

# CANCRO DEL COLON RETTO E QUALITÀ DELLA VITA:

## L'IMPATTO DEI PROBIOTICI/PREBIOTICI SUL MICROBIOTA E RISPOSTA IMMUNITARIA

Rossella BORRELLI<sup>1</sup>, Edda RUSSO<sup>1</sup>, Giovanni BACCI<sup>2</sup>, Antonio TADDEI<sup>3</sup>, Elena NICCOLAI<sup>1</sup>, Alessandro MAGRINI<sup>5</sup>, Federica RICCI<sup>4</sup>, Maria Novella RINGRESSI<sup>3</sup>, Carolina CHIELLINI<sup>2</sup>, Camilla FAGORZI<sup>2</sup>, Paolo BECHI<sup>3</sup>, Alessio MENGONI<sup>2</sup>, Renato FANI<sup>2</sup>, **Amedeo AMEDEI<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Florence, Florence, Italy <sup>2</sup> Department of Biology, University of Florence, Sesto Fiorentino (Florence), Italy  
<sup>3</sup> Department of Surgery and Translational Medicine, University of Florence, Florence, Italy <sup>4</sup> Department of Experimental, Clinical and Biomedical Sciences, "Mario Serio", Italy  
<sup>5</sup> Department of Statistics, Computer Science, Applications 'G. Parenti' - University of Florence  
E-mail: [amedeo.amedei@unifi.it](mailto:amedeo.amedei@unifi.it)

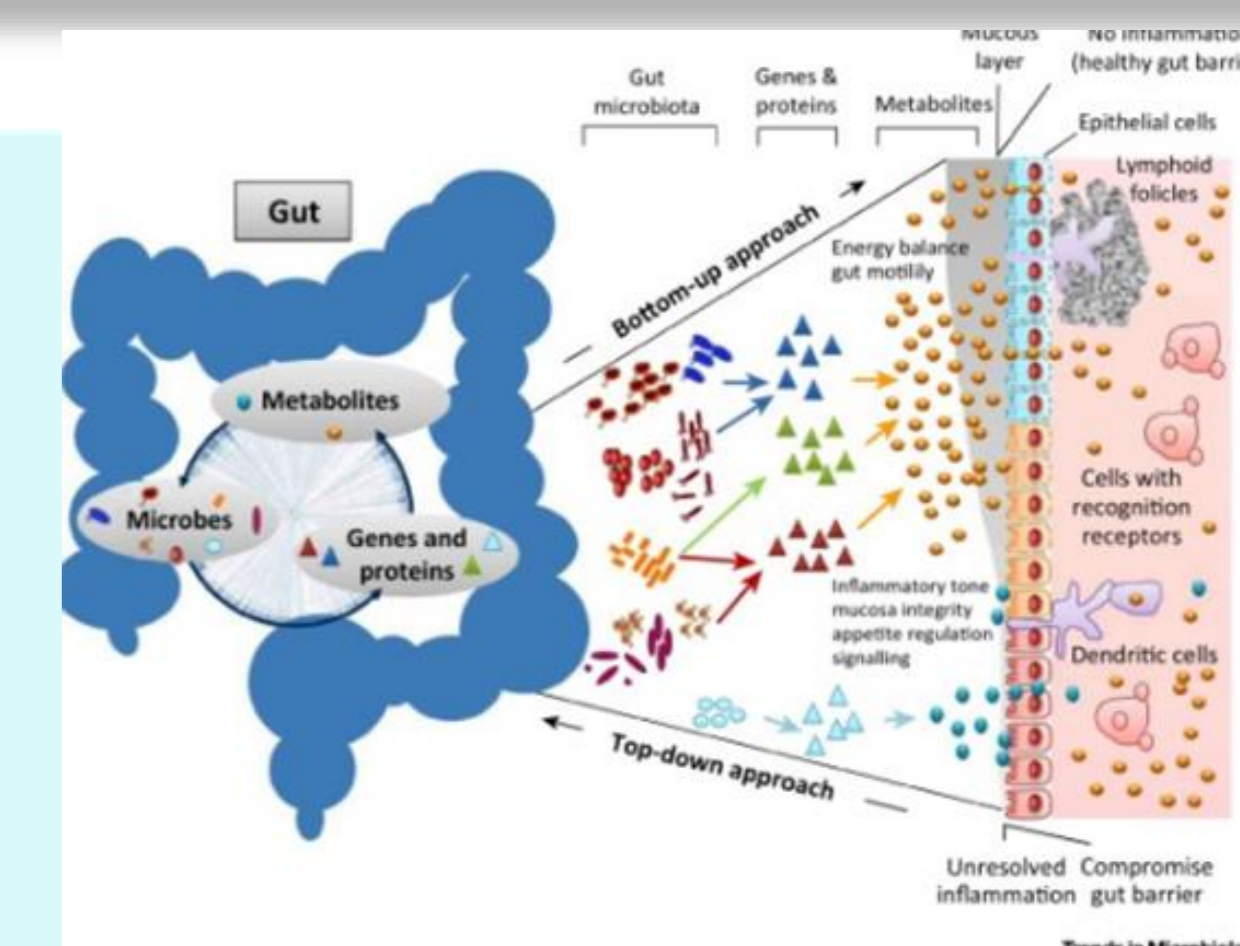
### INTRODUZIONE

Il cancro del colon-retto (CRC) rappresenta il secondo tumore più frequente in Italia sia tra gli uomini (15% di tutti i nuovi tumori) sia tra le donne (13%), preceduto rispettivamente dalla prostata e dalla mammella. Tra i principali fattori di rischio, oltre alla storia familiare, allo stile di vita e condizioni genetiche, secondo recenti studi, anche un'alterata interazione tra il microbiota intestinale (flora batterica) ed una disregolazione della risposta immune, potrebbero figurare tra le principali cause di insorgenza/sviluppo del CRC. Il microbiota infatti, produce enzimi che generano metaboliti che influenzano lo stato di salute o malattia, ha un ruolo importante nella maturazione del Sistema Immunitario (SI), è influenzato dalle abitudini alimentari e da fattori ambientali che possono innescare fenomeni di disbiosi (alterazione dell'equilibrio). Il trattamento chirurgico nel CRC può causare disfunzione intestinale e conseguentemente influire sulla qualità della vita. L'assunzione di pro/prebiotici nel post-operatorio hanno mostrato avere effetti positivi sulla composizione del microbiota, migliorando la regolarità intestinale e svolgendo un'azione antinfiammatoria.

### OBIETTIVI

Lo studio si propone:

- Confrontare il microbiota intestinale e orale dei pazienti CRC con i controlli;
- Individuare i cluster microbici e i cataboliti associati all'insorgenza/sviluppo del CRC;
- Caratterizzare la risposta immunitaria intra-tumorale e periferica nelle fasi pre/post-operatorie;
- Valutare gli effetti del trattamento post-operatorio con PROBIOTICI/PREBIOTICI :
  - Composizione del microbiota intestinale;
  - Qualità della risposta immune;
  - Tempi di recupero della salute intestinale;
  - Miglioramento della qualità della vita.



### DISEGNO DELLO STUDIO

Trial clinico randomizzato in cieco controllato con placebo:

- 1) Fase di osservazione:** si ricavano informazioni sulla composizione del microbiota e sulla relativa risposta immunitaria nei pazienti e nei controlli di CRC.
- 2) Fase interventistica:** si osservano gli effetti del trattamento con probiotici e prebiotici nella composizione del microbiota e della relativa risposta immunitaria. Valutare il miglioramento della qualità della vita.

### MATERIALI E METODI

Reclutamento di 80 pazienti con cancro del colon-retto, presso la chirurgia d'urgenza e dell'apparato digerente ad indirizzo oncologico dell'azienda Ospedaliero Universitaria Careggi (A.O.U.C.) e 80 pazienti che non presentano CRC, da reclutare come controlli. I pazienti con CRC sono trattati con probiotici/ prebiotici o placebo e sono sottoposti a quattro punti prelievo:

- T0= fase di pre-operazione (raccolta campioni fecali e salivari)
- T1 = giorno dell'intervento (prelievo ematico e biotico tumorale e mucosa sana)
- T2 =3 mesi; T3 = 6 mesi (raccolta campioni fecali e salivari e prelievo ematico)
- T4 = 12 mesi. (raccolta campioni fecali e salivari, prelievo ematico e biotico).

Dai campioni ematici, salivari, fecali e biotici si estrae il DNA batterico e si isolano i linfociti infiltranti il tumore (TILs). I risultati di laboratorio vengono confrontati con le risposte ottenute dai questionari somministrati:

- Questionario stile di vita (aderenza dieta mediterranea, variabili che influenzano il microbiota, attività fisica etc.)
- QLQ-C30: per la valutazione della qualità della vita e dalla salute intestinale
- MMAS-8: Morisky Medication Adherence Scale, per la valutazione dell'aderenza al trattamento con pre/probiotici e placebo

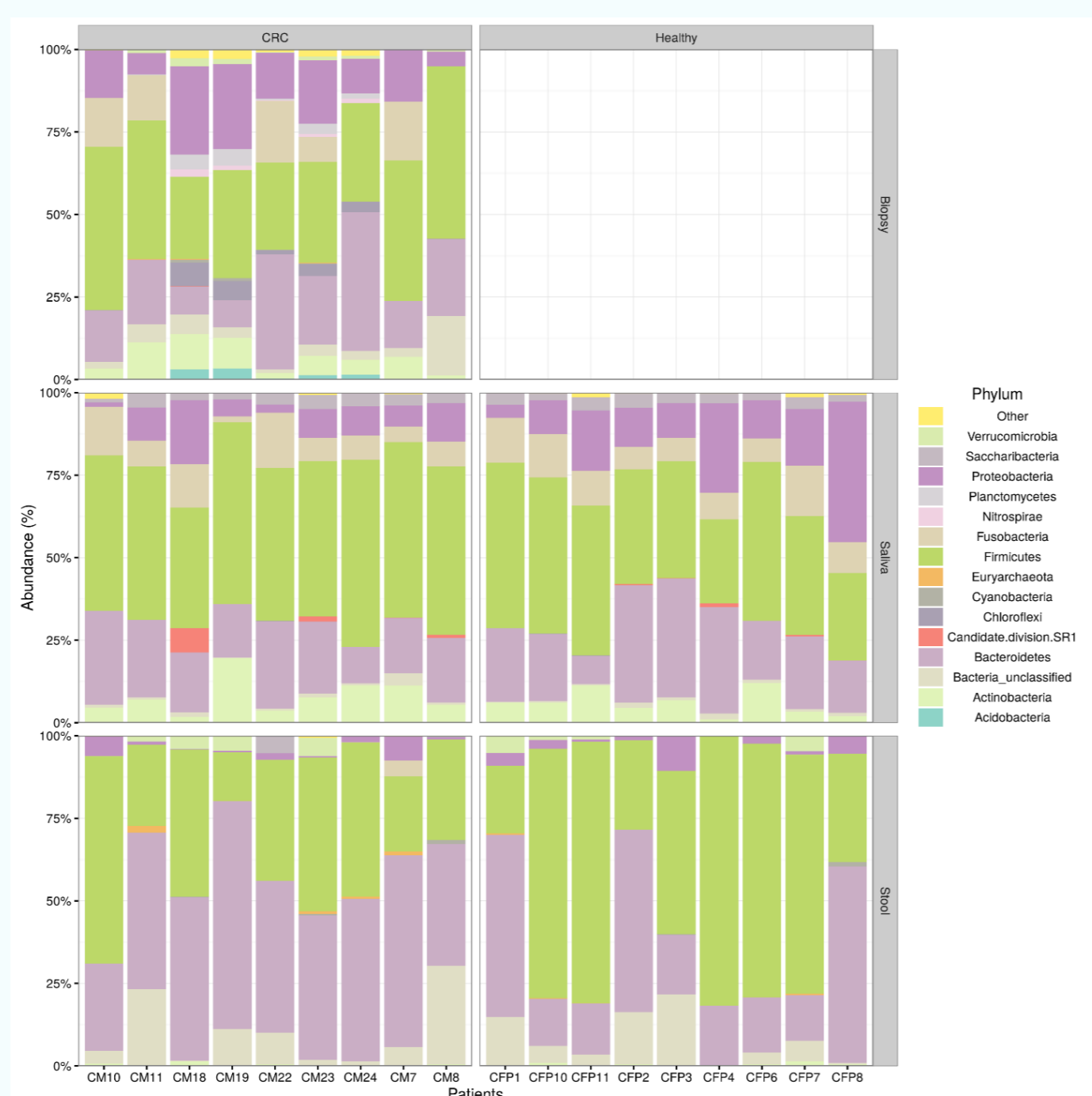
### RISULTATI PRELIMINARI

Attualmente da Maggio 2016 sono stati reclutati 70 pazienti (59% maschi/41% femmine) età media 70 anni.

L'analisi bioinformatica ha rivelato che i) i pazienti CRC ed i controlli hanno una diversa composizione del microbiota fecale, ii) nei pazienti CRC aumenta il numero di cellule T intratumorali che presentano un profilo di regolazione (Treg) o che sono anergiche; iii) il trattamento con pro/prebiotici modifica la composizione del microbiota ed il profilo immunitario, iiiii) i questionari validati dimostrano un miglioramento della qualità della vita nei pazienti trattati.

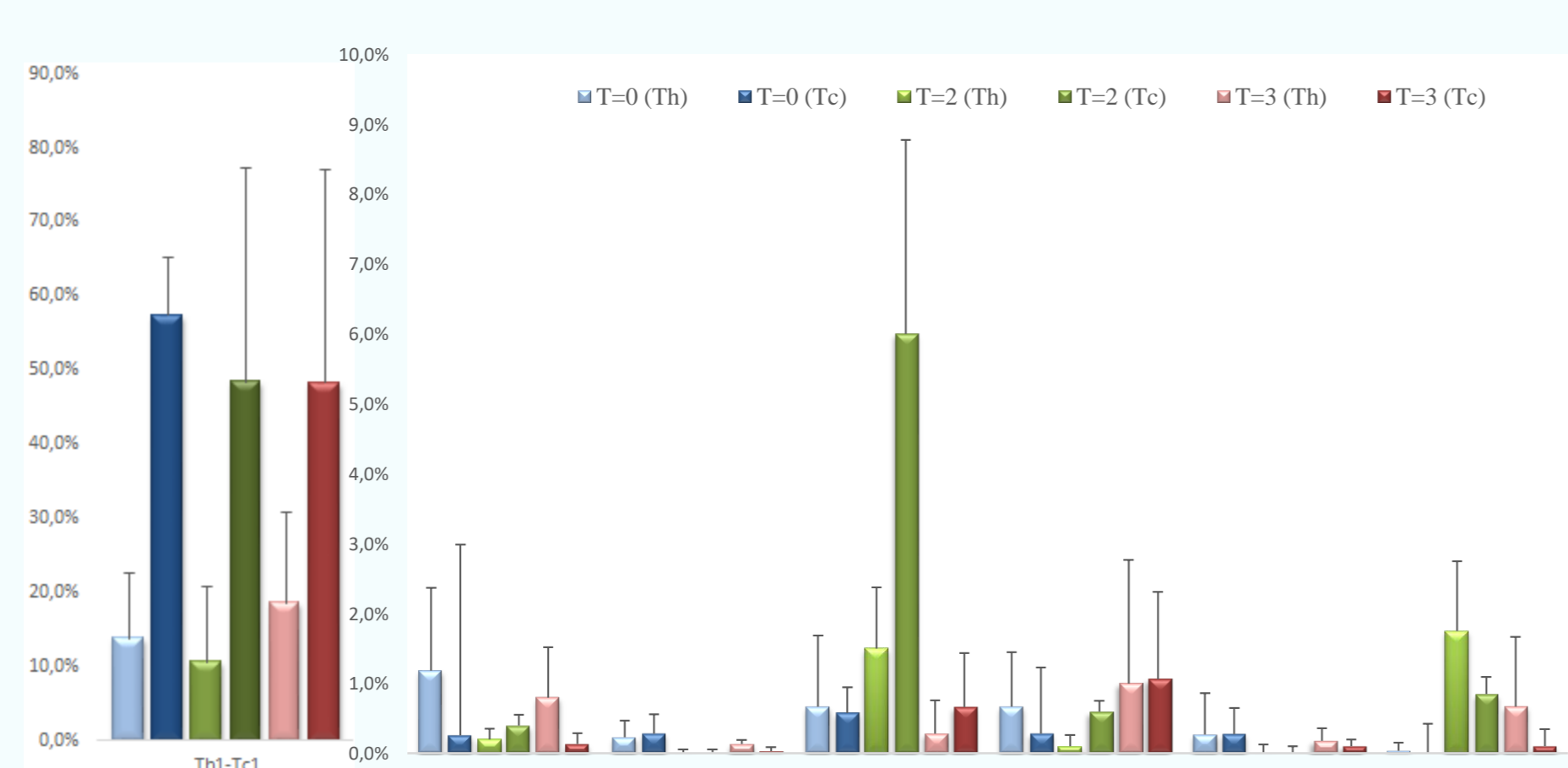
**Fig. 1 Tassonomia del microbiota nel paziente CRC e controlli sani**

L'analisi della composizione del microbiota ha rivelato che quasi l'80% delle sequenze raccolte possono essere classificate in tre phyla: Firmicutes (39,18%), Bacteroidetes (30,36%) e Proteobacteria (10,65%). In particolare, si osserva che i campioni fecali dei soggetti CRC presentano un assetto batterico diverso (Bacteroidetes/Firmicutes) rispetto ai controlli sani.



**Fig. 2 CRC: confronto dei linfociti T circolanti ai differenti time points**

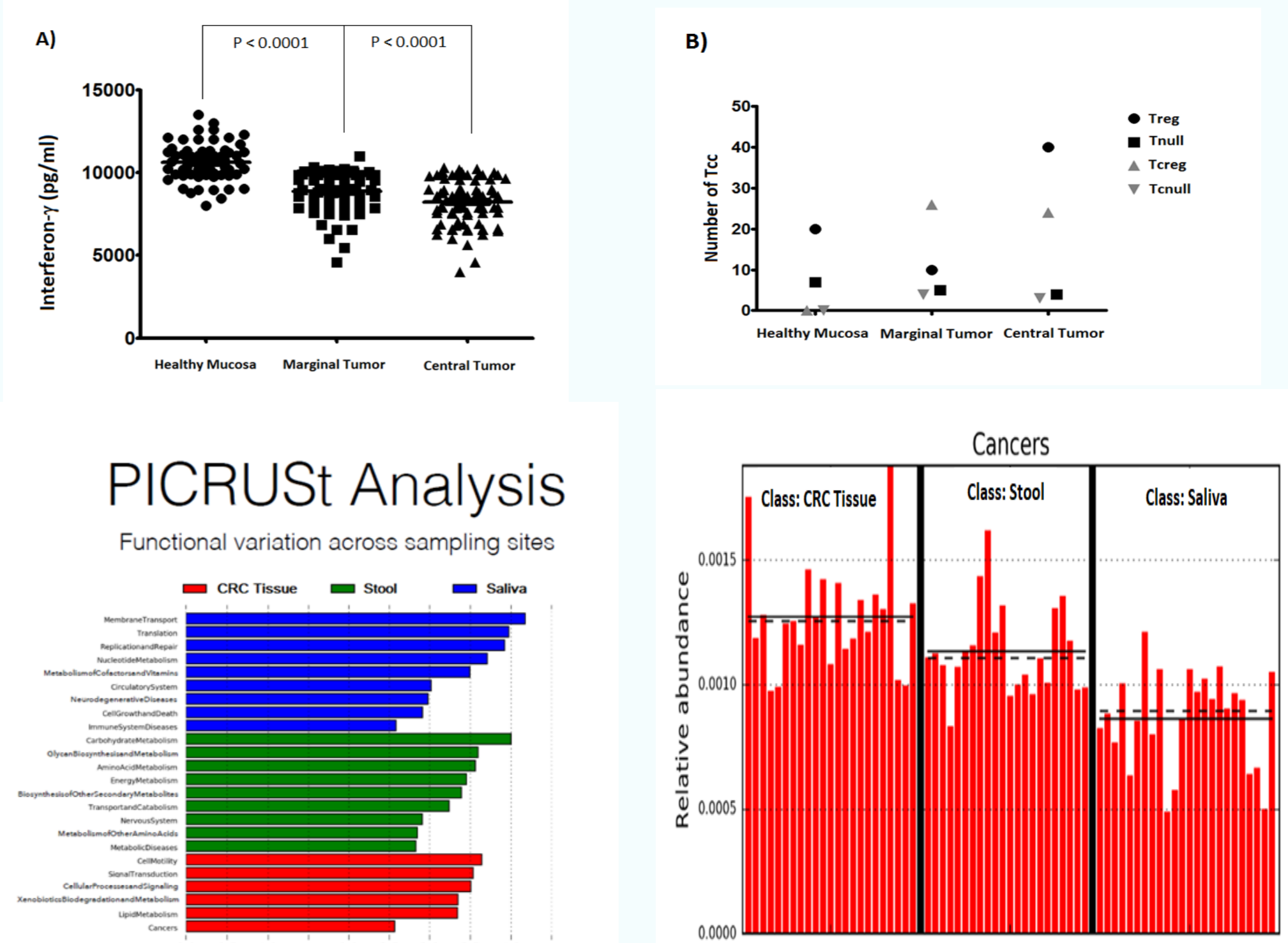
La somministrazione di prebiotici sembra bilanciare le due popolazioni di cellule T in conflitto, diminuendo il Th1 e aumentando i sottogruppi di Tregs, riducendo lo stato infiammatorio dei pazienti con CRC.



**Fig. 3 Tregs intratumorali nei pazienti CRC**

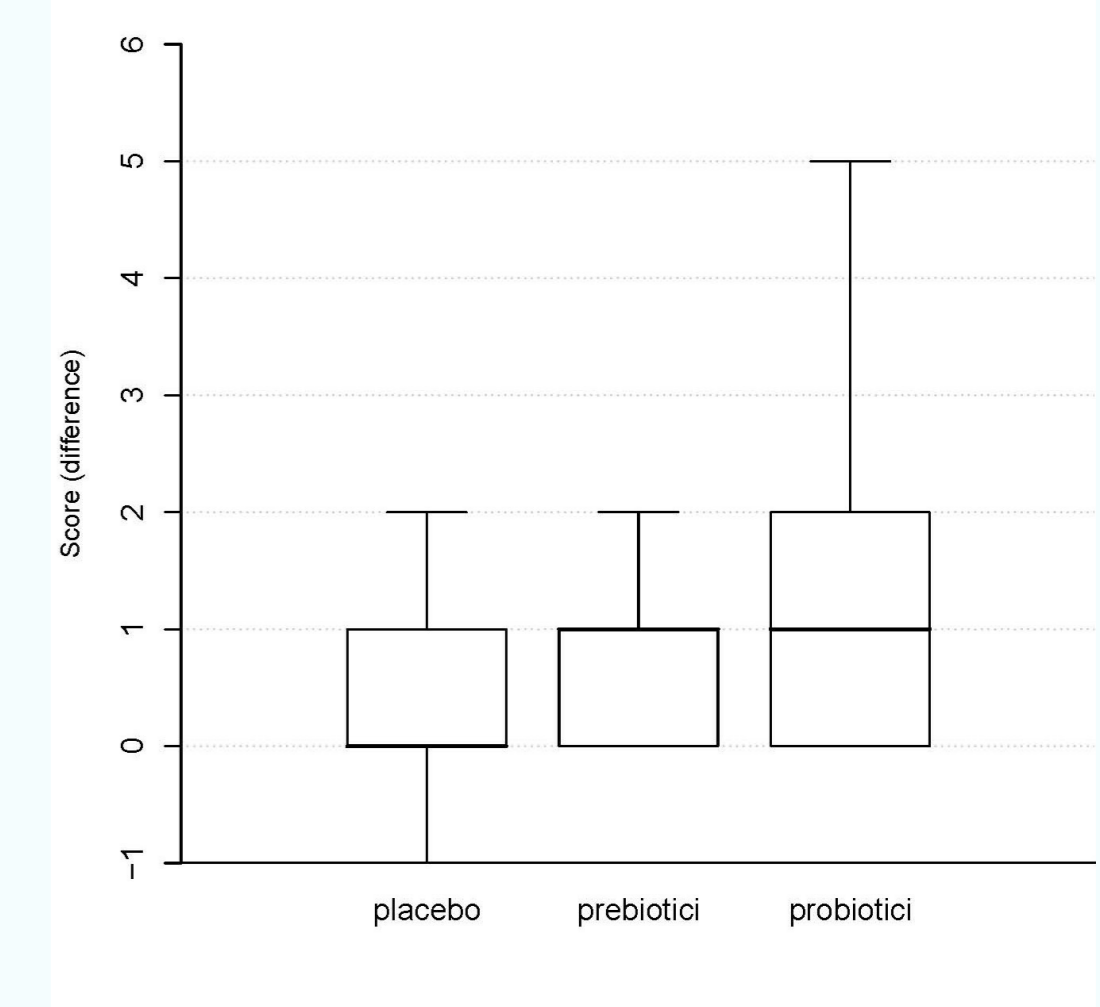
Il tessuto CRC è massicciamente infiltrato dalle cellule T CD8+, ma molte di esse hanno un profilo regolatorio o sono anergiche, cioè non in grado di produrre citochine con ruolo anti-tumorale.

**Fig. 4 Le funzioni associate al cancro sono più abbondanti in campioni CRC**  
Con l'analisi Picrust sono state valutate le proprietà associate al microbiota di funzioni isolate dai diversi siti. È importante notare che i batteri isolati da tessuto CRC sono associati alla funzione cancro.



**Fig. 5 Risultati questionario QLQ-C30**

Dall'analisi preliminare dei questionari somministrati ai pazienti CRC, che hanno assunto probiotici/prebiotici, dopo 1 anno di follow-up, si osserva che tali pazienti mostrano un miglioramento (in media di un punto su una scala da 1 a 7) della salute intestinale e qualità della vita, rispetto ai pazienti che hanno assunto placebo, i quali non mostrano alcun miglioramento dal T0 al T4.



### CONCLUSIONI

Questi dati suggeriscono che una reciproca interazione tra il microbiota intestinale ed il sistema immunitario dell'ospite può essere correlata all'ontogenesi del CRC e che la somministrazione di probiotici e prebiotici può essere di supporto per le attuali terapie post chirurgiche, volte ad un rapido ripristino della salute intestinale.

Il presente studio può essere di stimolo per l'elaborazione, in fase sperimentale, di un protocollo terapeutico a base di probiotici/prebiotici nella fase post-operatoria.