 e -200a In EV: miR-191, -498-3p, -1274b, -18, -484 mRNA libero
Urina	circolante: UBE2C, SERPINB1; miRNA 21 e 192H In EV: miR-483; snRNA—RNU11: miscRNA—LOC257358: vtRNA—RNA1-1

H, rispetto a sano; PSC, rispetto alla colangite sclerosante primitiva; CU, colite ulcerosa; I, in esclusiva per IHC; B, includi tutti i BTC; Benigno, rispetto a benigno; mRNA, RNA messaggero; miR, microRNA; lncRNA, RNA lungo non codificante; EV, vescicole extra; miscRNA, RNA vario; vtRNA, RNA della volta; snRNA, piccolo RNA nucleare.

\*miR122 è inferiore rispetto a PSC e superiore in soggetti sani.

# Terapia mirata e immunoterapia

L'immunoterapia è oggetto di studio da molti anni.

Si tratta di modulare il sistema immunitario per combattere il tumore.

Gli inibitori del checkpoint immunitario (ICI), sono tra i più utilizzati in oncologia. Sono da considerarsi degli anticorpi monoclonali, quindi diretti contro un solo antigene, immunomodulatori, che accrescono l'immunità antitumorale dell'ospite, bloccando i recettori T (immuno-checkpoint), agevolando così le azioni mediate da cellule T contro i tumori.

TABELLA 4 | Terapia mirata nel cancro delle vie biliari.

Bersaglio	Farmaco	Approvato	Successo iniziale	In corso
FGFR2	Pemigatinib	Pemigatinib**		Pemigatinib + GC (NCT03656536)III *
	Infgratinib	Infgratinib**		Infgratinib vs. gemotabina cisplatino (NCT03773302)III * Futbatrinib
	Futbatrinib		Futbatrinib** <sup>a</sup> (142)	vs. GC (NCT04093362)I* Ponatinib
	Derazantinib		Derazantinib** <sup>ab</sup> (143)	(NCT02265341)** II Delbo 137
IDH1	Erdafitinib		Erdafitinib** <sup>a</sup> (144)	(NCT03834220)**
	Ivosidenib	Ivosidenib**		
IDH1/2	LY3410738 (per IDH1 R132)			I LY3410738 (NCT04521686)**
	Olutasidenib (FT-2102)			FT-2102 vs. FT-2102 e nivolumab (NCT03684811)** Dasatinib <sup>ab</sup>
IDH2	Dasatinib			(NCT02428855)** AG-881
	AG-881			(NCT02481154)** V II Enasidenib
NTRK	Larotectinib	Larotectinib**		(NCT02273739)**
	Entrectinib	Entrectinib**		
Inibitore della proteina chinasi CK2	Silmitasertib		Silmitasertib + GC* <sup>ab</sup> (145)	
	Regorafenib		Regorafenib** <sup>a</sup> (146)	Regorafenib (NCT02053376)**
Inibitore del VEGF	Surufatinib		Surufatinib** <sup>a</sup> (147)	
	Zanidatamab		Zanidatamab** <sup>ab</sup> (148, 149)	Zanidatamab (NCT04466891)**
Inibitore di HER2	Neratinib		Neratinib** <sup>a</sup> (150)	
	Trastuzumab			Trastuzumab + pertuzumab** <sup>a</sup> (151)
Dkk1/1 (1 DKK)	DKN-01		DKN-01 + GC* <sup>a</sup> (128)	Trastuzumab + mFOLFOX** <sup>a</sup> (152)
	Inibitore ATR	Ceralasertib (Ce) (AZD6738)		DKN-01 + N (NCT04057365)**
Inibitore BRCA1/2	Olaparib			Ce+D (NCT03780608)**
	Niraparib			Ce + olaparib (NCT03878095)**
CDK4/6	Abemaciclib			Olaparib (NCT04042831)*
	Entinostat			Niraparib (NCT03207347)*
HDAC	Abemaciclib			Abemaciclib (NCT04003896)**
	Entinostat			Entinostat + nivolumab (NCT03250273)**

I, studi di fase 1; II, studi di fase 2; III, studi di fase 3; \*prima linea; \*\*seconda riga o più; NTRK, recettore neurotrofico della tirosina chinasi; ATR, atassia teleangiectasia e correlata a Rad3; HDAC, istone deacetilasi; BRCA, gene del cancro al seno; VEGF, fattore di crescita dell'endotelio vascolare; HER2, recettore 2 del fattore di crescita epidermico umano; IDH, isocitrate deidrogenasi; FGFR, recettore del fattore di crescita dei fibroblasti.

Tab. 4 Riportati i farmaci approvati e in corso di approvazione in base al bersaglio analizzato.

# Conclusioni

I BTC risultano essere dei tumori rari e molto aggressivi. Per poter aiutare la diagnosi occorre sempre piu' valutare marcatori del DNA diversi dalle mutazioni somatiche come marcatori di metilazione e non del DNA.

Inoltre, è importante affinare i biomarcatori presenti nei campioni di sangue, bile e citologici in quanto maggiormente raggiungibili rispetto al tessuto in BTC.

Attualmente molti farmaci hanno mostrato significativi successi, e molti altri sono in fase di sviluppo. Ad oggi il trattamento è caratterizzato dall'utilizzo di una combinazione di terapie come chemioterapia, terapie mirate o immunoterapie.

# Riassunto esteso

Possiamo affermare che la gestione dei BTC è ancora molto complicata. Negli ultimi anni la medicina di precisione in combinazione con il sequenziamento di nuova generazione ha reso possibile individuare mutazione mirate nei BTC nel tessuto e nel sangue in modo da trovare terapie sempre piu' specifiche ove possibile.

Nuovi marcatori come gli epigenetici e i non DNA sono sempre piu' utilizzati. L'avanzamento della ricerca ha permesso il rilevamento di questi ultimi anche da fonti non convenzionali come sangue, bile e campioni citologici.

Attualmente sono poche le terapie approvate, ma l'immunoterapia risulta sicuramente una delle strade migliori per un trattamento sempre piu' mirato ed efficace di questi tumori.

# Bibliografia

- Ashish Manne, Edward Woods, Allan Tsung, Biliary Tract Cancers: Treatment Updates and Future Directions in the Era of Precision Medicine and Immunology. (2021)
- <https://tuttointerventistica.it/colangiocarcinoma/>
- [http://www.fvcalabria.unicz.it/Relazioni/2019/TOSSICITA\\_DEGLI\\_INIBITORI\\_DEI\\_CHECK\\_POINT\\_IMMUNITARI.pdf](http://www.fvcalabria.unicz.it/Relazioni/2019/TOSSICITA_DEGLI_INIBITORI_DEI_CHECK_POINT_IMMUNITARI.pdf)
- <https://www.recentiproggressi.it/archivio/2094/articoli/22646/>
- [https://www.researchgate.net/figure/Summary-of-different-known-modulators-of-MGMT-gene-expression-MGMT-expression-is\\_fig3\\_277599629](https://www.researchgate.net/figure/Summary-of-different-known-modulators-of-MGMT-gene-expression-MGMT-expression-is_fig3_277599629)