**PROTOCOLLO STUDIO**

**Modificazione degli stili di vita nelle pazienti con cancro della mammella**

**in fase preoperatoria: ruolo dell’attività fisica e della restrizione calorica**

**con l’introduzione randomizzata di prebiotici e/o probiotici**

**PERSONALE COINVOLTO NELLO STUDIO**

*Personale universitario*

* Chiara Benedetto - Professore Ordinario, Direttore SC Ginecologia e Ostetricia 1U, Presidio Ospedaliero S. Anna, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino
* Maria Piera Mano - Professore a contratto per Master di Senologia, Università degli Studi di Torino
* Isabella Castellano - Professore Associato, SC Anatomia ed Istologia Patologica 2U, Presidio Ospedaliero Molinette, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino
* Leonardo Micheletti - Professore Associato, SC Ginecologia e Ostetricia 1U, Presidio Ospedaliero S. Anna, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino
* Mario Preti - Professore Associato, SC Ginecologia e Ostetricia 1U, Presidio Ospedaliero S. Anna, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino
* Anna Maria Tavella - Biologa, SC Ginecologia e Ostetricia 1U, Presidio Ospedaliero S. Anna, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino
* Loredana Salton - Biologa, SC Ginecologia e Ostetricia 1U, Presidio Ospedaliero S. Anna, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino
* Alessandra Surace - Specializzanda Scuola di Specializzazione in Ginecologia e Ostetricia di Torino, SC Ginecologia e Ostetricia 2U, Presidio Ospedaliero S. Anna, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino

*Personale ospedaliero*

* Vincenzo Marra - Dirigente medico, Direttore SC Radiologia, Presidio Ospedaliero S. Anna, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino
* Alfonso Frigerio - Dirigente medico, Responsabile SSD Senologia di Screening - Centro di Riferimento Regionale per lo Screening Mammografico, Presidio Ospedaliero San Giovanni Antica Sede, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino
* Livia Giordano - Dirigente medico, Responsabile SSD Epidemiologia e Screening del CRPT, Presidio Ospedaliero San Giovanni Antica Sede, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino
* Maria Grazia Baù - Dirigente medico, SC Ginecologia e Ostetricia 3, Presidio Ospedaliero S. Anna, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino
* Concetta Finocchiaro - Dirigente medico, SC Dietetica e Nutrizione Clinica (SCDNC), Presidio Ospedaliero Molinette, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino
* Luisella Milanesio - Dirigente medico, SSD Senologia di Screening - Centro di Riferimento Regionale per lo Screening Mammografico, Presidio Ospedaliero San Giovanni Antica Sede, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino
* Aurelia Mondino - Borsista SC Ginecologia e Ostetricia 3, Presidio Ospedaliero S. Anna, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino

*Altro personale*

* Cristina Cuscunà - Libero professionista nell’ambito della promozione e della comunicazione

**PREMESSE**

Il tumore della mammella è la neoplasia più frequentemente diagnosticata nelle donne, in cui un tumore maligno ogni tre è un tumore mammario: ha colpito circa 53.000 donne nel 2019 in Italia. Inoltre, nel 2016 il carcinoma mammario ha rappresentato la prima causa di morte per tumore nelle donne, nelle diverse età della vita, con oltre 12.000 decessi (fonte ISTAT). Nel 2018, nella regione Piemonte, sono stati stimati 4.350 nuovi casi.

Dalla letteratura emerge, attraverso osservazioni dirette e indirette, l’impatto della restrizione calorica sulla riduzione del rischio di recidiva e sull’aumento di efficacia delle terapie adiuvanti, specialmente in pazienti trattati per tumori del colon e della mammella, anche se vi sono evidenze di efficacia meno forti per le altre patologie oncologiche [10-13-14-15-19-20]. L’attivazione del cambiamento metabolico ottenuto attraverso una restrizione calorica importante accompagnata da un programma di attività motoria, è efficace e misurabile in tempi brevi [2-3-9-16-17-24], ma non esistono studi mirati sul cambiamento della biologia tumorale in pazienti con patologia non ancora trattata. Il tempo d’attesa per il trattamento chirurgico di un carcinoma mammario, dal momento della diagnosi, varia dai 40 ai 60 giorni ed è in parte dovuto alla esecuzione degli approfondimenti necessari e in parte a ragioni logistico-organizzative. I tempi di attesa riportati sono riproducibili in realtà nazionali ed internazionali dove si tratta un alto volume di casi (dati Eusoma, Gisma, Centro di Senologia della Città della Salute e della Scienza di Torino).

I dati di un recente studio suggeriscono che la composizione della flora dell’intestino, il cosiddetto microbiota intestinale, è in grado di influenzare il rischio di sviluppare il tumore della mammella [8]. I prebiotici sono sostanze non digeribili di origine alimentare che favoriscono selettivamente la crescita e l'attività di uno o più batteri già presenti nel tratto intestinale, mentre i probiotici sono microrganismi in grado di esercitare potenziali funzioni benefiche.

I prebiotici e i probiotici potrebbero pertanto avere un ruolo rilevante, oltre a quello della variazione dell’alimentazione, nel condizionare la flora intestinale in senso protettivo nei confronti del rischio oncologico mammario.

**OBIETTIVI**

Il progetto si pone l’obiettivo di indurre le pazienti affette da tumore della mammella a modificare i propri stili di vita in fase pre-operatoria in modo da valutare l’impatto dell'attività fisica e della restrizione calorica con l'introduzione randomizzata di prebiotici sulla dimensione e l’aggressività della lesione tumorale [7].

L’**aggressività biologica** della lesione sarà valutata mediante l’analisi dei seguenti parametri:

- dimensione della lesione; risposta patologica giudicata attraverso la diminuzione della cellularità (a favore della fibrosi) rispetto alla core biopsy iniziale e sulla base della risonanza magnetica.

- tasso di pazienti che hanno subito un trattamento meno invasivo grazie al downstaging: % mastectomie evitate, % mastectomie skin sparing vs nipple sparing, % dissezioni ascellari evitate

- variazione espressione dei fattori prognostici (prevalentemente sull’indice proliferativo, Ki67 e mitosi e sulla variazione della componente infiammatoria intratumorale, TILs), mediante il confronto tra l’esame isto-patologico condotto sul campione biologico da agobiopsia (t0) e quello effettuato sul campione chirurgico (t2) [4].

L’**indice di rischio metabolico** sarà invece valutato mediante:

- analisi delle modificazioni di parametri antropometrici nel corso dello studio (peso corporeo, BMI, rapporto circonferenza addominale/statura (WHtR) [1].

- analisi e monitoraggio di parametri biochimico-clinici indicativi dello stato di salute: esame emocromocitometrico, glicemia, insulinemia, colesterolo totale e HDL, trigliceridi, colesterolo LDL (calcolato con formula di Friedewald), acido urico, proteine totali, albumina, transferrina, PCR, IGF1 e IGF-BP

**RECLUTAMENTO**

Saranno reclutate pazienti afferenti al Programma di Screening Mammografico Prevenzione Serena con diagnosi dimostrata (risonanza magnetica e agobiopsia) di tumore invasivo unifocale della mammella, sia palpabile che non palpabile.

CRITERI DI INCLUSIONE

* Diagnosi di lesione tumorale invasiva unifocale della mammella riscontrata allo screening e confermata con risonanza magnetica e agobiopsia;

CRITERI DI ESCLUSIONE

* Pazienti in gravidanza o durante l’allattamento;
* Pazienti con seconde neoplasie maligne;
* Precedente trattamento con chemioterapia e/o radioterapia
* Pazienti affette da diabete mellito in terapia insulinica
* Pazienti affette da distiroidismo (ipo- ed iper-tiroidismo) scompensato
* Pazienti con ipertensione arteriosa scarsamente controllata, definita come una pressione arteriosa sistolica costantemente >150 mmHg diastolica >100 mmHg, non responsiva alla terapia farmacologica;
* BMI < 18 kg/m2 o > 29 kg/m2

**TEMPI E METODI**

La selezione delle pazienti con tumore della mammella sarà eseguita nell’ambito del Programma di Screening Mammografico Prevenzione Serena. Le pazienti verranno definite eleggibili in caso di identificazione di lesioni unifocali verificate preventivamente con la risonanza [8-12] e solo successivamente potranno essere inserite nello studio. Dopo la firma del consenso informato le pazienti seguiranno il seguente iter:

* **T0**
* visita chirurgica e rilevazione dati antropometrici, verifica con impedenziometro e calcolo dell’indice di rischio metabolico (app.1). Sulla base dell’indice di rischio, avverrà la consegna di uno schema dietetico ipocalorico, senza apporto di proteine e grassi di origine animale e zuccheri semplici con le dosi selezionate e validate nello studio pilota. Lo schema dietetico ed il programma di training sono stati elaborati seguendo le indicazioni suggerite dalla letteratura e con la consulenza di esperti [22]. Le pazienti dovranno seguire le indicazioni ricevute per tutto il periodo che precede l’intervento dalla diagnosi (durata di circa 40-60 giorni). La compliance sarà valutata tramite una scheda di rilevazione deroghe, compilata giornalmente dalla paziente (app.2). L’associazione LEM APS (Laboratorio di Energia Mentale) in qualità di partner supporterà la formare delle pazienti sui corretti stili di vita tramite corsi e conferenze favorendo la compliance allo studio.
* visita posturale e, in base alla perfomance, assegnazione di uno schema di attività fisico-posturale modulata, da svolgersi a casa, comprendente esercizi di forza e carico con utilizzo di elastici, pesi e attività funzionale.
* esame isto-patologico condotto sul campione biologico da agobiopsia con valutazione dei fattori prognostici (valutazione della variazione del numero di mitosi, del Ki67 e della componente infiammatoria intratumorale, TILs)
* somministrazione e compilazione da parte della paziente del questionario QoL (app. 3)
* raccolta campione di feci: i campioni fecali raccolti dalle pazienti saranno trasferiti in contenitori di campionamento sterili e immediatamente refrigerati a 4°C ed entro le successive due ore verranno stoccati in frigoriferi alla temperatura di -80°C per valutazioni per studi successivi [5-6-11].

**Le pazienti verranno randomizzate in base all’assunzione di prebiotici e/o probiotici (braccio A) versus placebo (braccio B).**

* **T1**
	+ visita pre-operatoria ed ecografia + risonanza magnetica [18-21-23] + raccolta campione di feci e rivalutazione antropometriche + somministrazione del questionario QoL (app. 3)
* **T2**
* valutazione sul pezzo operatorio delle dimensioni anatomo-patologiche e dell’eventuale presenza di tessuto fibroso che sostituisce il tessuto tumorale (valutazione della cellularità residua) + rivalutazione dei fattori prognostici (valutazione della variazione del numero di mitosi, del Ki67 e della componente infiammatoria intratumorale, TILs.

**CALCOLO DEL CAMPIONE**

Il numero di pazienti è stato calcolato (livello di confidenza 95% e potenza 80%) assumendo la presenza di una risposta a livello dei parametri caratteristici della lesione (sia clinico-radiologici che anatomo-patologici) intorno al 40% per il braccio B e al 60% per il braccio A.. Verranno coinvolti 100 soggetti per braccio per un totale di 200 pazienti coinvolte. La durata preventivata per lo studio è di 2 anni.

**RISULTATI PREVISTI**

* risposta favorevole delle pazienti al regime di restrizione calorica, al programma personalizzato di attività motoria e all’eventuale assunzione di pre e/o probiotici
* riduzione della dimensione e dell’aggressività biologica del tumore

Sulla base dei dati della letteratura e dei risultati preliminari di uno studio pilota già svolto, si prevede inoltre che gli esiti dell’iniziativa potranno essere utilizzati per:

• utilizzare i tempi di attesa pre-operatoria delle pazienti affette da tumore mammario per migliorare lo stato di salute globale della donna e potenzialmente ridurre il rischio di recidiva del tumore

• attivare la costruzione di reti territoriali mediante l’integrazione dei protocolli terapeutici seguiti nelle strutture ospedaliere specializzate con l’attività di enti, presidi e associazioni del territorio che promuovono corretti stili di vita e programmi di attività motorie

**BIBLIOGRAFIA**

1. Ashwell, M., and Gibson S. Waist-to-height ratio as an indicator of ‘early health risk’: simpler and more predictive than using a ‘matrix’ based on BMI and waist circumference BMJ Open 2016.
2. Bluethmann, S.M.; Vernon, S. W.; Gabriel, K.P.; Murphy, C.C., and Bartholomew, L.K. Taking the next step: a systematic review and meta-analysis of physical activity and behavior change interventions in recent post-treatment breast cancer survivors. Breast Cancer Res Treat. 2015 Jan; 149(2):331-42.
3. Brandhorst, S.; Choi, I.Y.; Wei, M.; Cheng, C.W.; Sedrakyan, S.; Navarrete, G.; Dubeau, L.; Yap, L.P.; Park, R.; Vinciguerra, M.; Di Biase, S.; Mirzaei, H.; Mirisola, M.G.; Childress, P.; Ji, L.; Groshen, S.; Penna, F.; Odetti, P.; Perin, L.; Conti, P.S.; Ikeno, Y.; Kennedy, B.K.; Cohen, P.; Morgan, T.E.; Dorff, T.B. and Longo, V.D. A periodic diet that mimics fasting promotes multi-system regeneration, enhanced cognitive performance, and healthspan. Cell Metabolism. Jul-2015; 86–99.
4. Christgen, M.; von Ahsen, S.; Christgen, H.; Langer, F., and Kreipe, H. The region of-interest size impacts on Ki67 quantification by computer-assisted image analysis in breast cancer. Hum Pathol. 2015 Sep; 46(9):1341-9.
5. David, L.A.; Maurice, C.F.; Carmody, R.N.; Gootenberg, D.B.; Button, J.E.; Wolfe, B.E.; Ling, A.V.; Devlin, A.S.; Varma, Y.; Fischbach, M.A.; Biddinger, S.B.; Dutton, R.J., and Turnbaugh, P.J. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. Nature. 2014 Jan 23; 505(7484): 559–563.
6. Gentile, C.L., and Weir, T.L. The gut microbiota at the intersection of diet and human health. Science. 2018 Nov 16; 362, 776–780.
7. Gibbs, H. D.; Ellerbeck, E. F.; Befort, C.; Gajewski, B.; Kennett, A. R.; Yu, Q.; Christifano, D., and Sullivan, D. K. Measuring Nutrition Literacy in Breast Cancer Patients: Development of a Novel Instrument. J Cancer Educ. 2015 May 9.
8. Goedert JJ, Jones G, Hua X, Xu X, Yu G, Flores R, Falk RT, Gail MH, Shi J, Ravel J, Feigelson HS. Investigation of the association between the fecal microbiota and breast cancer in postmenopausal women: a population-based case-control pilot study. J Natl Cancer Inst. 2015 Jun 1;107(8).
9. Keune, J.D.; Jeffe, D.B.; Schootman, M.; Hoffman, A.; Gillanders, W.E. and Aft, R.L. Accuracy of ultrasonography and mammography in predicting pathologic response after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. The American Journal of Surgery. 2010; 199:477-484.
10. Imayama, I.; Ulrich, C.M. and Alfano, C.M. Effects of a caloric restriction weight loss diet and exercise on inflammatory biomarkers in overweight/obese postmenopausal women: a randomized controlled trial. Cancer Res. May-2012; 72(9):2314–2326..
11. Longo, V.D.; Mattson, M.P. Fasting: Molecular Mechanisms and Clinical Applications, Cell Metabolism 19, February 4, 2014; 181-192
12. Longo, V.D.; Rangan, P.; Choi, I.; Wei, M.; Ocon, V.; Abdulridha, M. Fasting-Mimicking Diet Modulates Microbiota and Promotes Intestinal Regeneration to Reduce Inflammatory Bowel Disease Pathology. Cell Reports. 2019 Mar 5; 26, 2704–2719.
13. Marinovich, M.L.; Macaskill, P.; Irwig, L.; Sardanelli, F.; Mamounas, E.; Von Minckwitz, G.; Guarneri, V.; Partridge, S.C.; Wright, F.C.; Choi, J.H.; Bhattacharyya, M.; Martincich, L.; Yeh, E.; Londero, V. and Houssami, N. Agreement between MRI and pathologic breast tumor size after neoadjuvant chemotherapy, and comparison with alternative tests: individual patient data meta-analysis. BMC Cancer. (2015) 15:662.
14. Mattson, M.P.; Allison, D.B.; Fontana, L.; Harvieg, M.; Longo, V.D.; Malaissei, W.J.; Mosleyj, M.; Notterpekk, L.; Ravussinl, E.; Scheerm, F.A.J.L.; Seyfriedn, T.N.; Varadyo, K.A. and Pandap, S. Meal frequency and timing in health and disease. PNAS. 2014 Nov; 111(47):16647–16653.
15. Meynet, O. and Ricci, J.E. Caloric restriction and cancer: molecular mechanisms and clinical implications. Trends Mol Med. 2014 Aug; 20(8):419-27.
16. Muegge, B.D., Kuczynski, J., Knights, D., Clemente, J.C., González, A., Fontana, L., Henrissat, B., Knight, R., Gordon, J.I. (2011). Diet drives convergence in gut microbiome functions across mammalian phylogeny and within humans. Science. 332, 970-4.
17. Neuhouser, M. L.; Aragaki, A. K.; Prentice, R. L.; Manson, J. E.; Chlebowski, R.; Carty, C. L.; Ochs-Balcom, H. M.; Thomson, C. A.; Caan, B. J.; Tinker, L. F.; Urrutia, R. P.; Knudtson, J., and Anderson, G. L. Overweight, Obesity, and Postmenopausal Invasive Breast Cancer Risk: A Secondary Analysis of the Women’s Health Initiative Randomized Clinical Trials. JAMA Oncol. 2015 Aug 1; 1(5):611-21.
18. O’Flanagan, C.H.; Smith, L.A.; McDonell, S.B. and Hursting, S.D. When less may be more: calorie restriction and response to cancer therapy. BMC Medicine. 2017; 15:106.
19. Ricceri, F.; Fasanelli, F.; Giraudo, M. T.; Sieri, S.; Tumino, R.; Mattiello, A.; Vagliano, L.; Masala, G.; Quiros, J. R.; Travier, N.; Sanchez, M. J.; Larranaga, N.; Chirlaque, M. D.; Ardanaz, E.; Tjonneland, A.; Olsen, A.; Overvad, K.; Chang-Claude, J.; Kaaks, R.; Boeing, H.; Clavel-Chapelon, F.; Kvaskoff, M.; Dossus, L.; Trichopoulou, A.; Benetou, V.; Adarakis, G.; Bueno-de-Mesquita, H. B.; Peeters, P. H.; Sund, M.; Andersson, A.; Borgquist, S.; Butt, S.; Weiderpass, E.; Skeie, G.; Khaw, K. T.; Travis, R. C.; Rinaldi, S.; Romieu, I.; Gunter, M.; Kadi, M.; Riboli, E.; Vineis, P., and Sacerdote, C. Risk of second primary malignancies in women with breast cancer: Results from the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). Int J Cancer. 2015 Aug 15; 137(4):940-8.
20. Sannachi, L.; Gangeh, M.; Tadayyon, H.; Gandhi, S.; Wright, F.C.; Slodkowska, E.; Curpen, B.; Sadeghi-Naini, A.; Tran, W. and Czarnota, J.G. Breast cancer treatment response monitoring using quantitative ultrasound and texture analysis: comparative analysis of analytical models. Translational Oncology. Oct-2019; 12(10): 1271-1281.
21. Schiavon, C. C.; Vieira, F. G.; Ceccatto, V.; de Liz, S.; Cardoso, A. L.; Sabel, C.; Gonzalez-Chica, D. A.; da Silva, E. L.; Galvan, D.; Crippa, C. G., and Di Pietro, P. F. Nutrition education intervention for women with breast cancer: effect on nutritional factors and oxidative stress. J Nutr Educ Behav. 2015 Jan-2015 Feb28; 47(1):2-9.
22. Simonea, B.A.; Palagania, A.; Stricklandb, K.; Koa, K.; Jina, L.; Lima, M.K.; Danc, T.D.; Saricha, M.; Montid, D.A.; Cristofanillie, M. and Simonea, N.L. Caloric restriction counteracts chemotherapy-induced inflammation and increases response to therapy in a triple negative breast cancer model. Cell Cycle 2018; 17(13):1536–1544.
23. Taydaş, O.; Durhan, G.; Akpınar, M.G. and Demirkazık F.B. Comparison of MRI and US in tumor size evaluation of breast cancer patients receiving neoadjuvant chemotherapy. Eur J Breast Health. 2019; 15(2): 119-124.
24. Travier, N.; Velthuis, M. J.; Steins Bisschop, C. N.; van den Buijs, B.; Monninkhof, E. M.; Backx, F.; Los, M.; Erdkamp, F.; Bloemendal, H. J.; Rodenhuis, C.; de Roos, M. A.; Verhaar, M.; ten Bokkel Huinink, D.; van der Wall, E.; Peeters, P. H., and May, A. M. Effects of an 18-week exercise programme started early during breast cancer treatment: a randomised controlled trial. BMC Med. 2015; 13:121.
25. Wang, B.; Jiang, T.; Huang, M.; Wang, J.; Chu, Y.; Zhong, L. and Zheng, S. Evaluation of the response of breast cancer patients to neoadjuvant chemotherapy by combined contrast-enhanced ultrasonography and ultrasound elastography. Experimental and therapeutic medicine. 2019; 17: 3655-3663.
26. Zhang, X.; Eliassen, A. H.; Tamimi, R. M.; Hazra, A.; Beck, A. H.; Brown, M.; Collins, L. C.; Rosner, B., and Hankinson, S. E. Adult body size and physical activity in relation to risk of breast cancer according to tumor androgen receptor status. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2015 Jun; 24(6):962-8.