

# INDICE

CAPITOLO 1: INTRODUZIONE AL TUMORE DEL COLON-RETTO E ALLA PREVENZIONE ALIMENTARE	3
1.1 TUMORE DEL COLON-RETTO E PREVENZIONE	3
1.2 UNA CORRETTA ALIMENTAZIONE	5
1.3 L'OBESITÀ	8
1.4 IL MICROBIOTA INTESTINALE	10
1.5 LA FIBRA	13
1.6 GLI ACIDI GRASSI	16
1.6.1 Gli acidi grassi a catena corta e butirato	19
1.7 GLI ACIDI BILIARI SECONDARI	23
CAPITOLO 2: PARTE SPERIMENTALE	26
2.1 SCOPO DELLO STUDIO	26
2.2 MATERIALI E METODI	29
2.2.1 Popolazione e arruolamento	29
2.2.2 Raccolta dati	30
2.2.3 La bioimpedenziometria	30
2.2.4 La dieta	34
2.2.5 Analisi statistica	35
CAPITOLO 3: I RISULTATI	37
3.1 ANALISI DIETETICA	37
3.2 OUTCOME DEL FARMACO	40
3.3 ANALISI DELLA VARIAZIONE DEL BMI, FFM E FM	41

3.4 ANALISI DELL'IMPATTO DEL BMI, FFM E FM SULL'OUTCOME	44
CAPITOLO 4: DISCUSSIONI E CONCLUSIONI	50
BIBLIOGRAFIA	53
RINGRAZIAMENTI	57

# CAPITOLO 1: INTRODUZIONE AL TUMORE DEL COLON-RETTO E ALLA PREVENZIONE ALIMENTARE

## 1.1 TUMORE DEL COLON-RETTO E PREVENZIONE

L'intestino è l'organo deputato all'assorbimento delle sostanze nutritive che provengono dall'alimentazione. Ha l'aspetto di un tubo cavo della lunghezza di circa 7 metri ed è suddiviso in intestino tenue o piccolo intestino, a sua volta distinto in duodeno, digiuno e ileo, e intestino crasso o grosso intestino. Il grosso intestino comprende il colon destro o ascendente (con il cieco e l'appendice), il colon trasverso, il colon sinistro o discendente, il sigma e il retto.

Il carcinoma coloretale (CCR) costituisce il 95% di tutti i tumori maligni del colon ed è la seconda causa di morte per cancro in tutto il mondo ed è dovuto alla proliferazione incontrollata delle cellule della mucosa che riveste questo organo.

È in genere una neoplasia dell'età media, abbastanza rara sotto i 40 anni e maggiormente diffusa in persone di età compresa tra i 60-75 anni.

I fattori di rischio per il tumore del colon si dividono in fattori di rischio non modificabili, che includono i fattori genetici e fattori non ereditari, e fattori di rischio modificabili che include i fattori ambientali.

È possibile ereditare la predisposizione ad ammalarsi di tumore del colon-retto se nella famiglia d'origine si sono manifestate malattie come le poliposi adenomatose ereditarie e il carcinoma ereditario del colon-retto su base non poliposica; si tratta di malattie trasmesse da genitori portatori di specifiche alterazioni genetiche e possono anche non dar luogo ad alcun sintomo.

Tra i fattori non ereditari sono importanti l'età, il fumo e le malattie infiammatorie croniche intestinali, tra le quali la rettocolite ulcerosa e il morbo di Crohn.

Riguardo all'alimentazione, i rischi sembrano connessi a consumi eccessivi di carni rosse e insaccati, farine e zuccheri raffinati, grassi saturi, bevande alcoliche e a introiti molto ridotti di frutta e verdura e vitamina D; ma anche l'obesità e una vita sedentaria costituiscono ulteriori fattori di rischio.

La prevenzione gioca un ruolo fondamentale nell'incidenza di tumore e non è limitata solo alle fasi che precedono l'insorgenza della malattia (prevenzione primaria), ma possono essere applicate anche quando la malattia è già presente (prevenzione secondaria e terziaria)<sup>1</sup>.

Lo scopo della prevenzione primaria è ridurre l'incidenza del cancro tenendo sotto controllo i fattori di rischio modificabili e aumentando la resistenza individuale a tali fattori. Una corretta strategia di prevenzione primaria non si basa solo sull'identificazione dei fattori di rischio, ma anche e soprattutto sulla valutazione di quanto l'intera popolazione o il singolo individuo siano esposti a tali fattori. I consigli di prevenzione possono essere diretti a tutta la popolazione (per esempio quelli che riguardano il modo più salutare di alimentarsi o di fare attività fisica) o a particolari categorie di persone considerate "ad alto rischio" (per esempio i fumatori).

Lo scopo, invece, della prevenzione secondaria è di individuare lesioni precancerose oppure il tumore in uno stadio molto precoce in modo da trattarlo in modo efficace e ottenere di conseguenza un maggior numero di guarigioni e una riduzione del tasso di mortalità. Quindi tale prevenzione coincide con le misure che permettono una diagnosi precoce e deve essere applicata nel periodo tra l'insorgenza biologica della malattia e la manifestazione dei primi sintomi. La prevenzione secondaria si attua sulla popolazione attraverso programmi di screening organizzati e per il tumore del colon retto è dato dalla ricerca del sangue occulto nelle feci.

Con prevenzione terziaria si intende, invece, la prevenzione delle cosiddette recidive (o ricadute) o delle eventuali metastasi dopo che la malattia è stata curata con la chirurgia, la radioterapia, la chemioterapia o tutte e tre insieme.

Essa comprende le cosiddette terapie adiuvanti, come chemioterapia, radioterapia e trattamenti ormonali, che prolungano gli intervalli di tempo senza malattia e aumentano la sopravvivenza dei pazienti.

## 1.2 UNA CORRETTA ALIMENTAZIONE

Una dieta sana è fondamentale per mantenersi in salute. Infatti la corretta assunzione di cibi costituisce la base della prevenzione di alcuni tumori, questo perché un regime alimentare non equilibrato può portare a un eccesso di peso e anche alla modificazione del microbiota intestinale.

Il National Cancer Institute degli Stati Uniti ha formulato le seguenti raccomandazione per la prevenzione del carcinoma del colon-retto:

- Ridurre l'assunzione di grassi al 30% delle calorie totale, limitando gli acidi grassi saturi
- Includere nella dieta ogni giorno frutta e verdura
- Assumere alcolici con moderazione, al massimo un'unità per le donne e due unità per gli uomini
- Evitare l'obesità
- Aumentare l'apporto di fibra a 20-30 grammi al giorno
- Minimizzare il consumo di cibi molto salati, conservati o affumicati
- Bilanciare l'apporto calorico con l'attività fisica

Un modello nutrizionale che rispecchia un'alimentazione corretta, racchiudendo le indicazioni qua sopra riportate, è dato dalla dieta mediterranea che favorisce il consumo di alimenti come cereali integrali, frutta e verdura fresca, legumi, olio extravergine d'oliva e pesce, mentre

limita il consumo di bevande alcoliche, carni lavorate, carni rosse e dolci. È un regime, dunque, che non vieta alcun alimento, ma si limita a consigliarne quantità e frequenza di consumo.

Numerosi studi scientifici hanno dimostrato un forte legame tra la dieta mediterranea e la diminuzione del rischio di cancro e le ragioni di questi effetti protettivi sull'organismo sono:

- la grande quantità di frutta e verdura, in grado di fornire vitamine preziose e sali minerali
- il consumo ridotto di cibi contenenti grassi saturi e colesterolo
- il consumo di olio, il quale contiene l'oleocantale che presenta proprietà antiossidanti
- l'introito di preziosi acidi grassi polinsaturi omega-3 (dal pesce azzurro) e di omega-6, ottenibili dagli oli vegetali.

Le marcate differenze internazionali nell'incidenza e nella mortalità del cancro del colon e nell'aumento del rischio nelle popolazioni che migrano da aree a basso rischio ad alto rischio suggeriscono che i fattori ambientali, in particolare le abitudini alimentari piuttosto che i fattori genetici, giocano un ruolo importante.

Infatti, dagli ultimi dati dell'OMS<sup>2</sup> (FIG. 1) si può notare una notevole variazione dell'incidenza del cancro del colon-retto.

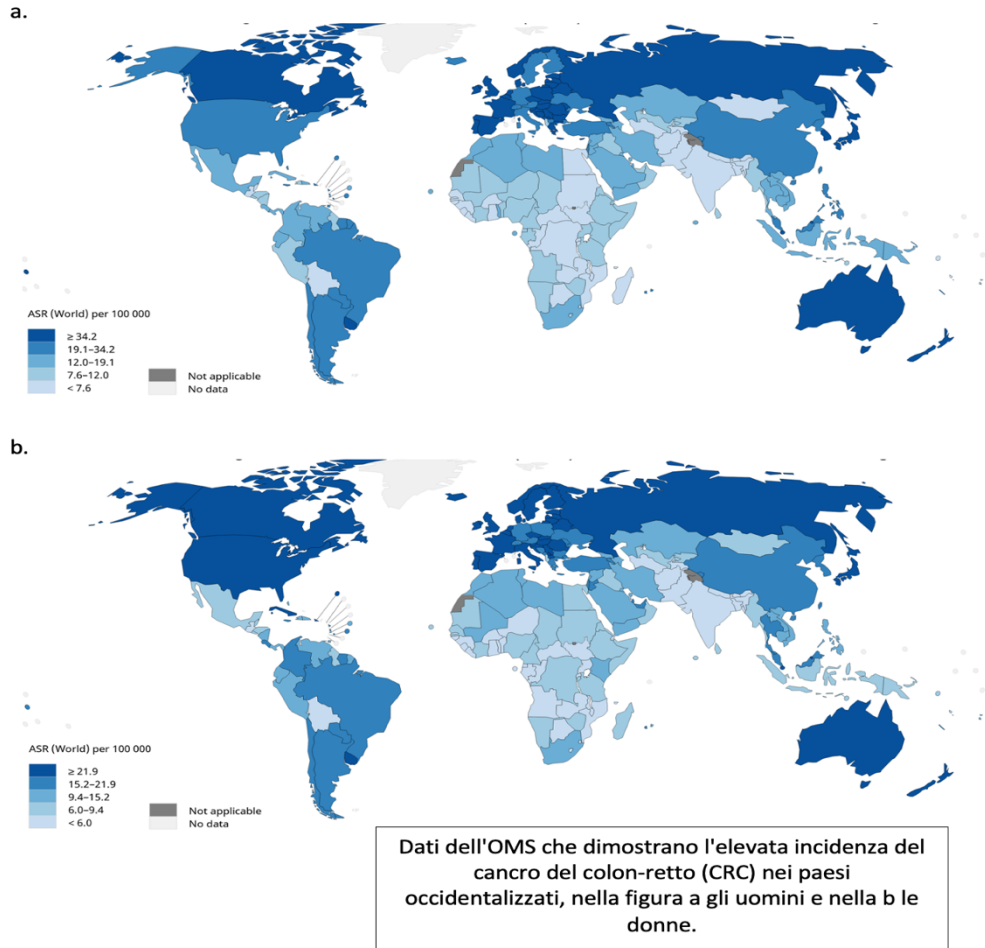


Figura 1.

Per questo motivo il cancro del colon-retto viene considerata una malattia occidentalizzata con i più alti tassi di incidenza in Nord America, Australia, Nuova Zelanda ed Europa (tutti >30 casi per 100.000), e questo è una conseguenza del progressivo aumento del consumo di carne rossa ed elaborata ed una diminuzione del consumo di cibi ricchi di fibra e della conseguente disbiosi del microbiota intestinale, e più bassi in Africa rurale (<5 casi per 100.000) dove la popolazione continua a consumare più di 50g<sup>3</sup> di fibre al giorno.

Questo grado di variazione fornisce prove che nei paesi dove si segue un'alimentazione sana il rischio di sviluppare un tumore è inferiore rispetto ai paesi in cui si predilige il consumo di alimenti conservati e raffinati.

Sebbene la relazione tra nutrizione e cancro sia complessa si dovrebbe riconoscere che i fattori nutrizionali e la dieta possono essere correlati al rischio di cancro in diversi modi:

- additivi, contaminanti, un particolare componente alimentare o prodotti formati durante la preparazione del cibo possono agire come cancerogeni, co-cancerogeni e/o promotori
- carenze ed eccessi di nutrienti possono portare ad alterazioni biochimiche/molecolari che possono favorire processi neoplastici
- i cambiamenti nell'assunzione di macronutrienti selezionati possono indurre anomalie metaboliche, biochimiche e molecolari che aumentano il rischio di cancro
- alcuni componenti della dieta agiscono come anticancerogeni o chemiopreventivi.

Ora analizziamo i diversi fattori nutrizionali che possono essere anti o pro cancerogeni.

### 1.3 L'OBESITÀ

L'obesità è una condizione caratterizzata da un eccesso di massa adiposa rispetto alla massa magra, in base ai limiti ritenuti normali per età, sesso e statura.

Si parla di obesità quando:

- il peso corporeo supera il peso ideale di una quantità pari almeno al 20%;
- quando l'indice di massa corporea (I.M.C) è superiore a 30 kg/m<sup>2</sup>.



L'obesità è nota per essere il principale problema di salute globale che può portare a comorbidità tra cui diabete, malattie cardiache e cancro, tra cui quello del colon-retto; infatti si è osservato che un'obesità generale e quella centrale erano un fattore di rischio.

Per prevenire il cancro del colon associato all'obesità, è estremamente importante riconoscere i meccanismi molecolari coinvolti nel cancro del colon e nell'obesità in quanto vi sono molteplici vie di segnalazione che si sono dimostrate associate ai tumori associati all'obesità<sup>4</sup>.

Alcuni esempi dei geni che vengono attivati nel cancro del colon associato all'obesità includono, insulina, fattore di crescita, estrogeni, leptina, adinopectina, interleuchina-6 (IL-6), fattore di necrosi tumorale alfa (TNF- $\alpha$ )<sup>5</sup>.

Per quanto riguarda la leptina e l'adinopectina si è visto che l'obesità è coinvolta nella diminuzione dell'adiponectina sierica e nell'aumento della leptina, ormoni che possono svolgere un ruolo come potenziali mediatori nella carcinogenesi associata all'obesità.

Infatti la leptina è un regolatore della sazietà e dell'equilibrio energetico; è elevata nell'obesità e può indurre vari tumori tra cui quello del colon-retto.

È noto anche, che la leptina modula l'assorbimento dei nutrienti nel tratto gastrointestinale, promuovendo la crescita e la proliferazione cellulare, inibendo l'apoptosi e stimando le risposte pro-infiammatorie nell'intestino tenue e crasso.

Nel cancro del colon, la leptina agisce come un potente mitogeno e come una potente citochina anti-apoptotica e promuove l'invasività delle cellule del colon adenomatose. Di conseguenza, si può concludere che l'espressione della leptina aumenta man mano che la carcinogenesi progredisce dalla normale mucosa del colon all'adenoma, fino ad arrivare all'adenocarcinoma..

L'adiponectina, invece, è nota per essere un'adipochina anti-infiammatoria. Il suo livello è ridotto nell'obesità, aumentando così il rischio di un'inflammazione e di conseguenza il rischio di sviluppare una neoplasia a livello del colon-retto.

In presenza della neoplasia, l'adiponectina svolge un ruolo importante nell'inibire la secrezione dell'interleuchina IL-6 attraverso la soppressione del NF-kB nelle cellule del cancro del colon, prevenendo così l'attivazione della via STAT3 che inibisce la proliferazione delle cellule tumorali<sup>3</sup>.

#### 1.4 IL MICROBIOTA INTESTINALE

Il microbiota intestinale è un vero e proprio organo con specifiche funzioni ed è costituito da più di 2.000 specie diverse di batteri più funghi e protozoi.

In condizioni normali, il microbiota intestinale si trova in simbiosi con l'organismo, quindi in una condizione di eubiosi, e in questa condizione l'uomo fornisce materiale indigerito per i batteri, in compenso, questi microrganismi svolgono varie funzioni utili all'uomo.

Tra le funzioni principali abbiamo la funzione trofica (nutrimento) in quanto i batteri presenti nel nostro intestino fermentano il materiale indigerito. In seguito a questa fermentazione, la flora batterica produce degli acidi grassi a catena corta, come l'acido acetico, propionico e butirrico molto importanti per il nostro benessere poiché rappresentano una fonte energetica per le cellule epiteliali dell'intestino; inoltre, sembra, che l'acido butirrico protegga dal tumore del colon.

Oltre a questa funzione il microbiota svolge una funzione protettiva contro l'invasione di agenti patogeni; questo è dovuto al fatto che la popolazione batterica produce anche sostanze antimicrobiche, grazie alle quali impedisce l'adesione di patogeni all'epitelio intestinale.

Quando diminuisce il numero di batteri vantaggiosi, l'equilibrio della microflora batterica si spezza e si parla di disbiosi. Questa condizione è

caratterizzata da un lato dalla perdita dell'azione protettiva di inattivazione delle molecole potenzialmente nocive, dall'altro, da un'iperproliferazione di patogeni a livello intestinale che può causare la presenza di un'inflammatione.

Dunque il microbiota intestinale, in una condizione di disbiosi prolungata può causare lo sviluppo di un'inflammatione che può diventare cronica e influenzare lo sviluppo di neoplasie.

Infatti l'inflammatione è un innesco necessario, ma da sola, o la sola presenza di batteri o metaboliti batterici, non è sufficiente per promuovere lo sviluppo del tumore, ma serve un'interazione tra genetica dell'ospite, inflammatione e fattori ambientali.

I microrganismi intestinali possono indurre l'inflammatione cronica in diversi modi: tramite l'aderenza all'epitelio, l'attivazione di una risposta immunitaria attraverso il legame a recettori Toll-like e/o l'attivazione di cellule T regolatorie (Treg), o tramite la sintesi e secrezione di biomolecole o metaboliti citotossici<sup>6-7</sup>.

Andando a verificare il ruolo del microbiota intestinale nel tumore del colon-retto, alcuni studi, hanno rilevato che alcuni batteri, come ad esempio i *Fusobacteria*, *Alistipes*, *Porphyromonadaceae*, *Coriobacteridae*, *Staphylococcaceae*, *Akkermansia* spp. e *Methanobacteriales*, in presenza della patologia, sono costantemente aumentati, mentre altri erano costantemente diminuiti, come i *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Ruminococcus*, *Faecalibacterium* spp., *Roseburia* e *Treponema*<sup>8</sup>. Inoltre, i livelli di alcuni metaboliti microbici, come i composti azotati, erano costantemente aumentati, mentre altri, come il butirrato, erano diminuiti durante la carcinogenesi del colon.

Nonostante si pensi che il rapporto tra tumore e microbiota sia legato a un disturbo generale nell'equilibrio e nell'integrazione microbica, ci sono prove che suggeriscono un ruolo predominante del *Fusobacterium* spp. nel processo neoplastico<sup>9</sup>.

Uno studio ha esaminato del materiale bioptico di adenomi e della mucosa normale adiacente in 19 pazienti e ha mostrato una positività del 48% per *Fusobacterium* nel tessuto tumorale, che era superiore rispetto al tessuto della mucosa normale<sup>10</sup>.

Utilizzando il modello murino *ApcMin/+* di tumorigenesi intestinale, è stato dimostrato che il *Fusobacterium nucleatum* aumenta la molteplicità del tumore e recluta cellule mieloidi infiltranti il tumore che possono promuovere la progressione della neoplasia<sup>5</sup>.

Altri studi hanno dimostrato che i tessuti del cancro del colon-retto ad alto contenuto di *F. nucleatum* erano inversamente associati alla densità delle cellule T CD3<sup>+</sup><sup>11</sup> e avevano una forte associazione con l'instabilità dei microsatelliti e i tumori legati al fenotipo dell'isola CpG<sup>12</sup>. Questi esempi dimostrano le complesse interazioni tra microrganismi, immunità, predisposizione genetica e cancro del colon-retto.

La modificazione del microbiota intestinale che avviene sia sulla composizione batterica, come riportato sopra, che sulla densità, è dovuta sia a fattori intrinseci (acidi gastrici, motilità, muco...) sia a fattori estrinseci (dieta, antibiotici, lassativi...).

L'alimentazione ha un'azione diretta sul microbiota intestinale, infatti, una dieta composta da alimenti animali o vegetali è in grado di modificare rapidamente la struttura del microbioma, superando le differenze individuali genetiche.

Infatti uno studio ha dimostrato che i principali responsabili, delle modificazioni del microbiota, erano il contenuto di fibre e grassi della dieta e che l'effetto di queste diete sui biomarcatori del rischio di cancro era mediato dai metaboliti microbici<sup>13</sup>.

Questo studio prevedeva una modificazione dell'alimentazione di due gruppi di popolazioni – afroamericani sani di mezza età e africani rurali sani- per una durata di due settimane.

Le diete sono state cambiate in modo tale che gli afroamericani sani di mezza età aumentassero l'assunzione di fibre a 55 g al giorno e riducessero l'assunzione di grassi a 51 g al giorno, mentre gli africani rurali, abituati a consumare quantità elevate di fibra, riducessero l'assunzione di fibre a 7 g al giorno e aumentassero l'assunzione di grassi a 134 g al giorno. Sorprendentemente, i tassi di proliferazione epiteliale nelle biopsie della mucosa del colon prelevate dagli afroamericani sono diminuiti a livelli inferiori a quelli degli africani rurali al basale, mentre i tassi sono aumentati negli africani rurali a livelli superiori agli afroamericani al basale<sup>9</sup>. I biomarcatori infiammatori hanno seguito un modello simile, con una diminuzione dei linfociti intraepiteliali CD3<sup>+</sup> e dei macrofagi della lamina propria CD68<sup>+</sup> negli afroamericani e un aumento negli africani rurali. Questi cambiamenti sono stati accompagnati da sostanziali cambiamenti reciproci nel microbiota intestinale e in particolare nella produzione microbica di butirrato e acido biliare secondario, supportando l'ipotesi che i biomarcatori della mucosa del rischio di cancro siano modificati dal microbiota, il quale segue una modificazione da parte della dieta.

## 1.5 LA FIBRA

La fibra alimentare è costituita da una complessa miscela di diversi polisaccaridi, fra cui i più noti sono cellulosa, lignina, emicellulose, pectine, gomme e mucillagini.

Una peculiarità delle fibre è di non essere digeribili dagli enzimi del nostro intestino, e di non apportare di per sé calorie, ad eccezione del piccolo contributo energetico prodotto dalla fermentazione di alcune fibre ad opera dei batteri dell'intestino, con la formazione di acidi grassi.

La viscosità e la capacità di andare incontro a fermentazione sono alcune caratteristiche che aiutano a qualificare i diversi componenti della famiglia delle fibre, al cui interno si distinguono alcuni composti insolubili – come cellulosa, emicellulosa e lignina – che non si sciolgono nell'acqua ma

assorbono liquidi nell'intestino, facilitando il funzionamento del tratto gastrointestinale e l'evacuazione delle feci (questo tipo di fibra si trovano principalmente nei cereali integrali e prodotti derivati, nella frutta secca e nelle verdure a foglia verde). Altri composti – come pectine, gomme e mucillagini, presenti principalmente nei legumi e nella frutta fresca – sono invece solubili nell'acqua e formano dei gel che aumentano il volume fecale, contribuendo in parte a limitare l'assorbimento di alcuni nutrienti e favorendo il senso di sazietà.

Più che il tipo di fibra assunta è importante consumarne la giusta quantità giornaliera e seguendo un'alimentazione varia è possibile assicurarsi sia la quantità consigliata sia le diverse tipologie di fibre di cui abbiamo bisogno.

Le fibre, pur non avendo una specifica funzione nutritiva, sono una componente irrinunciabile dell'alimentazione. Infatti si è visto che un basso consumo di fibre si associa a possibili rischi per la salute.

La quantità di fibre che dovrebbe essere assunta quotidianamente è di almeno 25-30 grammi. Un traguardo che nei Paesi occidentali si fatica a raggiungere, infatti in questi paesi il consumo rimane inferiore ai livelli raccomandati: in Italia, per esempio, se ne consumano in media 17 grammi al giorno. Eppure, seguendo un'alimentazione sulla base della dieta mediterranea, dunque ricca di frutta, verdura, legumi e cereali integrali, si può garantire il giusto quantitativo di fibre quotidiano.

La fibra, oltre ad essere importante per ridurre l'assorbimento di alcuni nutrienti e velocizzare il transito intestinale, è importante anche perché aumenta il senso di sazietà, e quindi permette una riduzione dell'introito calorico assunto a ogni pasto e aiuta a controllare il peso corporeo.

Infine, i polisaccaridi che compongono la maggior parte della fibra sono un nutrimento prezioso per il nostro microbiota e svolgono una funzione prebiotica, cioè favoriscono la crescita di quei batteri che hanno un effetto positivo sull'organismo.

Ad oggi la comunità scientifica ritiene che sia importante avere un microbiota intestinale sano, perché si ritiene abbia effetti benefici nel controllo dell'infiammazione di basso grado e nella regolazione delle funzioni del sistema immunitario, che sono aspetti importanti per prevenire molteplici malattie tra cui i tumori. A questo proposito, ci sono forti evidenze che il consumo di alimenti fonte di fibre riduca il rischio di ammalarsi di cancro del colon retto.

Infatti la British Nutrition Foundation<sup>14</sup> ha compiuto degli studi che hanno seguito nel tempo gli stili di vita e lo stato di salute di diversi gruppi di persone, rilevando che, per ogni sette grammi di fibre consumate in più al giorno, si ha una riduzione del rischio relativo di sviluppare un tumore del colon-retto dell'8% . La conclusione cui è arrivato l'istituto inglese è che un consumo di 30 grammi o più di fibre al giorno assicura una significativa riduzione del rischio di ammalarsi di questo tipo di tumore.

I meccanismi con cui le fibre ci proteggono dal cancro non sono ancora del tutto chiari, ma ci sono alcuni punti fermi su cui la comunità scientifica è concorde.

Innanzitutto, si è visto che diversi tipi di fibre incentivano la crescita di quei batteri del nostro intestino che hanno effetti positivi sulla salute, perché esse costituiscono per loro un nutrimento che li aiuta a moltiplicarsi e a produrre sostanze protettive per il nostro organismo. Questo vale in particolare per quelle fibre che vengono fermentate o metabolizzate dalla microflora intestinale, influenzando il tipo e le caratteristiche della popolazione batterica stessa presente nel colon. Durante il processo di fermentazione si formano infatti degli acidi grassi a catena corta (come il butirrato), con proprietà immuno-modulatorie e antinfiammatorie, che hanno dimostrato di avere effetti anti-proliferativi sulle cellule tumorali del colon.

Il secondo aspetto da considerare è che le fibre hanno la capacità di aumentare il volume delle feci e aumentare il transito intestinale. In questo

modo i nostri prodotti di scarto, compreso le sostanze nocive, rimangono meno a contatto con la mucosa del colon e si riduce la possibilità di interazione con i mutageni fecali, oltre a ridursi la produzione di acidi biliari secondari.

Infine, una dieta ricca di fibre è in grado di tenere sotto controllo la resistenza insulinica, che rappresenta un fattore di rischio per il cancro del colon retto.

Tramite un recentissimo studio alcuni ricercatori hanno posto l'attenzione sui cereali integrali e sulle fibre derivate dai cereali e hanno notato che sono proprio questi tipi di fibra ad avere un ruolo primario nel ridurre il rischio di cancro del colon-retto. Questo è dovuto al fatto che i cereali integrali sono ricchi di sostanze bioattive (come vitamina E, selenio, zinco, fitoestrogeni e ovviamente fibra) presenti in larga parte nella crusca e nel germe di grano e dotate di proprietà anticancro. Anche la loro capacità di regolare la risposta glicemica e di controllare gli agenti cancerogeni è implicata nella protezione anti-tumorale.

## 1.6 GLI ACIDI GRASSI

Negli ultimi decenni, la dieta, in particolare l'assunzione di grassi, ha ricevuto un notevole interesse come possibile fattore di rischio nell'eziologia del cancro del colon-retto.

Gli acidi grassi, componenti fondamentali dei lipidi, sono molecole costituite da una catena di atomi di carbonio, denominata catena alifatica, con un solo gruppo carbossilico (-COOH) ad una estremità. La catena alifatica che li costituisce è tendenzialmente lineare e solo in rari casi si presenta in forma ramificata o ciclica. La lunghezza di questa catena è estremamente importante, in quanto influenza le caratteristiche fisico-chimiche dell'acido grasso; mano a mano che si allunga, la solubilità in acqua diminuisce ed aumenta il punto di fusione.



Si è visto che negli ultimi decenni il consumo di grassi saturi e grassi animali è notevolmente aumentato.

Un rapporto di un gruppo di esperti del WCRF<sup>15</sup> (World Cancer Research Fund International) ha raggiunto un consenso scientifico sul fatto che si ha un'associazione molto forte tra l'assunzione di grassi saturi e grassi animali e il rischio di cancro del colon.

Infatti i continui studi sulla popolazione hanno rivelato che le diete particolarmente ricche di grassi totali, in particolar modo di grassi animali, sono generalmente associate ad un aumentato rischio di sviluppare il cancro al colon, mentre l'alto contenuto di olio di pesce o pesce riduce questo rischio.

Uno studio del Chang et al.<sup>16</sup> ha riportato un effetto protettivo dell'olio di pesce ricco di PUFA (acidi grassi polinsaturi) n-3 contro la carcinogenesi del colon. In questo studio si è visto che l'alto contenuto di olio di pesce nella dieta ha inibito significativamente lo sviluppo del cancro del colon rispetto ad una dieta ad alto contenuto di olio di mais; questa inibizione è associata, principalmente, a livelli inferiori di danno al DNA nel colon distale<sup>17</sup>.

Dunque da questi studi si può concludere che le diete contenenti un'elevata quantità di grassi saturi di origine animale o PUFA n-6 avevano un maggiore effetto di potenziamento del tumore al colon rispetto alle diete a basso contenuto di tali acidi grassi, mentre le diete ricche di PUFA n-3 non avevano tale effetto potenziante.

Per quanto riguarda il meccanismo d'azione dei grassi saturi e dei PUFA n-6 e n-3 nella carcinogenesi del colon, diversi studi indicano che le diete ricche di acidi grassi saturi (sego e strutto di manzo) e di n-6 PUFA (olio di mais o cartamo olio) aumentano la concentrazione di acidi biliari secondari luminali del colon tra cui acido desossicolico e acido litocolico, mentre l'olio di pesce dietetico ad alto contenuto di PUFA n-3 non ha avuto tale effetto di potenziamento.

È stato dimostrato che gli acidi biliari secondari stimolano la proteina C chinasi (PKC) in modo simile agli esteri del forbolo, inducendo la proliferazione cellulare e l'attività dell'ornitina decarbossilasi, un enzima che limita la velocità nella biosintesi delle poliammine, e agendo così come promotori nella carcinogenesi del colon.

Ci sono studi che indicano che la sintetasi inducibile dell'ossido nitrico (iNOS), che è regolato principalmente a livello trascrizionale, è sovraespresso negli adenomi del colon umano.

L'accumulo di dati indica anche che la sovrapproduzione dell'ossido nitrico (NO) da parte di iNOS è fondamentale per il processo di carcinogenesi e induce lesioni del DNA deaminato, con conseguente danno al DNA. Questi dati suggeriscono chiaramente un ruolo chiave dell'NO nell'iniziazione, promozione e progressione del tumore.

Si è visto che l'acido desossicolico stimola l'attività iNOS nelle cellule intestinali<sup>18</sup>.

Pertanto un pretrattamento con specifici inibitori della PKC, si è visto, possa sopprimere l'espressione dei iNOS, suggerendo così che uno dei meccanismi dei promotori tumorali, inclusi gli acidi biliari secondari, è determinato dall'aumento dell'espressione di iNOS<sup>12</sup>.

La composizione degli acidi grassi delle cellule è sensibile alla composizione della dieta; infatti, alcuni studi, hanno rilevato che livelli crescenti di olio di pesce alimentare hanno aumentato gli acidi grassi omega-3, e cioè l'acido docosaesaenoico (DHA) e l'acido eicosapentaenoico (EPA) nelle frazioni fosfolipidiche della membrana mucosa del colon a spese dei PUFA omega-6 come l'acido linoleico e l'acido arachidonico suggerendo la possibilità che il DHA e l'EPA dell'olio di pesce possano modulare l'attività degli enzimi legati alla membrana sostituendo parzialmente l'acido arachidonico e l'acido linoleico nel pool fosfolipido.

È ben noto che l'acido arachidonico e alcuni dei suoi metaboliti, comprese le prostaglandine, svolgono un ruolo importante nella via di segnalazione intracellulare associata alla proliferazione cellulare e all'espressione genica. Le prostaglandine aumentano la proliferazione cellulare, promuovono l'angiogenesi e inibiscono la sorveglianza immunitaria; questi sono tutti fattori che coinvolti nella crescita del tumore.

In conclusione si può affermare che le diete ricche di grassi saturi aumentano il rischio di cancro del colon-retto, mentre le diete ricche di PUFA n-3 ne riducono il rischio.

Dunque la prevenzione nutrizionale ha il potenziale per essere una componente importante del controllo del cancro del colon, in particolare la prevenzione primaria nella popolazione generale. Per la prevenzione primaria del cancro del colon-retto, i livelli di PUFA n-3<sup>19</sup> nella dieta dovrebbero essere coerenti con le raccomandazioni basate su studi epidemiologici sulla malattia coronarica che suggeriscono il consumo di 1-2 pasti di pesce a settimana; oltre ad avere un buon rapporto di acidi grassi polinsaturi con la dieta è anche importante mantenere un rapporto di acidi grassi omega-6 e omega-3 pari a 4:1.

### 1.6.1 GLI ACIDI GRASSI A CATENA CORTA E BUTIRRATO

Gli acidi grassi a catena corta o SCFA sono una classe di acidi grassi saturi con meno di sei atomi di carbonio.

Gli acidi grassi a corta catena, così come quelli a catena media (MCFA o MCT), vengono assorbiti come tali a livello intestinale e veicolati direttamente al fegato tramite la vena porta (sono infatti solubili in acqua), al contrario degli acidi grassi a catena lunga (LCFA), che sono inglobati nei chilomicroni ed accedono al circolo ematico tramite i capillari linfatici e l'arteria succlavia.

Le fonti alimentari di acidi grassi a corta catena sono limitate: infatti, essi sono prodotti prevalentemente dalla fermentazione della fibra alimentare

solubile (in particolare amido resistente, pectina, frutto-oligosaccaridi ) e di altri carboidrati non digeriti, ad opera dei batteri del colon. I prodotti di tale fermentazione sono l'acido butirrico, l'acido propionico e acido acetico i quali sono essenziali per la salute della mucosa del colon e se non venissero prodotti in tale modo non sarebbero introdotti con la dieta, ad eccezione di piccole quantità che possono essere ingerite ma vengono assorbite dall'intestino tenue.

Sebbene i rapporti molari di questi SCFA varino in base alla composizione del microbiota intestinale e in base alla fonte di fibre, il butirrato viene prodotto in quantità maggiore rispetto agli altri due, successivamente si ha l'acido propionico e infine, quello che viene prodotto in quantità minore, è l'acido acetico; questa classificazione è importante in quanto ognuno degli SCFA ha un proprio ruolo nel mantenere l'omeostasi della mucosa<sup>20-21</sup>.

Il butirrato, SCFA a quattro atomi di carbonio, in particolare, rappresenta - unitamente alla glutammina - la maggiore fonte energetica per i colonociti (le cellule del colon), tanto che la sua carenza determina atrofia della mucosa. Lo stesso, inoltre, si è visto avere effetti positivi nella prevenzione del cancro al colon; ha dimostrato di avere la capacità di inibire la proliferazione di cellule cancerogene ma anche di stimolarne la differenziazione.

Si è visto che i batteri, come *Enterococcus* e *Streptococcus* spp, che fermentando la fibra producono butirrato, e di conseguenza la quantità di butirrato erano più numerosi nei soggetti sani che consumavano una dieta ricca di fibra, mentre erano meno presenti nei pazienti con adenoma del colon-retto. È per questo motivo che si può pensare che la diminuzione dei livelli di butirrato possa essere un biomarcatore del rischio di cancro. Inoltre oltre ad essere un biomarcatore del rischio di cancro si ipotizza che possa essere anche un indicatore della progressione e della gravità del cancro<sup>22</sup>.

Numerose evidenze sperimentali<sup>23-24-25</sup> hanno dimostrato l'effetto inibitorio del butirrato sulla tumorigenesi attraverso molteplici meccanismi (FIG. 2). Le azioni critiche includono i suoi effetti antinfiammatori e immunomodulatori<sup>26</sup>, la downregulation della via di segnalazione chiave canonica del Wnt – via di trasduzione del segnale attraverso proteine che trasmettono il segnale dall'esterno della cellula, attraverso recettori di superficie, all'interno della cellula- legata alla carcinogenesi del colon<sup>27</sup>, l'inibizione della proliferazione e della migrazione delle cellule neoplastiche, la restrizione dell'angiogenesi tumorale, l'induzione dell'apoptosi e la differenziazione promossa dei colonociti neoplastici<sup>28</sup>. Il butirrato ha un ruolo importante nel rafforzare la barriera di difesa della mucosa migliorando l'espressione dei geni che codificano la mucina e l'induzione di fattori del trifoglio, proteine da shock termico, peptidi antimicrobici e attività della transglutaminasi. Infine, esiste anche la prova che le potenti azioni del butirrato sul mantenimento della salute della mucosa del colon sono almeno in parte mediate dall'attivazione delle cellule Treg del colon.

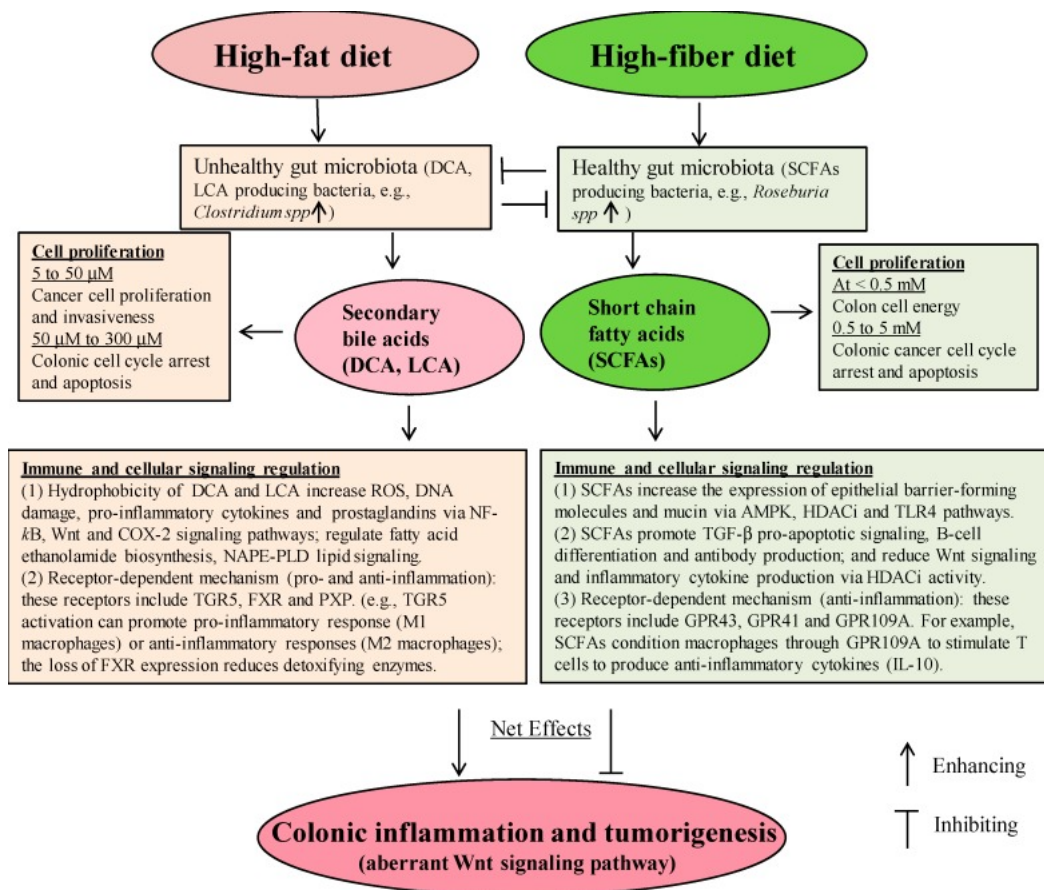


Figura 2.

Prove emergenti suggeriscono che gli effetti del butirrato possono essere spiegati dall'effetto Warburg osservato in vari tumori<sup>29</sup>.

Fisiologicamente si hanno due vie per utilizzare glucosio: la glicolisi (anaerobia) e il metabolismo ossidativo del piruvato nei mitocondri (aerobio).

Il termine effetto Warburg descrive l'osservazione che le cellule cancerose mostrano la fermentazione del glucosio anche quando è presente una quantità sufficiente di ossigeno per respirare adeguatamente. Secondo questo effetto i colonociti non cancerosi utilizzano la respirazione aerobica per soddisfare il fabbisogno energetico mentre i colonociti cancerosi si affidano alla glicolisi anaerobica anche quando l'O<sub>2</sub> è abbondante.

La fosforilazione a livello del substrato che si verifica durante la respirazione anaerobica genera citrato nella matrice mitocondriale il quale

viene esportato nel citoplasma, convertito in acetil CoA tramite l'ATP citrato liasi (ACL) e successivamente utilizzato per la biosintesi dei lipidi coinvolti nella proliferazione cellulare<sup>30</sup>. Dunque in condizioni di glicolisi anaerobica, l'ossidazione degli acidi grassi è limitata. Pertanto, il butirrato SCFA non viene ampiamente utilizzato come fonte di energia dai colonociti e inizia ad accumularsi nel citoplasma; questo accumulo consente al butirrato di agire come HDACi (istone deacetilasi 1) e sensibilizza i colonociti cancerosi ai meccanismi apoptotici, portando, così, le cellule tumorali alla morte cellulare<sup>31-32</sup>. Inoltre l'attività dell'HDACi del butirrato agisce anche per prevenire l'infiammazione derivata dai macrofagi sottoregolando la produzione e la secrezione di citochine proinfiammatorie nell'intestino al fine di integrare una simile sottoregolazione delle vie proinfiammatorie tramite GPCR.

## 1.7 GLI ACIDI BILIARI SECONDARI

Gli acidi biliari sono dei normali metaboliti nel lume intestinale e sono necessari per la digestione e l'assorbimento dei lipidi, nonché per l'assorbimento del colesterolo e delle vitamine liposolubili.

Un ulteriore loro funzione è quella di regolare l'omeostasi epiteliale intestinale nel tratto gastrointestinale<sup>33</sup>.

Nel fegato, gli acidi biliari primari sono coniugati alla glicina o alla taurina dagli enzimi BA-CoA sintasi (BACS) e BA-amminoacido transferasi (BAT)<sup>27</sup>. Questi acidi biliari coniugati vengono successivamente immagazzinati nella cistifellea<sup>27</sup> e, a seguito della secrezione stimolata da colecistochinina nel duodeno, contribuiscono alla solubilizzazione e alla digestione dei lipidi ingeriti attraverso l'intestino tenue e il colon<sup>27</sup>. Le diete ad alto contenuto di grassi inducono una maggiore secrezione di acidi biliari con conseguente aumento delle concentrazioni nel colon di acidi biliari primario rispetto alle diete a normale o basso contenuto di grassi. Una parte degli acidi biliari primari coniugati vengono riassorbiti nell'ileo distale,

principalmente attraverso il trasporto attivo da parte del trasportatore apicale sodio-dipendente dei sali biliari (ASBT) o del trasportatore ileale BA (IBAT) attraverso la circolazione enteroepatica, mentre la restante parte può fungere da substrati per il metabolismo microbico e subire una biotrasformazione in acidi biliari secondari, che possono promuovere la carcinogenesi del colon. Le principali biotrasformazioni includono: idrolisi di BA coniugati a BA liberi e glicina o taurina da parte dell'idrolasi dei sali biliari (BSH); 7 $\alpha$ -deidrossilazione dell'acido colico (CA) e dell'acido chenodesossicolico (CDCA) producendo rispettivamente acido desossicolico (DCA) e acido litocolico (LCA).

Studi epidemiologici<sup>34</sup> hanno dimostrato che i soggetti che consumano una dieta ricca di grassi producono livelli elevati di BA secondari fecali, principalmente DCA e LCA, così come i pazienti con cancro del colon. La mucosa intestinale si rinnova costantemente e una delle forze primarie coinvolte in questo processo è la via di segnalazione canonica Wnt/ $\beta$ -catenina<sup>35-36</sup>.

Tramite questi studi si è notato che, in primo luogo, la carcinogenesi del colon è un processo progressivo che include una sequenza di mutazioni cellulari durante la progressione da adenoma a carcinoma, alcune delle quali provocano la deregolazione di Wnt e le vie di segnalazione apoptotiche. Le risposte cellulari ai acidi biliari secondari nella tumorigenesi del colon includono l'attivazione delle vie di segnalazione Wnt e NF $\kappa$ B, il danno ossidativo del DNA e le attività mitotiche alterate che portano all'iperproliferazione e all'invasività delle cellule del colon. L'aumento delle concentrazioni di DCA e LCA nel colon promuovono l'apoptosi principalmente attraverso l'attivazione di vie apoptotiche intrinseche tra cui lo stress ossidativo mitocondriale, le specie reattive dell'ossigeno (ROS), il citocromo C e le caspasi citosoliche. Successivamente, alcune cellule epiteliali del colon possono diventare



resistenti all'apoptosi indotta da acidi biliari e questa sottopopolazione cellulare è stata collegata allo sviluppo del cancro del colon.

In secondo luogo, in risposta a concentrazioni tossiche di acidi biliari, una complessa rete di recettori nucleari costituita da FXR, VDR, PXR e CAR, coordina il controllo dell'assorbimento e della disintossicazione di BA. Questi recettori regolano anche il ciclo cellulare, la mitosi, la proliferazione e l'apoptosi. Nel 2003, è stato scoperto che l'espressione di FXR era assente in alcune linee cellulari di cancro del colon<sup>37</sup>. Studi successivi sul tumore intestinale e sulla mucosa normale adiacente hanno mostrato che l'espressione di FXR è fortemente diminuita durante la transizione dall'epitelio normale a quello trasformato neoplastica<sup>38</sup>.

Tramite questi risultati si è visto che l'attivazione del FXR nelle cellule del cancro del colon sopprime la proliferazione dell'epitelio del colon e induce geni pro-apoptotici, come p21, mentre reprime i geni antiapoptotici (ad esempio, Bcl-2)<sup>39</sup>. Dunque, questi dati dimostrano che il deficit di FXR (anche senza elevati livelli secondari di BA) aumenta la suscettibilità alla tumorigenesi intestinale attraverso la perturbazione degli eventi apoptotici cellulari e dell'integrità della mucosa intestinale.

In terzo luogo, la deregolamentazione del sistema di disintossicazione enzimatica potrebbe aumentare il rischio di cancro al colon dovuto al consumo cronico di pasti ricchi di grassi. Diverse linee di evidenza suggeriscono che FXR esercita effetti soppressivi del tumore mediante l'induzione trascrizionale di enzimi disintossicanti che metabolizzano e mediano l'escrezione di BA tossici.

## CAPITOLO 2: PARTE SPERIMENTALE

### 2.1 SCOPO DELLO STUDIO

L'utilizzo di chemioterapici a somministrazione orale per il trattamento dell'adenocarcinoma del colon-retto metastatico e/o localmente avanzato nei pazienti già sottoposti alle prime due linee di trattamento chemioterapico, è approvato in Italia dal 2014. I farmaci impiegati sono il TAS-102 (o anche conosciuto come Tipiracil/Trifluridina, nome commerciale Lonsurf) ed il Regorafenib (nome commerciale Stivarga).

Entrambi i farmaci sono oggetto di questa analisi.

Il TAS-102 è un farmaco antitumorale prodotto dalla combinazione di trifluorotimidina (FTD) e di un inibitore della timidina fosforilasi tipiracil cloridrato (TPI), necessario per inibire la degradazione della trifluorotimidina. Infatti, seppur TAS-102 sia un farmaco nucleosidico che agisce a livello del DNA, la sua modalità di assunzione per via orale favorisce la degradazione della trifluorotimidina. La timidina fosforilasi tipiracil cloridrato contrasta proprio questo effetto determinando pertanto un aumento dell'emivita della Trifluridina e consentendo pertanto al farmaco di essere efficace.

Invece il Regorafenib è un inibitore tirosin-kinasico per uso orale che blocca efficacemente diverse protein-chinasi, comprese le chinasi coinvolte nell'angiogenesi tumorale (VEGFR1, -2, -3, TIE2), nell'oncogenesi (KIT, RET, RAF-1, BRAF, BRAFV600E) e nel microambiente tumorale (PDGFR, FGFR). In particolare, il Regorafenib inibisce la forma mutata di KIT, un importante driver oncogenico nei tumori stromali gastrointestinali, bloccando quindi la proliferazione delle cellule tumorali e parte dell'effetto terapeutico è stato essere correlato all'inibizione di RET, un altro proto-oncogene che si trova iperespresso in alcuni tumori e tessuti, specialmente a livello tiroideo.

I soggetti sottoposti a qualsiasi trattamento chemioterapico sono pazienti a maggior rischio di sarcopenia, o possono già presentarla alla diagnosi.

La sarcopenia è una sindrome che si caratterizza per la progressiva e generalizzata perdita di massa muscolare e della forza fisica. I sintomi principali sono: senso di debolezza costante, riduzione della resistenza, scarso equilibrio e passo rallentato.

I fattori che incidono sulla perdita di massa muscolare sono principalmente due. Il primo è rappresentato dalla malnutrizione, assai frequente in chi affronta le terapie oncologiche, causata dagli effetti collaterali delle terapie come nausea, difficoltà a deglutire, mancanza di appetito.

In particolare, i trattamenti chemioterapici a base di platino-derivati (impiegati frequentemente nella gestione dei pazienti con carcinoma del colon-retto) hanno la duplice tendenza ad essere associati a maggior rischio di sarcopenia nei soggetti che li ricevono e di essere ulteriormente più tossici nei soggetti già sarcopenici.

Il secondo fattore riguarda le sostanze infiammatorie, chiamate citochine infiammatorie, che vengono prodotte in parte dal tumore e in parte dal nostro stesso sistema immunitario che cerca in tutti i modi di sconfiggerlo. Le citochine infiammatorie provocano, anche, la distruzione delle proteine di cui sono composti i nostri muscoli.

Tutto questo ha un impatto sulla massa muscolare che si riduce, e di conseguenza comporta una diminuzione della forza fisica.

La riduzione della forza fisica, di conseguenza, provoca una maggiore stanchezza che peggiora tutti gli ambiti della quotidianità, riducendo la qualità di vita e l'apporto stesso di alimenti; questo perché la sarcopenia può interessare anche i muscoli della masticazione e della respirazione.

La presenza di sarcopenia aumenta la tossicità delle terapie oncologiche, con il rischio, di provocare maggiori effetti collaterali.

Per evitare il rischio di sarcopenia, o il miglioramento di essa, i pazienti oncologici dovrebbero essere inseriti in un percorso nutrizionale.

L'approccio nutrizionale dovrebbe:

- Avere un incremento dell'intake proteico da 1 a 1,2 g/pro-kg/die fino a 1,5 g/pro-kg/die in modo da consentire la ricostruzione della massa muscolare. Qualora, tale quota proteica, sia difficile da raggiungere con una corretta alimentazione è indicato supplementare con integratori proteici.
- Avere una redistribuzione della quota proteica tra i 3 pasti principali; usualmente nella nostra alimentazione la quota proteica viene assunta soprattutto nel pasto serale e questo non rende ottimale l'assorbimento proteico. Quindi redistribuendo la quota proteica si ha un miglior utilizzo delle proteine a scopo anabolico.
- Prediligere gli amminoacidi essenziali come la leucina, isoleucina e valina in quanto stimolano più velocemente degli altri amminoacidi la crescita cellulare e la sintesi nucleotidica. In più, i lavori in letteratura hanno evidenziato che la leucina ha un ruolo primario nell'attivare l'mTORC, che sarebbe il principale regolatore della sintesi proteica.

Il miglioramento della sarcopenia è molto importante anche per ridurre la tossicità e l'incidenza degli eventuali effetti collaterali dei farmaci.

Entrambi i farmaci, utilizzati in questo studio, possono presentare degli effetti collaterali:

- Il trattamento con TAS-102 ha come principali effetti collaterali la possibilità di tossicità ematologica, soprattutto caratterizzata da neutropenia ed anemia (ed occasionalmente trombocitopenia). Inoltre, anche se in misura modesta, sono descritti casi di nausea/vomito o diarrea con il farmaco (da mettere in relazione ad un effetto di classe associato agli analoghi pirimidinici come il 5-Fluorouracile).

- Il trattamento con Regorafebin potrebbe portare a sviluppare ipertensione e soprattutto distiroidismi, caratterizzati da transitorie fasi di ipertiroidismo associate a più prolungate fasi di ipotiroidismo (che riconoscono una genesi sconosciuta, essendo state in parte messe in correlazione con l'inibizione di RET ed in parte all'effetto anti-angiogenico che determinerebbe un peggioramento della vascolarizzazione a livello di organi con circolazione critica come la tiroide). Precedenti studi hanno già dimostrato, con l'impiego della TC che questo farmaco è più sarcopenizzante rispetto al TAS-102

Pertanto, lo scopo del nostro studio è dato da una correlazione tra composizione corporea (influenzata dall'intervento nutrizionale) e trattamento chemioterapico, che a sua volta influenza la prognosi, intesa come tossicità dei trattamenti, sopravvivenza, capacità di arrestare l'evoluzione della malattia, in base all'andamento della composizione corporea.

## 2.2 MATERIALI E METODI

### 2.2.1 Popolazione e arruolamento

Per questo studio prospettico, monocentrico sono stati selezionati fra tutti i pazienti afferenti all'ambulatorio oncologico dei tumori gastro-intestinali della Clinica di Oncologica dell'Università Politecnica delle Marche (Ancona), pazienti affetti da adenocarcinoma del colon-retto metastatico e/o localmente avanzato sottoposti a trattamento con farmaci chemioterapici a somministrazione orale, utilizzati a scopo palliativo. In particolare sono stati arruolati pazienti che hanno iniziato il trattamento con TAS-102 (Lonsurf) o Regorafenib, utilizzati dopo la progressione ad almeno due precedenti linee di trattamento chemioterapico.

In questo studio sono stati arruolati in tutto nove pazienti, di cui tre femmine con età compresa tra 43 e 71 anni, e sei uomini con età compresa tra 66 e 79 anni.

Tutti i pazienti, tranne uno, all'inizio del trattamento con chemioterapici orali presentavano metastasi che potevano interessare il polmone, il fegato, il peritoneo o i linfonodi. Di questi pazienti otto sono stati sottoposti al trattamento con TAS-102 (Lonsurf) e uno con Regorafenib.

All'inizio della prima visita ciascun paziente è stato sottoposto ad una visita dietologica con rivalutazione ogni 2 mesi per vedere l'andamento del peso corporeo, ma soprattutto della composizione corporea.

### 2.2.2 Raccolta dati

Ogni paziente, successivamente alla visita con l'oncologo, è stato sottoposto ad una visita dietologica in cui sono stati valutati:

- Il peso
- L'altezza
- Eventuali difficoltà nella deglutizione
- L'alvo
- L'attività fisica
- La presenza di ulteriori patologie oltre quella oncologica

Oltre a questi aspetti si è valutata anche l'anamnesi alimentare in cui si chiedeva al paziente le proprie abitudini alimentari tramite il recall delle 24h.

Successivamente ciascun paziente è stato sottoposto all'esame della bioimpedenziometria per valutare la composizione corporea.

Infine, basandosi sulle abitudini alimentari del paziente, sul BMI e sui dati della bioimpedenziometria, ad ogni paziente è stata attribuita una dieta.

### 2.2.3 La bioimpedenziometria

L'analisi della bioimpedenziometria (BIA) è un approccio non invasivo, a basso costo e comunemente utilizzato per le misurazioni della composizione corporea (massa magra, massa grassa e acqua totale) e la valutazione delle condizioni cliniche.

È una tecnica a modello tricompartimentale in quanto individua:

- La BCM (massa cellulare), componente metabolicamente attiva della massa magra, compartimento di cui il corpo umano dovrebbe essere dotato in abbondanza
- L'ECM (massa extracellulare), dotata di minore potenziale metabolico, componente della massa magra composta da fluidi interstiziali, scheletro, collagene, legamenti;
- La FM (massa grassa), costituisce il deposito di energia dell'organismo, è importante che questo accumulo non oltrepassi i limiti fisiologici

Svolgere questo esame è molto importante perché, un aspetto prioritario per chi vuole stare in salute, anche se normopeso, per chi vuole recuperare un sano peso forma è quello di conoscere la propria composizione corporea. Infatti il peso indicato dalla bilancia non ci fornisce informazioni sulla quantità di massa grassa e massa muscolare che abbiamo, né ci indica se siamo ben idratati o se per contro siamo in una condizione di disidratazione o ritenzione idrica; la bioimpedenziometria, invece, ci dà informazioni su tutti questi aspetti.

La BIA si basa sul principio che i tessuti biologici si comportano come conduttori, semiconduttori o isolanti. Le soluzioni elettrolitiche intra ed extracellulari dei tessuti magri sono ottimi conduttori, mentre osso e grasso sono isolanti, e non sono attraversati dalle correnti.

La misurazione viene effettuata facendo stendere il paziente in posizione supina e posizionando una coppia di elettrodi sul dorso della mano ed un'altra coppia sul dorso del piede del soggetto (tecnica tetra-polare mano-piede); gli elettrodi sono collegati, grazie a dei morsetti, allo strumento di misurazione.

Si fa passare una corrente alternata, impercettibile, di bassissima intensità (800  $\mu$ A) ed alta frequenza (50 KHz) attraverso gli elettrodi, la quale, viaggiando lungo il corpo, incontrerà resistenze diverse a seconda

della composizione dei vari distretti corporei: il bioimpedenziometro registra la velocità e la modificazione di essa (caduta di tensione) e quindi fornisce i dati elettrici rilevati (resistenza e reattanza espresse in Ohm), calcolando l'impedenza dei tessuti attraversati.

La Resistenza ( $R_z$ ) rappresenta la capacità di tutte le strutture biologiche di opporsi al passaggio della corrente elettrica. I tessuti privi di grasso, buoni conduttori, rappresentano così una via di bassa resistenza, quindi ideale per il passaggio della corrente. I tessuti adiposi, cattivi conduttori, rappresentano invece una via elettrica molto resistiva. Da questo si può dedurre che un soggetto molto grasso con poca acqua totale rappresenta un corpo con una resistenza elevata in confronto ad un soggetto muscoloso e magro.

La Reattanza ( $X_c$ ) o resistenza capacitiva, è la forza che si oppone al passaggio di una corrente elettrica a causa di una capacità (condensatore): nel corpo umano la massa cellulare si comporta come un condensatore, dove la cellula è costituita da una membrana di materiale lipidico non conduttivo, interposto tra due strati di molecole proteiche conduttive.

Una volta ottenuta la resistenza e la reattanza dal bioimpedenziometro, si crea per ogni paziente una cartella dove vengono inserite le misurazioni insieme ai dati anagrafici del paziente nel software il quale trasforma, poi, le misure elettriche rilevate in dati clinici, sulla base di algoritmi che tengono conto dei valori di riferimento della popolazione, delle misure antropometriche del soggetto (peso e altezza), della sua età e del sesso. Successivamente il software ci fornisce dei grafici, chiamati nomogrammi (FIG.3)



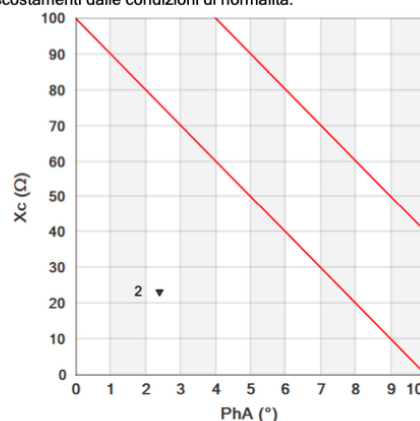
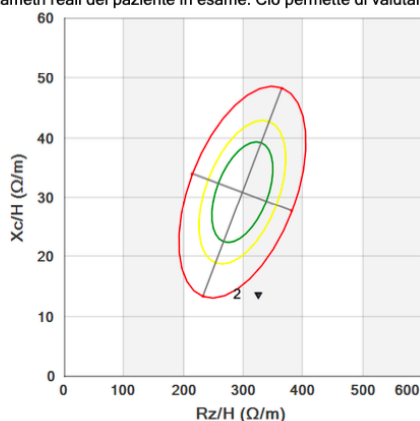
esame del: 11/05/2021

Sesso: M RZ: 548 Ω XC: 23 Ω PhA: 2,4 °

Data di nascita: Peso: 77,5 kg Altezza: 169,0 cm

Idratazione: 86,3 % (TBW/FFM)

Questo rapporto permette di ottenere dati clinici inerenti lo stato di idratazione e di nutrizione attraverso grafici clinicamente validati, chiamati nomogrammi. Il report fornito mostra in modo rapido quali sono i parametri di normalità nei vari compartimenti corporei ed i parametri reali del paziente in esame. Ciò permette di valutare eventuali discostamenti dalle condizioni di normalità.



Dati	Valori stimati	kg/m	Valori di riferimento	Differenza
BMI:	27,1 kg/m <sup>2</sup>		18,0 - 25,0 Kg/m	
PhA:	2,4 °		4,4 - 6,2 °	- 2,9 °
BCMI:	4,2			
BMR:	1101,9 kcal	4610,6 kJ	TEE (BMR X PAL): 1432,5 kcal 5993,7 kJ	
BCM:	12,1 kg	7,2 kg/m	14,0 - 21,0 Kg/m	- 10,3 kg/m
FFM:	46,1 kg	27,3 kg/m	28,0 - 35,0 Kg/m	- 4,2 kg/m
FM:	31,4 kg	18,6 kg/m	4,0 - 9,0 Kg/m	+ 12,1 kg/m
TBW:	39,8 L	23,6 L/m	18,0 - 26,0 L/m	+ 1,6 L/m
ECW:	28,4 L		71,4 %   TBW	+ 25,4 %   TBW

Figura 3.

Il report fornito mostra in modo rapido quali sono i parametri di normalità nei vari compartimenti corporei ed i parametri reali del paziente

in esame. Ciò permette di valutare eventuali discostamenti dalle condizioni di normalità.

Ad ogni rivalutazione, poi, le nuove misurazioni vengono inserite nella cartella del paziente in modo tale da avere all'istante il confronto con la prima misurazione per vedere eventuali miglioramenti o peggioramenti della composizione corporea.

#### 2.2.4 La dieta

Come precedentemente detto, successivamente alla visita, ad ogni paziente è stata attribuita una dieta/piano alimentare.

Una volta valutato se il paziente si trovava in una condizione di sottopeso, normopeso, sovrappeso o obesità, tramite il BMI, è stata stabilita la quota calorica giornaliera:

- Per i pazienti borderline tra il sottopeso e il normopeso è stata considerata una dieta ipercalorica con 35 kcal per peso corporeo ideale;
- Per i pazienti normopeso e in sovrappeso è stata considerata una dieta normocalorica con 25 kcal per peso corporeo ideale;
- Infine per i pazienti in una condizione di obesità è stata considerata una dieta leggermente ipocalorica con 20 kcal per peso corporeo ideale.

Dal punto di vista delle proteine, per tutti i pazienti è stata elaborata una dieta iperproteica con 1,2 g di proteine per peso corporeo ideale. Questo perché la principale strategia nutrizionale, per la perdita di massa muscolare, è rappresentata da una dieta che garantisca un congruo apporto giornaliero di proteine, tale da superare la ridotta capacità di sintesi proteica muscolare.

Un'adeguata distribuzione della quota proteica ai pasti costituisce una strategia potenzialmente efficace nel contrastare o migliorare la sarcopenia, attraverso l'ottimizzazione dello stimolo sulla sintesi proteica muscolare.

Le proteine di origine animale, rispetto alle proteine di origine vegetale, svolgono la maggior parte dell'azione protettiva sulla perdita di massa e forza muscolare. La maggior azione anabolica delle proteine animali è attribuibile, almeno in parte, alla maggior digeribilità ed al maggior contenuto in amminoacidi essenziali, in particolare leucina, considerata il principale attivatore del processo di sintesi a livello delle fibre muscolari.

In aggiunta, ad ogni paziente è stato consigliato un ulteriore supplemento proteico con un tipo differente di integratore di amminoacidi tra:

- Aminotrofic
- Mythoxan (Mytho)
- Nutrixam (Named)
- Amino W.H.O. (specchiasol)

La dieta è stata personalizzata nei pazienti che presentavano altre patologie come diabete o disturbi intestinali.

#### 2.2.5 Analisi statistica

Le stime di sopravvivenza sono state calcolate attraverso il metodo di Kaplan-Meier: in particolare la sopravvivenza libera da progressione (PFS) è stata calcolata dal giorno di inizio del trattamento con Lonsurf/Regorafenib fino al giorno di sospensione trattamento per tossicità, progressione radiologica di malattia, decesso del paziente o perdita del paziente al follow-up (alla prima di queste evenienze). Per quanto riguarda invece la sopravvivenza complessiva (OS) questa è stata calcolata dal giorno di inizio del trattamento con Lonsurf/Regorafenib fino all'ultimo appuntamento per i pazienti persi al follow-up o data di decesso del paziente.

Per quanto riguarda la risposta ai trattamenti sono stati impiegati i criteri RECIST 1.1.

Per le variabili continue è stata valutato se la loro distribuzione è normale in base al test D'agostino-Pearson. Qualora le variabili si fossero dimostrate continue è stato scelto un cut-off per renderle dicotomiche pari al valore mediano della distribuzione. Le variazioni dei valori delle singole variabili osservate tra le due valutazioni (tempo 0 e dopo 2 mesi) sono state valutate mediante il test di Wilcoxon.

Per la valutazione dell'impatto delle variabili raccolte sulle misure di sopravvivenza è stato utilizzato il log-rank test mentre per la valutazione della correlazione tra le variabili categoriali dicotomiche il test esatto di Fisher ed il test chi-quadro per le variabili categoriali non dicotomiche.

Per ogni analisi eseguita il limite di significatività statistica è stato posto pari a  $p < 0.05$ .

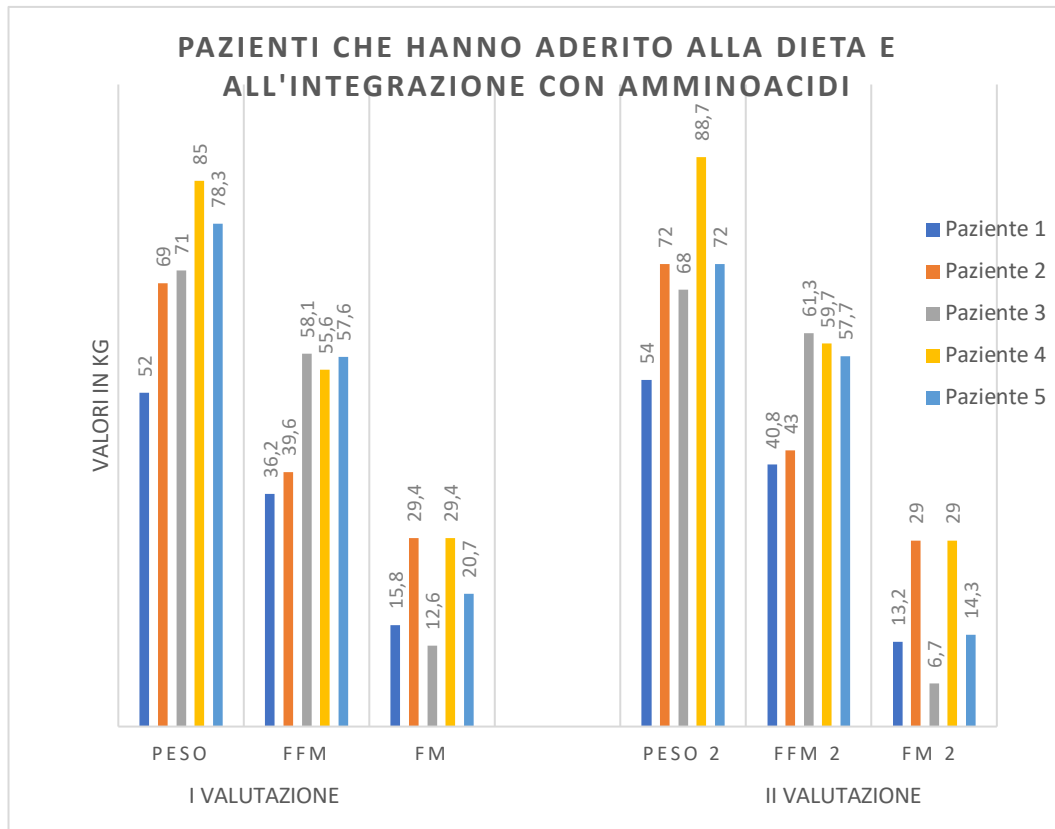
## CAPITOLO 3: RISULTATI

I pazienti successivamente alla prima valutazione nutrizionale sono stati rivalutati dopo due mesi, andando a verificare se avevano aderito al regime dietetico e all'integrazione con amminoacidi, e se ciò aveva determinato una modificazione del peso ma soprattutto della composizione corporea.

### 3.1 VALUTAZIONE ANAMNESI ALIMENTARE E COMPLIANCE ALLA DIETA

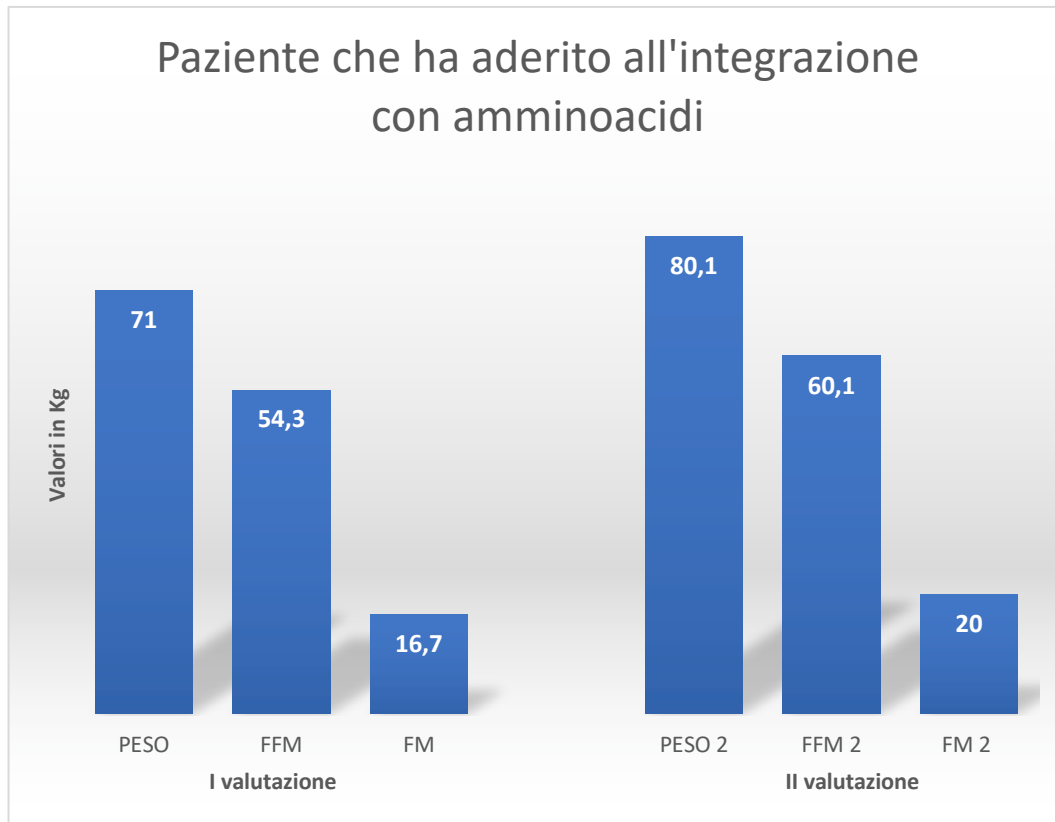
Successivamente alla rivalutazione abbiamo osservato che cinque pazienti hanno aderito sia alla dieta che all'integrazione con amminoacidi, un paziente ha aderito soltanto all'integrazione con amminoacidi e due pazienti non hanno aderito né alla dieta né all'integrazione con amminoacidi.

Come si evince dal grafico 1 i pazienti che hanno aderito sia alla dieta che all'integrazione con amminoacidi hanno avuto un notevole miglioramento della composizione corporea; infatti hanno tutti presentato un aumento della massa magra (FFM) e una diminuzione della massa grassa (FM).



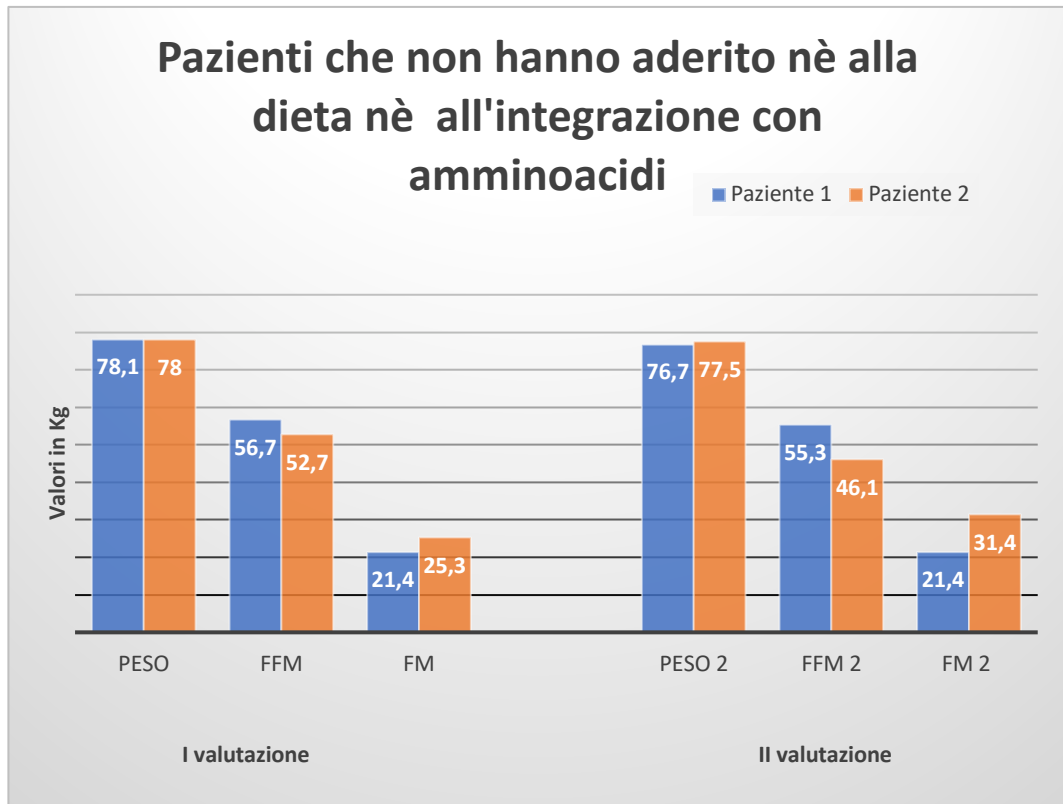
**Grafico 1: Andamento del peso, della massa magra e della massa grassa nei pazienti che non hanno aderito alla dieta e all'integrazione con amminoacidi.**

Invece come si può osservare dal grafico 2 il paziente che non ha aderito alla dieta ma ha aderito soltanto all'integrazione con amminoacidi ha avuto un aumento della massa magra (FFM) ma anche un aumento della massa grassa (FM).



**Grafico 2: Andamento del peso, della massa magra e della massa grassa nei pazienti che non hanno aderito all'integrazione con amminoacidi ma non alla dieta.**

Infine, come si può osservare dal grafico 3 i pazienti che non hanno aderito né alla dieta né all'integrazione con amminoacidi hanno avuto un peggioramento della composizione corporea; infatti hanno tutti presentato una diminuzione della massa magra (FFM) e un aumento della massa grassa (FM).

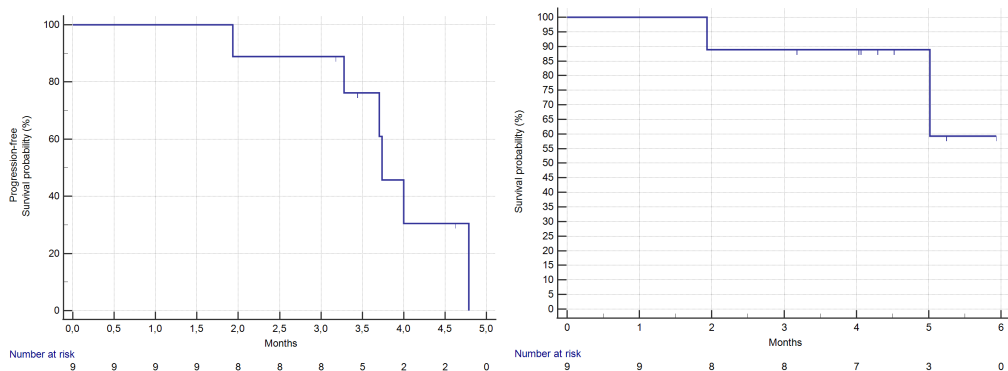


**Grafico 3: Andamento del peso, della massa magra e della massa grassa nei pazienti che non hanno aderito né alla dieta né all'integrazione con amminoacidi.**

### 3.2 OUTCOME DEL FARMACO

Come possiamo osservare dal grafico 4, che ci indica le misure dell'outcome dell'intero gruppo di pazienti, 3 su 9 pazienti sono stabili alla prima rivalutazione strumentale (numeri in linea con i dati in letteratura), questo significa che non si è verificata una progressione della patologia iniziale.





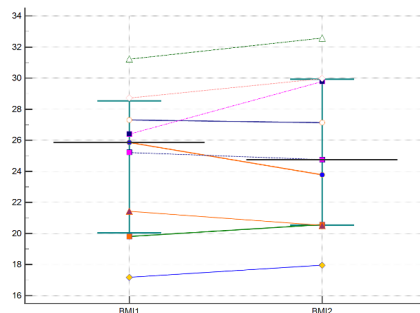
**Grafico 4: Curve di sopravvivenza libera da progressione (SX) e sopravvivenza globale (DX) dell'intero gruppo di pazienti**

### 3.3 ANALISI DELLA VARIAZIONE DEL BMI, FFM E FM

In termini di BMI, dal grafico 5, possiamo notare che, successivamente al controllo dopo due mesi, non si è avuta una notevole variazione dei valori di BMI; infatti, all'inizio dell'analisi, la mediana del BMI dei pazienti era di 25 Kg/m<sup>2</sup> con un range che andava da 17 Kg/m<sup>2</sup> a 31 Kg/m<sup>2</sup>, e successivamente i valori sono rimasti per lo più simili.

Variable	BMI1
Sample size	9
Lowest value	17,1880
Highest value	31,2210
Arithmetic mean	24,7957
95% CI for the Arithmetic mean	21,3487 to 28,2426
Median	25,8620
95% CI for the median	20,0377 to 28,5254
Variance	20,1092
Standard deviation	4,4843
Relative standard deviation	0,1809 (18,09%)
Standard error of the mean	1,4948
Coefficient of Skewness	-0,4543 (P=0,5165)
Coefficient of Kurtosis	-0,5423 (P=0,7988)
D'Agostino-Pearson test for Normal distribution	accept Normality (P=0,7843)

Variable	BMI2
Sample size	9
Lowest value	17,9690
Highest value	32,5810
Arithmetic mean	25,2313
95% CI for the Arithmetic mean	21,3915 to 29,0712
Median	24,7610
95% CI for the median	20,5355 to 29,9431
Variance	24,9545
Standard deviation	4,9955
Relative standard deviation	0,1980 (19,80%)
Standard error of the mean	1,6652
Coefficient of Skewness	0,01725 (P=0,9803)
Coefficient of Kurtosis	-1,2989 (P=0,3078)
D'Agostino-Pearson test for Normal distribution	accept Normality (P=0,5943)



Sample 1	BMI1	Sample 2	BMI2
Sample size	9	9	9
Lowest value	17,1880	17,9690	17,9690
Highest value	31,2210	32,5810	32,5810
Median	25,8620	24,7610	24,7610
95% CI for the median	20,0377 to 28,5254	20,5355 to 29,9431	20,5355 to 29,9431
Interquartile range	21,0298 to 27,6625	20,5643 to 29,8280	20,5643 to 29,8280
Hodges-Lehmann median difference			0,3985
95% Confidence interval			-0,6790 to 1,6040
<b>Wilcoxon test (paired samples)</b>			
Number of positive differences			5
Number of negative differences			4
Large sample test statistic Z			-0,770054
Two-tailed probability			P = 0,4413

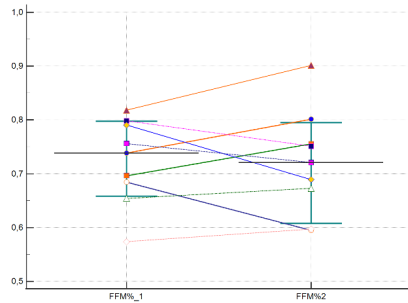
**Grafico 5: Distribuzione valori al tempo 0 (SX) e tempo 2 (DX) della coorte di pazienti per quanto riguarda il BMI. In basso, Wilcoxon test tra tempo 0 e tempo 2.**

Invece in termini di massa magra (FFM) e di massa grassa (FM), dal grafico 6 e 7, si può vedere come dalla prima valutazione al controllo la variabilità è molto più evidente rispetto al BMI, e questo ci suggerisce che la composizione corporea ci dà maggiori informazioni per quanto riguarda lo stato del paziente.

# Valutazioni nutrizionali: FFM

Variable	FFM%_1
Sample size	9
Lowest value	0,5739
Highest value	0,8183
Arithmetic mean	0,7234
95% CI for the Arithmetic mean	0,6627 to 0,7841
Median	0,7385
95% CI for the median	0,6583 to 0,7974
Variance	0,006235
Standard deviation	0,07896
Relative standard deviation	0,1092 (10,92%)
Standard error of the mean	0,02632
Coefficient of Skewness	-0,6955 (P=0,3230)
Coefficient of Kurtosis	-0,02413 (P=0,8648)
D'Agostino-Pearson test for Normal distribution	accept Normality (P=0,6048)

Variable	FFM%2
Sample size	9
Lowest value	0,5948
Highest value	0,9015
Arithmetic mean	0,7205
95% CI for the Arithmetic mean	0,6458 to 0,7953
Median	0,7210
95% CI for the median	0,6077 to 0,7951
Variance	0,009461
Standard deviation	0,09727
Relative standard deviation	0,1350 (13,50%)
Standard error of the mean	0,03242
Coefficient of Skewness	0,4405 (P=0,5291)
Coefficient of Kurtosis	0,2272 (P=0,7228)
D'Agostino-Pearson test for Normal distribution	accept Normality (P=0,7703)



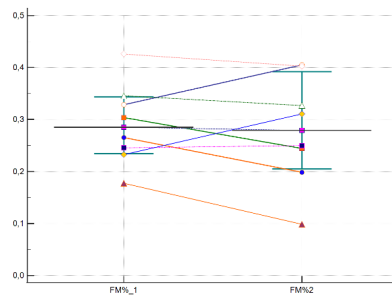
Sample 1	FFM%_1	Sample 2	FFM%2
Sample size	9	9	9
Lowest value	0,5739	0,5948	0,9015
Highest value	0,8183	0,9015	0,7210
Median	0,7385	0,6077 to 0,7951	0,7210
95% CI for the median	0,6583 to 0,7974	0,6077 to 0,7951	0,6541 to 0,7670
Interquartile range	0,6768 to 0,7927	0,6541 to 0,7670	
Hodges-Lehmann median difference			-0,005850
95% Confidence interval			-0,06829 to 0,05940
<b>Wilcoxon test (paired samples)</b>			
Number of positive differences			5
Number of negative differences			4
Large sample test statistic Z			0,177705
Two-tailed probability			P = 0,8590

**Grafico 6: Distribuzione valori al tempo 0 (SX) e tempo 2 (DX) della coorte di pazienti per quanto riguarda la FFM. In basso, Wilcoxon test tra tempo 0 e tempo 2.**

# Valutazioni nutrizionali: FM

Variable	FM%_1
Sample size	9
Lowest value	0,1775
Highest value	0,4261
Arithmetic mean	0,2901
95% CI for the Arithmetic mean	0,2345 to 0,3457
Median	0,2853
95% CI for the median	0,2344 to 0,3435
Variance	0,005236
Standard deviation	0,07236
Relative standard deviation	0,2494 (24,94%)
Standard error of the mean	0,02412
Coefficient of Skewness	0,4359 (P=0,5335)
Coefficient of Kurtosis	0,6091 (P=0,5403)
D'Agostino-Pearson test for Normal distribution	accept Normality (P=0,6829)

Variable	FM%2
Sample size	9
Lowest value	0,09853
Highest value	0,4052
Arithmetic mean	0,2796
95% CI for the Arithmetic mean	0,2049 to 0,3543
Median	0,2790
95% CI for the median	0,2049 to 0,3923
Variance	0,009452
Standard deviation	0,09722
Relative standard deviation	0,3477 (34,77%)
Standard error of the mean	0,03241
Coefficient of Skewness	-0,4461 (P=0,5240)
Coefficient of Kurtosis	0,2405 (P=0,7157)
D'Agostino-Pearson test for Normal distribution	accept Normality (P=0,7639)

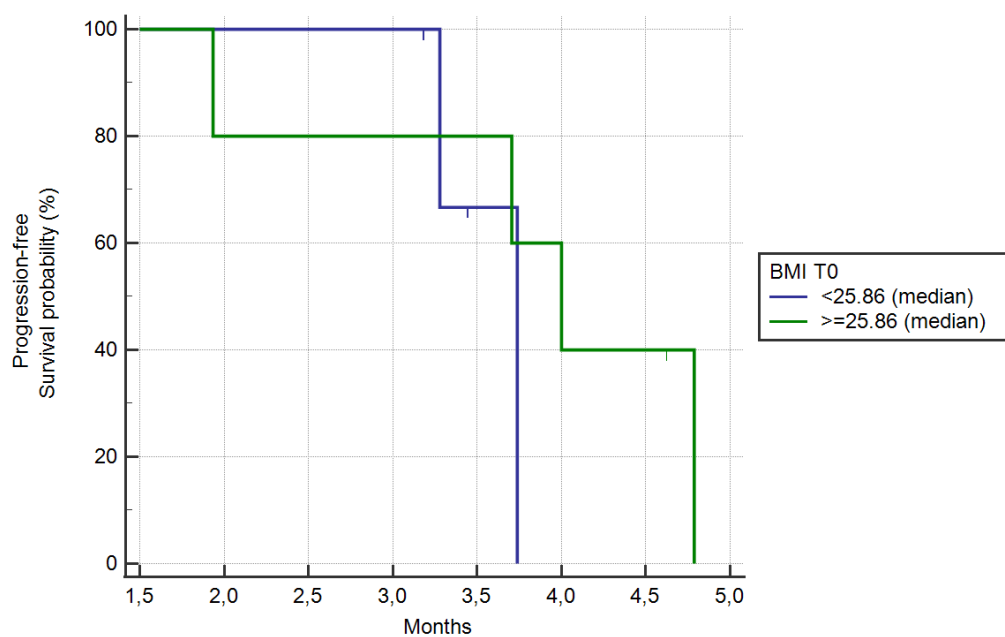


Sample 1	FM%_1	
Sample 2	FM%2	
Sample size	9	9
Lowest value	0,1775	0,09853
Highest value	0,4261	0,4052
Median	0,2853	0,2790
95% CI for the median	0,2344 to 0,3435	0,2049 to 0,3923
Interquartile range	0,2423 to 0,3329	0,2330 to 0,3459
Hodges-Lehmann median difference		-0,01263
95% Confidence interval		-0,05940 to 0,03599
<b>Wilcoxon test (paired samples)</b>		
Number of positive differences		3
Number of negative differences		6
Large sample test statistic Z		0,770054
Two-tailed probability		P = 0,4413

**Grafico 7: . Distribuzione valori al tempo 0 (SX) e tempo 2 (DX) della coorte di pazienti per quanto riguarda la FM. In basso, Wilcoxon test tra tempo 0 e tempo 2**

## 3.4 ANALISI DELL'IMPATTO DEL BMI, FFM E FM SULL'OUTCOME

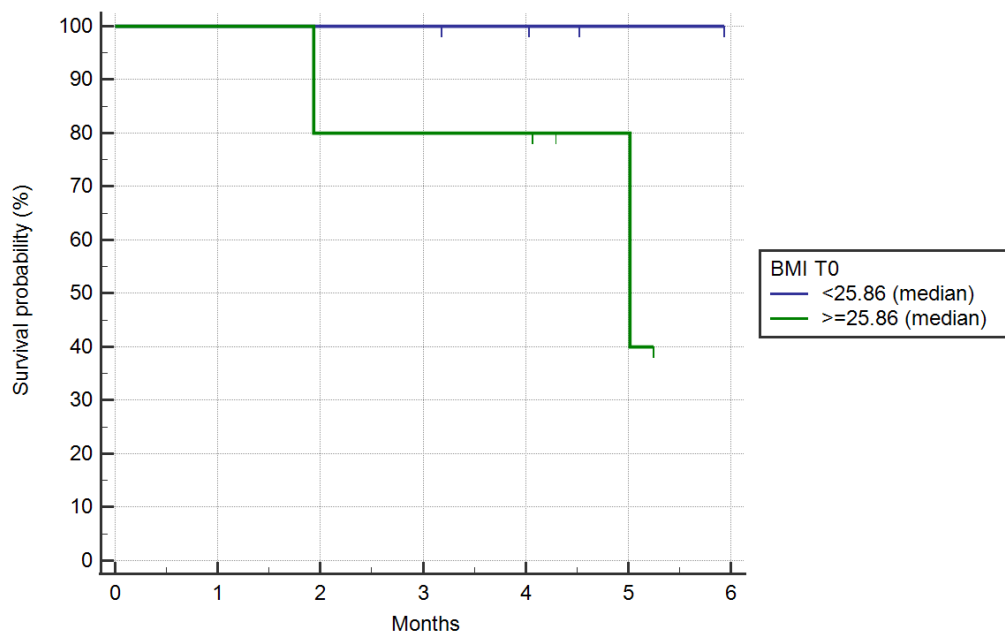
Invece, dal punto di vista dell'impatto sull'outcome del BMI al baseline si può osservare, dai grafici 8a e 8b, che non si ha un risultato esaltante in quanto le due curve non si discostano di molto e questo ci indica che il BMI non è in grado di stimare adeguatamente l'outcome di questi pazienti.



Number at risk

Group	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0
Group: <25.86 (median)	4	4	4	4	1	0	0	0
Group: >=25.86 (median)	5	4	4	4	4	2	2	0

**Grafico 8a: Sopravvivenza libera da progressione in base al BMI al tempo 0**

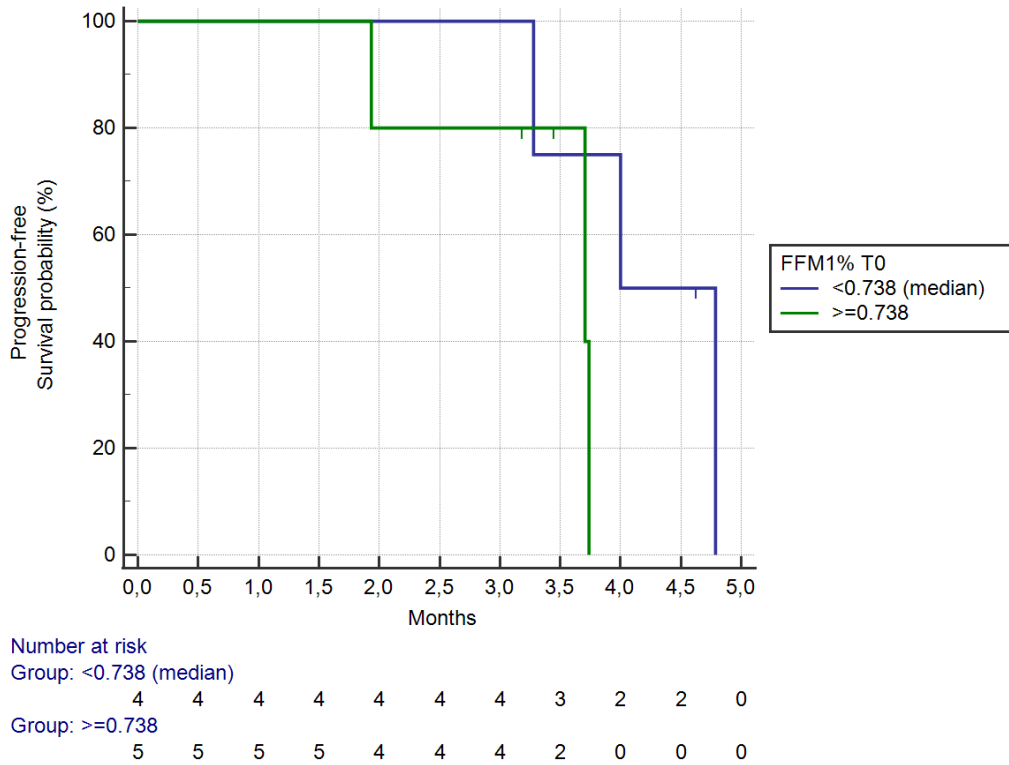


Number at risk

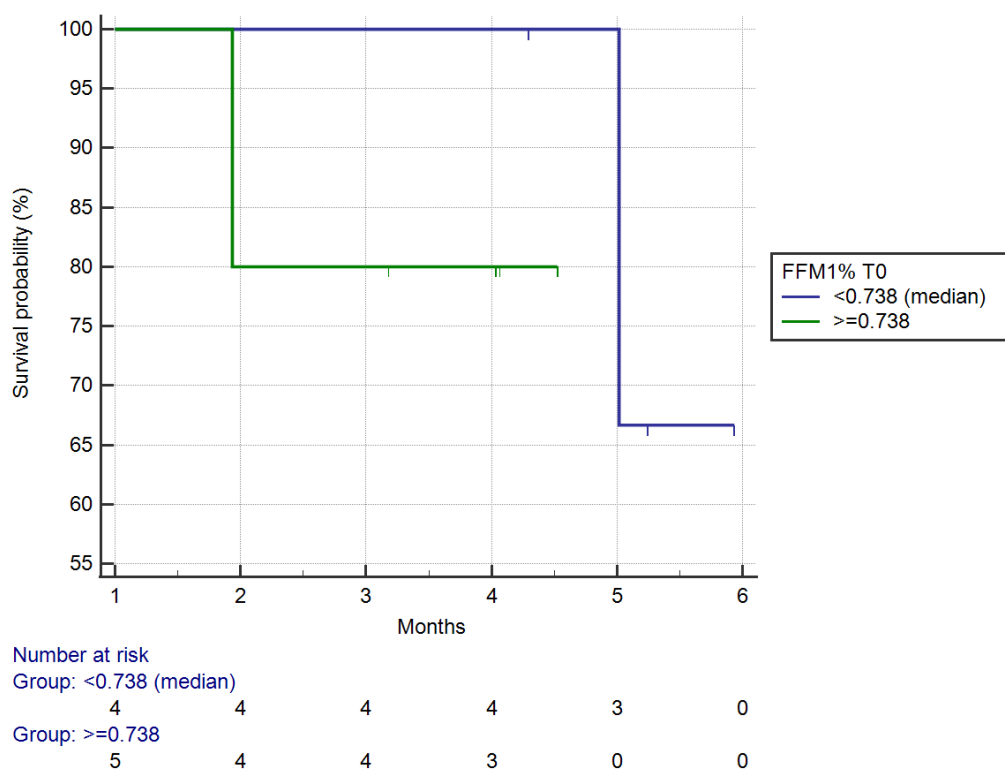
Group	0	1	2	3	4	5	6
Group: <25.86 (median)	4	4	4	4	3	1	0
Group: >=25.86 (median)	5	5	4	4	4	2	0

**Grafico 8b: Sopravvivenza complessiva in base al BMI al tempo 0**

Dai grafici 9a e 9b, invece, si può osservare che le curve che indicano l'impatto della massa magra (FFM) sull'outcome si iniziano a separare leggermente di più ma ancora l'analisi non è statisticamente significativa.

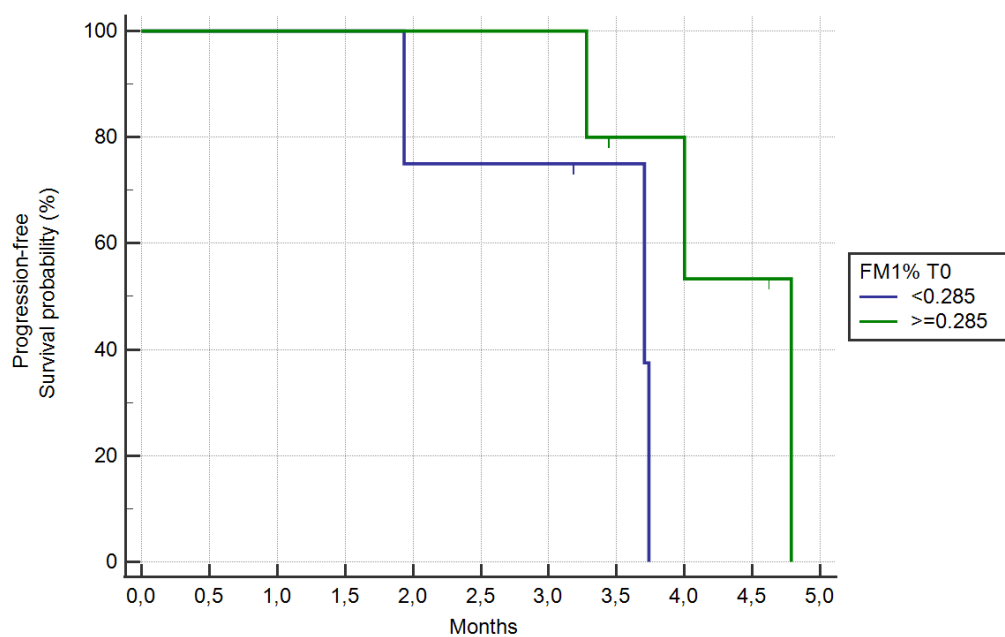


**Grafico 9a: Sopravvivenza libera da progressione in base alla FFM al tempo 0**



**Grafico 9b: Sopravvivenza globale in base alla FFM al tempo 0**

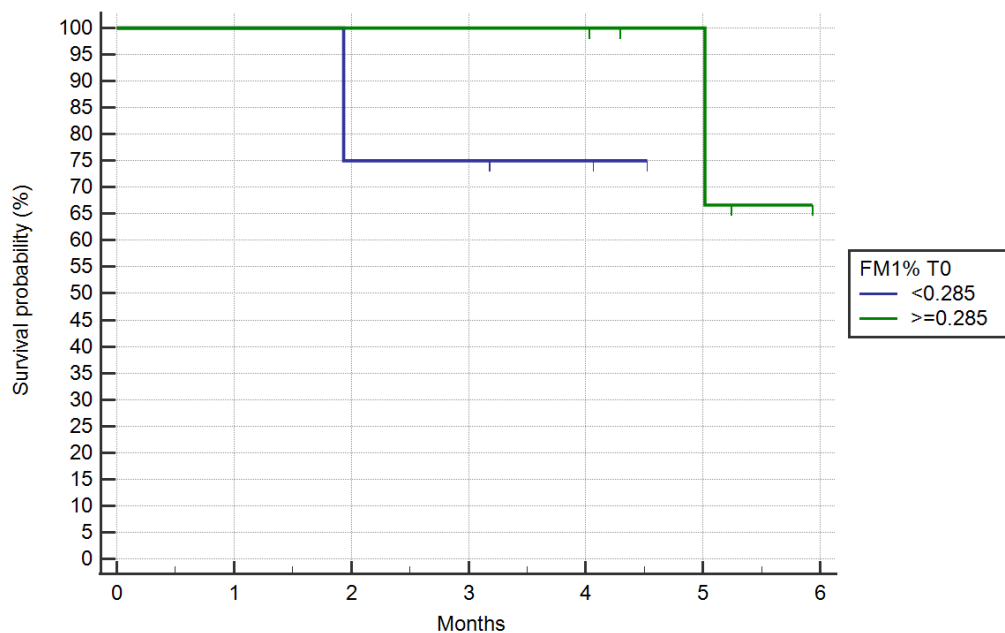
Infine, osservando i grafici 10a e 10b, il quale ci indica l’impatto della massa grassa (FM) sull’outcome del paziente, possiamo notare che le curve sono sempre più separate.



Number at risk

Months	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0
Group: <0.285	4	4	4	4	3	3	3	2	0	0	0
Group: >=0.285	5	5	5	5	5	5	5	3	2	2	0

**Grafico 10a: Sopravvivenza libera da progressione in base alla FM al tempo 0**



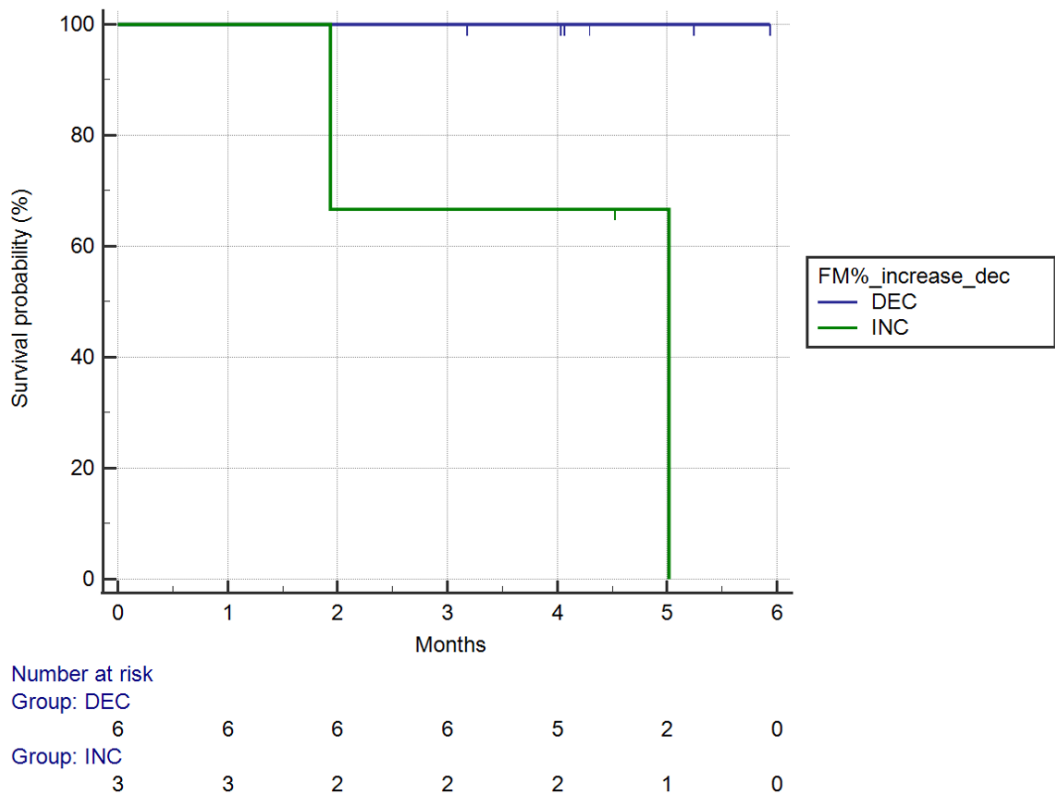
Number at risk

Months	0	1	2	3	4	5	6
Group: <0.285	4	4	3	3	2	0	0
Group: >=0.285	5	5	5	5	5	3	0

**Grafico 10b: Sopravvivenza globale in base alla FM al tempo 0**



Infine nel grafico 11 si è andato a valutare la differenza della massa grassa (FM) alla prima valutazione e quella al controllo e si è visto che quest'analisi è statisticamente significativa e quindi ci indica che la riduzione della massa grassa (FM) è molto importante per la sopravvivenza del paziente.



**- OS: p=0.045**

**Grafico 11: Sopravvivenza globale in base alla variazione della FM tra tempo 0 e tempo 2. In Verde, pazienti con aumento della massa grassa tra tempo 0 e tempo 2. In Blu, pazienti con diminuzione della massa grassa tra tempo 0 e tempo 2.**

## CAPITOLO 4: DISCUSSIONI E CONCLUSIONI

Il Regorafenib e il TAS-102 (Lonsurf) sono due chemioterapici impiegati dopo la seconda linea di trattamento, a somministrazione orale che, da qualche anno, sono utilizzati per il trattamento dell'adenocarcinoma del colon-retto metastatico e/o localmente avanzato nei pazienti pretrattati.

Il TAS-102 è un farmaco antitumorale prodotto dalla combinazione di trifluorotimidina (FTD) e di un inibitore della timidina fosforilasi tipiracil cloridrato (TPI), necessario per inibire la degradazione della trifluorotimidina.

Invece il Regorafenib è un agente di disattivazione tumorale per uso orale che blocca efficacemente diverse protein-chinasi, comprese le chinasi coinvolte nell'angiogenesi tumorale (VEGFR1, -2, -3, TIE2), nell'oncogenesi (KIT, RET, RAF-1, BRAF, BRAFV600E) e nel microambiente tumorale (PDGFR, FGFR), in particolar modo, inibisce la forma mutata di KIT.

I soggetti sottoposti a, qualsiasi trattamento chemioterapico sono pazienti a maggior rischio di sarcopenia, o possono già presentarla.

La sarcopenia è definita come una perdita di massa e funzione muscolare, associata ad un incrementato rischio di complicanze (cadute, fratture, disabilità fisica e mortalità).

Il miglioramento della sarcopenia nei pazienti oncologici è molto importante anche per ridurre la tossicità e l'incidenza degli eventuali effetti collaterali che per il Regorafenib e il TAS-102 sono rispettivamente, l'ipertensione, ipotiroidismo e maggior sarcopenizzazione per il primo, e neutropenia, anemia e trombocitopenia per il secondo.

Pertanto, lo scopo del nostro studio è stato quello di valutare se esiste una qualche variazione in termini di prognosi, intesa come tossicità dei trattamenti, sopravvivenza, capacità di arrestare l'evoluzione della malattia,

in base all'andamento della composizione corporea, in termini di massa grassa.

A tutti i pazienti che presentavano una sarcopenia è stata attribuita una dieta iperproteica e un'integrazione con amminoacidi; dopo due mesi sono stati sottoposti ad un ulteriore esame con la bioimpedenziometria per valutare l'andamento della composizione corporea, ma nello specifico della massa magra e massa grassa.

Al controllo successivo, dal nostro studio, per quanto riguarda l'intervento nutrizionale sull'andamento della sarcopenia si è potuto osservare che per migliorarla è molto importante seguire sia una dieta iperproteica che l'integrazione con amminoacidi, poiché si è visto che si ha una maggiore modificazione della composizione corporea, in termini di un aumento della massa magra (FFM) e una diminuzione della massa grassa (FM), rispetto a chi segue soltanto l'integrazione con amminoacidi.

Però, si è visto che, anche la sola integrazione di amminoacidi può aiutare a migliorare la sarcopenia; infatti si è osservato che determina un aumento della massa magra (FFM).

Dal punto di vista dell'impatto della composizione corporea sull'outcome dei pazienti, dal nostro studio, abbiamo osservato che, con una valutazione al baseline:

- il BMI non è in grado di stimare adeguatamente l'outcome di questi pazienti;
- con la valutazione della massa magra (FFM) non si è ancora in grado di stimare l'outcome dei pazienti ma questo può essere legato o alla ridotta numerosità campionaria, o al fatto che la massa magra è influenzata dall'idratazione dei pazienti;

- invece studiando la massa grassa (FM) si è in grado di stimare l'outcome dei pazienti; infatti con una riduzione della massa grassa si è riscontrata una maggiore sopravvivenza significativa.

Al momento non esistono dati scientifici pubblicati che concludono l'importanza della massa magra e/o massa grassa sull'outcome dei pazienti in terapia con Regorafenib e TAS-102.

Dal nostro studio possiamo, però, concludere che la valutazione della composizione corporea, tramite l'utilizzo della bioimpedenziometria, debba diventare una delle valutazioni che devono essere effettuate ai pazienti che presentano un tumore del colon-retto, specialmente a quei pazienti che sono sottoposti a chemioterapia orale di terza linea con Regorafenib e TAS102 (Lonsurf), in quanto la sua modificazione ha un impatto importante sulla prognosi.

In particolar modo allo stato attuale siamo riusciti a verificare che, dei dati ottenibili, è la modificazione della massa grassa ad incidere maggiormente sulla sopravvivenza di questi pazienti. per quanto è stato ipotizzato un ruolo anche della massa magra, ma in quest'ultimo caso l'analisi non ha fornito dati statisticamente significativi.

Tuttavia l'ipotesi dell'impatto della massa magra sull'outcome di questi pazienti resta da confermare ed è uno dei nostri work in progress, in quanto stiamo continuando ad ampliare la nostra casistica.

## BIBLIOGRAFIA

---

- <sup>1</sup> Da AIRC: “Cancro: la prevenzione”
- <sup>2</sup> Ferlay J et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer incidence and mortality worldwide: IARC. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer
- <sup>3</sup> Stephen J. D. O’Keefe. Diet, microorganisms and their metabolites, and colon cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016 [PubMed: 27848961]
- <sup>4</sup> J.Park, T.S. Morley, M.Kim, D.J. Clegg, P.E. Scherer, Obesity and cancer—mechanisms underlying tumour progression and recurrence. *Nat Rev Endocrinol* 2014 [PubMed: 24935119]
- <sup>5</sup> Roslan NH, et al: A Review on Dietary Intervention in Obesity Associated Colon Cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2019 [PubMed: 31127882]
- <sup>6</sup> Greer JB & O’Keefe SJ Microbial induction of immunity, inflammation and cancer. *Front. Physiol.* 1, 168 (2011). [PubMed: 21423403]
- <sup>7</sup> Vipperla K & O’Keefe SJ Diet, microbiota, and dysbiosis: a ‘recipe’ for colorectal cancer. *Food Funct.* 7, 1731–1740 (2016). [PubMed: 26840037]
- <sup>8</sup> Borges-Canha M, Portela-Cidade JP, Dinis Ribeiro M, Leite-Moreira AF & Pimentel-Nunes P Role of colonic microbiota in colorectal carcinogenesis: a systematic review. *Rev. Esp. Enferm. Dig.* 107, 659–671 (2015). [PubMed: 26541655]
- <sup>9</sup> Stephen J. D. O’Keefe, Diet, microorganisms and their metabolites, and colon cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016 [PubMed: 27848961]
- <sup>10</sup> Kostic AD et al. *Fusobacterium nucleatum* potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment. *Cell Host Microbe* 14, 207–215 (2013). [PubMed: 23954159]
- <sup>11</sup> Mima K et al. *Fusobacterium nucleatum* and T cells in colorectal carcinoma. *JAMA Oncol.* 1, 653– 661 (2015). [PubMed: 26181352]
- <sup>12</sup> Tahara T et al. *Fusobacterium* in colonic flora and molecular features of colorectal carcinoma. *Cancer Res.* 74, 1311–1318 (2014). [PubMed: 24385213]

- 
- <sup>13</sup> O’Keefe SJ et al. Fat, fibre and cancer risk in African Americans and rural Africans. *Nat. Commun.* 6, 6342 (2015). [PubMed: 25919227]
- <sup>14</sup> Da AIRC: “Le fibre alimentari: amiche della prevenzione”
- <sup>15</sup> Bandaru S. REDDY Types and Amount of Dietary Fat and Colon Cancer Risk: Prevention by Omega-3 Fatty Acid-Rich Diets .*Environ Health Prev Med.* 2002 [PubMed: 21432290]
- <sup>16</sup> Chang W,-CL, Chapkin RS, Lupton JR. Fish oil blocks azoxymethane-induced rat colon tumorigenesis by increasing cell differentiation and apoptosis rather than decreasing cell proliferation. *J. Nutr.* 1998
- <sup>17</sup> Hong MY, Chapkin RS, Morris JS, Wang N, Carroll RJ, Turner ND, Chang WCL, Davidson LA, Lupton JR. Anatomical site- specific response to DNA damage is related to later tumor devel- opment in the rat azoxymethane colon carcinogenesis model. *Carcinogenesis* 2001
- <sup>18</sup> Hirose Y, Rao CV, Reddy BS. Modulation of inducible nitric oxide synthase expression in rat intestinal cells by colon tumor promoters. *Int. J. Oncol.* 2001
- <sup>19</sup> Bandaru S. REDDY Types and Amount of Dietary Fat and Colon Cancer Risk: Prevention by Omega-3 Fatty Acid-Rich Diets
- <sup>20</sup> Macfarlane S & Macfarlane GT Regulation of short-chain fatty acid production. *Proc. Nutr. Soc.* 62, 67–72 (2003). [PubMed: 12740060]
- <sup>21</sup> Macfarlane GT & Macfarlane S Bacteria, colonic fermentation, and gastrointestinal health. *J. AOAC Int.* 95,50–60 (2012). [PubMed: 22468341]
- <sup>22</sup> Hu Y et al. Manipulation of the gut microbiota using resistant starch is associated with protection against colitis-associated colorectal cancer in rats. *Carcinogenesis* 37, 366–375 (2016). [PubMed: 26905582]
- <sup>23</sup> Greer JB & O’Keefe SJ Microbial induction of immunity, inflammation and cancer. *Front. Physiol.* 1, 168 (2011). [PubMed: 21423403]
- <sup>24</sup> Vipperla K & O’Keefe SJ Diet, microbiota, and dysbiosis: a ‘recipe’ for colorectal cancer. *Food Funct.* 7, 1731–1740 (2016). [PubMed: 26840037]

- 
- <sup>25</sup> Vipperla K & O’Keefe SJ The microbiota and its metabolites in colonic mucosal health and cancer risk. *Nutr. Clin. Pract.* 27, 624–635 (2012). [PubMed: 22868282]
- <sup>26</sup> Rodriguez-Cabezas ME et al. Dietary fiber down-regulates colonic tumor necrosis factor  $\alpha$  and nitric oxide production in trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitic rats. *J. Nutr.* 132, 3263–3271 (2002). [PubMed: 12421838]
- <sup>27</sup> Bordonaro M, Lazarova DL & Sartorelli AC Butyrate and Wnt signaling: a possible solution to the puzzle of dietary fiber and colon cancer risk? *Cell Cycle* 7, 1178–1183 (2008). [PubMed: 18418037]
- <sup>28</sup> Chirakkal H et al. Upregulation of BAK by butyrate in the colon is associated with increased Sp3 binding. *Oncogene* 25, 7192–7200 (2006). [PubMed: 16732318]
- <sup>29</sup> Vander Heiden, M.G.; Cantley, L.C.; Thompson, C.B. Understanding the Warburg effect: The metabolic requirements of cell proliferation. *Science* 2009. [PubMed: 19460998]
- <sup>30</sup> Vander Heiden, M.G.; Cantley, L.C.; Thompson, C.B. Understanding the Warburg effect: The metabolic requirements of cell proliferation. *Science* 2009. [PubMed: 19460998]
- <sup>31</sup> Bultman, S.J. The microbiome and its potential as a cancer preventive intervention. *Semin. Oncol.* 2016. [PubMed: 26970128]
- <sup>32</sup> Encarnacao, J.C.; Abrantes, A.M.; Pires, A.S.; Botelho, M.F. Revisit dietary fiber on colorectal cancer: Butyrate and its role on prevention and treatment. *Cancer Metastasis Rev.* 2015. [PubMed: 26224132]
- <sup>33</sup> Chiang, J.Y. Bile acids: Regulation of synthesis. *J. Lipid Res.* 2009. [PubMed: 19346330].
- <sup>34</sup> Secondary Bile Acids and Short Chain Fatty Acids in the Colon: A Focus on Colonic Microbiome, Cell Proliferation, Inflammation, and Cancer. *Int J Mol Sci.* 2019. [PubMed: 30862015]
- 35  
Alok, A.; Lei, Z.; Jagannathan, N.S.; Kaur, S.; Harmston, N.; Rozen, S.G.; Tucker-Kellogg, L.; Virshup, D.M. Wnt proteins synergize to activate beta-catenin signaling. *J. Cell Sci.* 2017. [PubMed: 28289266]

---

<sup>36</sup>Nusse,R.;Clevers,H.Wnt/beta Catenin Signaling, Disease, and Emerging Therapeutic Modalities. *Cell* 2017. [PubMed: 28575679]

<sup>37</sup> De Gottardi, A.; Touri, F.; Maurer, C.A.; Perez, A.; Maurhofer, O.; Ventre, G.; Bentzen, C.L.; Niesor, E.J.; Dufour, J.F. The bile acid nuclear receptor FXR and the bile acid binding protein IBABP are differently expressed in colon cancer. *Dig. Dis. Sci.* 2004. [PubMed: 15309887]

<sup>38</sup> Bailey, A.M.; Zhan, L.; Maru, D.; Shureiqi, I.; Pickering, C.R.; Kiriakova, G.; Izzo, J.; He, N.; Wei, C.; Baladandayuthapani, V.; et al. FXR silencing in human colon cancer by DNA methylation and KRAS signaling. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2014. [PubMed: 24177031]

<sup>39</sup> Secondary Bile Acids and Short Chain Fatty Acids in the Colon: A Focus on Colonic Microbiome, Cell Proliferation, Inflammation, and Cancer. *Int J Mol Sci.* 2019. [PubMed: 30862015]



## RINGRAZIAMENTI

Eccoci qua.

Sono giunta al giorno a cui tutti gli studenti ambiscono e che conclude questi tre anni di percorso, anni passati molto velocemente, forse a causa del Covid, che non mi ha permesso di frequentare a pieno tutte le ore in presenta.

Mi sembra doveroso ringraziare tutte le persone che mi sono state accanto fino ad oggi e mi hanno accompagnato fino a qui.

Un ringraziamento particolare va alla mia relatrice, la Dottoressa Marina Taus, che mi ha seguito con infinita disponibilità in ogni passo della realizzazione dell'elaborato, fin dalla scelta dell'argomento.

Grazie anche al mio correlatore, il Dottor Riccardo Giampieri, e a tutto il suo staff, per avermi dato la possibilità di partecipare a questo studio, per essere stato estremamente disponibile e per avermi seguito passo passo.

Ringrazio anche la Dottoressa Claudia Cola e la Dottoressa Carolina Liguori, che con la loro gentilezza e pazienza hanno lavorato con me ed hanno fatto sì che questo lavoro potesse realizzarsi.

Ringrazio la mia famiglia per essermi stata vicina e per avermi permesso di studiare. Ringrazio mia sorella, che è l'unica persona che ha sempre creduto in me, mi ha sempre incoraggiato a non mollare mai e mi ha sempre detto di guardare avanti a testa alta. Oggi non so se sarei qui senza il suo sostegno, pertanto considero questo traguardo anche un po' suo e a parole non riesco ad esprimere il bene che le voglio e quanto le sono grata.

Grazie alle mie compagne di corso Alessia, Camilla e Ludovica, le facce con cui ho condiviso centinaia di ore in facoltà, a lezione, ai seminari, a tirocinio, le attese agli appelli e le ansie pre-esame. Senza di voi arrivare alla laurea non avrebbe avuto senso, sarebbe stato tutto più noioso e meno coinvolgente! Vi voglio bene e vi ringrazio con tutto il cuore.

Grazie a Sofia che pur avendo cambiato facoltà è stata comunque presente nonostante la distanza.

Un grazie anche a Luca, il mio migliore amico, per essermi stato accanto tutti questi anni pur avendo un carattere un po' particolare.

Infine grazie anche a tutti i miei amici e le mie amiche, in particolare Valentina, Rebecca e Chiara, per avermi regalato momenti di felicità e spensieratezza anche quando ero giù di morale.

Mi sento di concludere dedicando questo piccolo traguardo a me stessa, che tra diversi ostacoli sono riuscita ad andare avanti fino a raggiungere questo bel obiettivo.

Mi auguro che questo possa essere l'inizio di una lunga e brillante carriera professionale.