



SAPIENZA  
UNIVERSITÀ DI ROMA

# Dottorato in MEDICINA TRASLAZIONALE E ONCOLOGIA

RICERCA SPERIMENTALE E CLINICA IN CHIRURGIA ONCOLOGICA

## Tesi di Dottorato

Ruolo della radiomica nella stadiazione, stratificazione del rischio e predizione della prognosi del tumore del colon non metastatico.

Dottorando:

Giulia Tarantino

Supervisore:

Prof. Paolo Mercantini

Co-Supervisore:

Prof.ssa Genoveffa Balducci

A.A. 2019-2020



## Sommario

1. Introduzione.....	1
2. Adenocarcinoma del colon .....	2
2.1. Epidemiologia e fattori di rischio .....	2
2.2. Patogenesi.....	7
2.3. Anatomia patologica.....	9
2.4. Aspetti clinici e diagnostici .....	13
2.5. Terapia.....	15
3. La Radiomica.....	19
4. Capitolo 3: lo studio .....	25
4.1. Obiettivi.....	25
4.2. Materiali e metodi.....	25
4.3. Risultati.....	31
4.1. Discussione.....	46
4.2. Conclusioni.....	52
Bibliografia.....	53

# 1. Introduzione

Il cancro del colon è uno dei tumori più comuni al mondo e il percorso decisionale terapeutico dipende dal sistema di stadiazione TNM e dalla presenza di fattori di rischio clinici. Tuttavia, nel caso di pazienti con malattia non metastatica, la valutazione del beneficio della chemioterapia adiuvante rappresenta una sfida clinica.

Il trattamento dei tumori del colon è ben standardizzato, il cardine della terapia è rappresentato dalla chirurgia; nei tumori in stadio I essa è sufficiente da sola, mentre gli stadi III beneficiano incontrovertibilmente di una chemioterapia adiuvante. Negli stadi II, tuttavia, la necessità di un trattamento chemioterapico postoperatorio deve essere valutata caso per caso, in base alle caratteristiche istologiche del tumore, che ne definiscono il rischio di recidiva o progressione.

Inoltre negli ultimi anni si sta affermando la possibilità di utilizzo di chemioterapia neoadiuvante nei tumori del colon localmente avanzati non metastatici; il suo utilizzo, attualmente non accettato nella routine clinica, richiede un'accurata stratificazione del rischio preoperatoria.

La radiomica si propone come strumento non invasivo, preciso, oggettivo ed economico, per delineare il fenotipo tumorale, prevedere la risposta del paziente a determinate terapie e prevedere la prognosi del paziente analizzando le immagini mediche preoperatorie.

## 2. Adenocarcinoma del colon

### 2.1. Epidemiologia e fattori di rischio

L'adenocarcinoma del colon-retto (CCR) è globalmente il quarto tumore più frequente e rappresenta la seconda causa di morte per neoplasia. [1] (Fig. 1)

Nel 2020 i tassi globali d'incidenza e di mortalità, standardizzati per età, risultano essere stati rispettivamente 11,4/100000 e 5,4/100000, con circa 1,14 milioni di nuovi casi e circa 577000 morti. Inoltre l'incidenza di questa neoplasia, storicamente maggiore nel sesso maschile, ora risulta piuttosto simile tra i due sessi (600000 vs 548000)

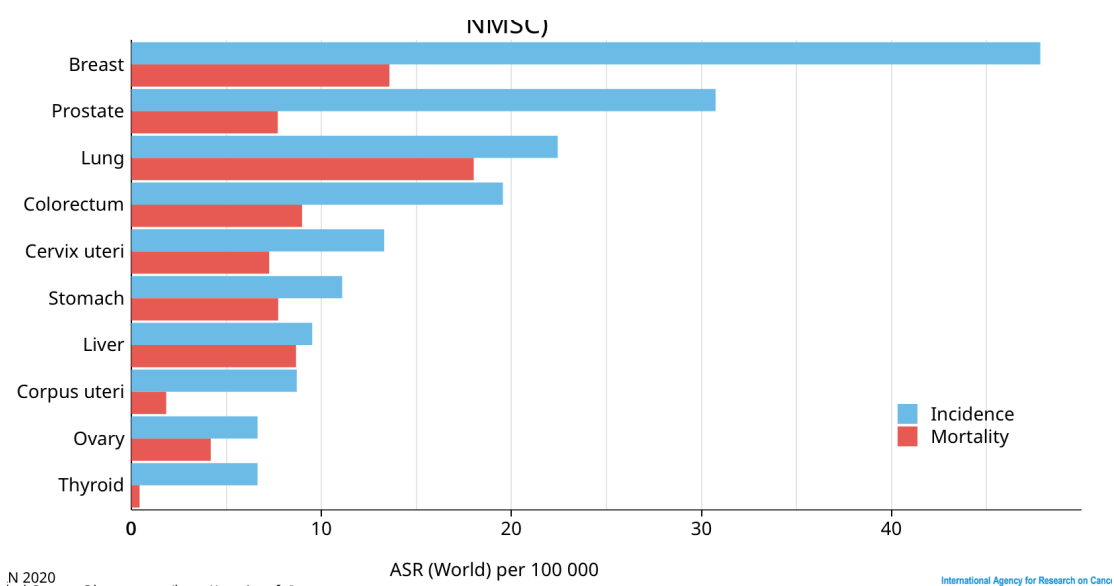


Figura.1: Dati globali di incidenza e mortalità per tumore nel 2020 (globocan)

Nel tempo, si è documentato un costante aumento nella frequenza di queste neoplasie, specie nei paesi ad alto reddito, probabilmente a causa dell'invecchiamento generale della popolazione, ma anche al diffondersi di fattori di rischio, quali abitudini dietetiche scorrette, aumento dell'obesità, mancanza di esercizio fisico. (Fig. 2, 3)

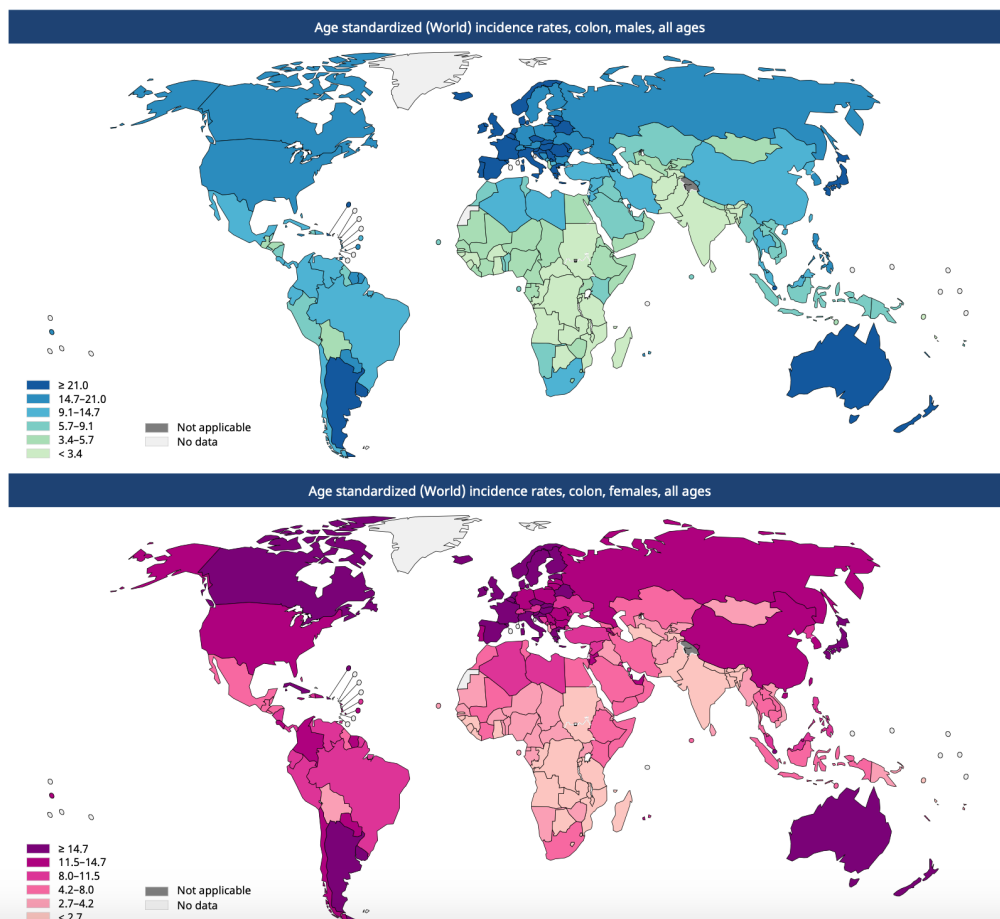


Figura 2 e 3 Rappresentazione dei tassi di incidenza di tumore del colon, mondiali nei maschi e nelle femmine

Secondo i dati ISTAT, in Italia, nel 2021 sono stimati 21.700 decessi per il tumore del colon-retto (uomini = 11.500; donne = 10.200). Nel 2022 ci sono state circa 48.100 (+1,5% negli uomini e +1,6% nelle donne) nuove diagnosi di carcinoma del colon-retto e che rappresenta la terza neoplasia negli uomini (14%) e la seconda nelle donne (12%) ed è la seconda causa di morte sia negli uomini (11%) che nelle donne (12%). [2] (Fig.4)

Rango	Maschi	Femmine	Tutta la popolazione
1°	Prostata (19%)	Mammella (30%)	Mammella (14%)
2°	Polmone (15%)	Colon-retto (12%)	Colon-retto (13%)
3°	Colon-retto (14%)	Polmone (12%)	Polmone (11%)
4°	Vescica* (12%)	Tiroide (5%)	Prostata (10%)
5°	Stomaco (4%)	Utero corpo (5%)	Vescica* (8%)

A

Rango	Maschi	Femmine	Tutta la popolazione
1°	Polmone (27%)	Mammella (17%)	Polmone (12%)
2°	Colon-retto (11%)	Colon-retto (12%)	Colon-retto (7%)
3°	Prostata (8%)	Polmone (11%)	Mammella (4%)
4°	Fegato (7%)	Pancreas (8%)	Pancreas (4%)
5°	Stomaco (6%)	Stomaco (6%)	Fegato (4%)

B

*Figura 4 A) Primi cinque tumori più frequentemente diagnosticati e proporzione sul totale dei tumori (esclusi i carcinomi della cute) per sesso nel 2019 in Italia. \* Comprende sia tumori infiltranti sia non infiltranti. B) Prime cinque cause di morte oncologica e proporzione sul totale dei decessi oncologici per sesso. Pool AIRTUM 2010-2015.*

La distribuzione del tumore del colon-retto è molto disomogenea e riflette l'andamento degli screening oncologici, grazie ai quali, negli ultimi anni, è evidente una riduzione dell'incidenza e della mortalità nella fascia oggetto di screening (50-69 anni) e negli ultrasessantenni (-1,6% negli uomini e -1% nelle donne) [3], a fronte di un aumento percentuale di incidenza del 2% annuo nei pazienti giovani (<50 anni) sottoposti a screening. [4] [5]

La pandemia di Sars-Cov-2 ha determinato, nel 2020, un calo delle nuove diagnosi, legato in parte all'interruzione degli screening oncologici e al rallentamento delle attività diagnostiche, ma oggi si assiste a una vera e propria epidemia di casi di cancro. D'altro canto, va evidenziata la ripresa dei programmi di screening, tornati nel 2021 ai livelli prepandemici; a questo corrisponde un incremento del numero di interventi chirurgici per cancro del colon-retto, anche in stadio iniziale.

Il carcinoma del colon presenta, complessivamente, una prognosi favorevole rispetto a molti altri tumori solidi; la sopravvivenza a 5 anni è pari al 65%, senza differenze tra maschi e femmine. Presenta valori elevati tra i pazienti giovani, passando dal 69% tra 15 e 44 anni al 54% tra gli anziani (75+). La

sopravvivenza dopo 10 anni dalla diagnosi risulta leggermente inferiore rispetto a quella a 5 anni, con valori pari al 64%, omogenea tra uomini e donne. [6]

L'eziologia del cancro del colon-retto è molto complessa e, nello sviluppo della malattia, è importante l'interazione tra fattori genetici e ambientali. [7]

Il cancro del colon-retto si può manifestare in forma sporadica (circa l'80% dei casi) dovuta a mutazioni somatiche del DNA, legate a fattori ambientali, o in forma familiare-genetica (circa il 20%) in cui sussiste una suscettibilità genetica o una sindrome ereditaria, che predispone alla formazione di neoplasie del colon.

I pazienti con una storia familiare di polipi adenomatosi o cancro del colon-retto (CRC) hanno un rischio aumentato di sviluppare un CRC: avere un parente di primo grado affetto da CRC raddoppia il rischio di sviluppare CRC rispetto alla popolazione media.

Le forme ereditarie sono dovute a mutazioni germinali identificate: le sindromi genetiche più comuni (frequenza intorno al 5% di tutte le neoplasie coliche), caratterizzate dalla mutazione di specifici geni oncosoppressori, sono la sindrome da poliposi adenomatosa familiare (FAP) e la sindrome del cancro coloretale ereditario non poliposico (HNPCC), nota come sindrome di Lynch.

- La sindrome di Lynch è responsabile di circa il 2-4% dei tumori del colon-retto e predispone, inoltre, a una serie di altre neoplasie, tra cui quella dell'endometrio, stomaco e ovaie. Questi soggetti hanno un rischio del 70-80% di sviluppare, nel corso della propria vita, un tumore a livello colo-rettale, che solitamente è caratterizzato da un'età di esordio precoce e da una localizzazione preferenziale a livello del colon destro. Questa sindrome, autosomica dominante, è causata da mutazioni ereditarie nei geni che codificano per le proteine



responsabili dell'identificazione, escissione e riparazione degli errori che si verificano durante la replicazione del DNA, i geni del DNA Mismatch Repair (MMR) (i più frequentemente mutati sono MSH2, MLH1 e MSH6). La diagnosi di HNPCC si basa sui criteri di Amsterdam e di Bethesda ma deve essere successivamente confermata da un test genetico.

- La poliposi adenomatosa familiare (1/10.000 nascite), invece, è responsabile di meno dell'1% dei tumori del colon-retto e si contraddistingue per la comparsa, fin dall'infanzia, di numerosi polipi adenomatosi lungo l'intera cornice colica, con un rischio di degenerazione neoplastica quasi del 100%. È una sindrome a trasmissione autosomica dominante ed è causata dalla mutazione del gene Adenomatous Polyposis coli (APC). La diagnosi si basa sulla storia familiare, sul quadro clinico e sul reperto endoscopico di almeno 100 polipi del colon. La diagnosi clinica, ove possibile, viene confermata dai test genetici.

Tra i fattori di rischio ambientali ricordiamo, in primo luogo, la sedentarietà, l'obesità e una dieta ricca di carboidrati raffinati e grassi, ma povera di fibre vegetali non riassorbibili. Il consumo di carne rossa e di carne lavorata, ugualmente, può incrementare il rischio di CCR; anche il consumo di alcol e il fumo di sigaretta incrementano, in maniera indipendente, il rischio di CCR. Sono invece fattori protettivi un'attività fisica regolare, il consumo di pesce, una dieta ricca di fibre, un elevato introito di vitamina D e calcio e l'assunzione regolare di aspirina. [8]

Individui affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali, in primo luogo rettocolite ulcerosa ma in misura minore anche morbo di Crohn, hanno un rischio quasi duplicato di sviluppare un tumore del colon-retto rispetto alla popolazione generale [9].

Infine, anche chi è affetto da diabete mellito di tipo II ha un rischio incrementato di CCR: infatti l'iperinsulinemia sembra promuovere la proliferazione cellulare e ridurre l'apoptosi [10].

## 2.2. Patogenesi

Le forme sporadiche sono dovute ad alterazioni somatiche del DNA sia genetiche che epigenetiche. Le mutazioni che si verificano sono importanti sia dal punto di vista patogenetico, che prognostico-predittivo per la risposta a target terapeutici.

Nel 1990, Fearon e Vogelstein furono i primi a descrivere un modello genetico per la tumorigenesi del colon-retto, secondo un modello in cui alcune mutazioni geniche rendevano attivi alcuni oncogeni ed eliminavano la funzione di alcuni oncosoppressori nella cosiddetta "sequenza adenoma-carcinoma". (Fig 5)

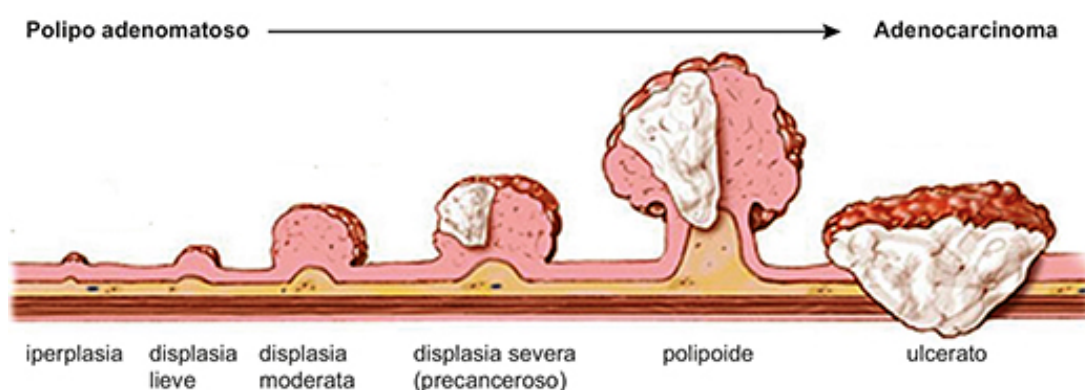


Figura 5: Sequenza adenoma-carcinoma

Questa sequenza è un tipico esempio di patogenesi multistep, in cui quindi numerose alterazioni genetiche sono richieste affinché si sviluppi la neoplasia [11] [12].

Riconosciamo tre principali vie patogenetiche, tutte accomunate dalla precoce alterazione del sistema WNT (APC- $\beta$ -catenina) in seguito a mutazioni o ad alterazioni epigenetiche:

- La via dell'instabilità cromosomica (CIN), responsabile di circa il 65-70% dei carcinomi del colon-retto sporadici e propria dei pazienti affetti da Poliposi Adenomatosa Familiare (FAP). È caratterizzata da perdite o acquisizioni di porzioni cromosomiche che risultano in un'aneuploidia, in amplificazioni di porzioni subcromosomiche del genoma e in un'alta frequenza di "loss of heterozygosity (LOH)". Il primo step della sequenza mucosa normale-adenoma-carcinoma è dato dalla mutazione, somatica o germinale, del gene APC, un gene oncosoppressore la cui mutazione comporta una mancata degradazione della  $\beta$ -catenina e il suo accumulo a livello nucleare, con conseguenti alterazioni del controllo dei contatti intercellulari e anomalie del ciclo cellulare. Successivamente a questa mutazione si andranno a sommare altre alterazioni citogenetiche: la mutazione del gene KRAS, la perdita di funzione di p53 e dei geni oncosoppressori presenti sul braccio lungo del cromosoma 18 (come SMAD2, SMAD4, e DCC, Deleted in Colon Cancer). In questo modo si passerà da una mucosa normale a un'adenoma fino ad arrivare poi al carcinoma, che in questo caso avrà una localizzazione preferenziale a livello del colon sinistro.
- La via dell'instabilità microsatellitare (MSI), responsabile di circa il 15% dei CCR sporadici, è caratterizzata da mutazioni germinali (sindrome di Lynch) dei DNA Mismatch Repair genes (MMR) o da ipermetilazione dei loro promotori (cancro sporadico MSI+). Il nome deriva da sequenze altamente ripetitive, localizzate a livello delle sequenze promotrici o codificanti di geni oncosoppressori, dette microsatelliti, a carico delle quali, in seguito all'alterazione del MMR, si avrà un progressivo accumulo

mutazioni. Queste mutazioni porteranno allo sviluppo del CCR, più frequentemente localizzato a livello del colon destro.

- Via dell'adenoma serrato, in cui abbiamo un fenotipo metilatore delle isole CpG (CIMP, CpG Island Methylator Phenotype), per cui si ha ipermetilazione e conseguente silenziamento del promotore di numerosi geni, in particolare oncosoppressori. I CCR CIMP+ presentano un'elevata frequenza di mutazioni del gene BRAF, una chinasi della famiglia dei geni RAS, il cui deficit riduce l'apoptosi cellulare. Questa via è più frequente nei tumori che si sviluppano da un adenoma serrato.

È importante sottolineare che il coinvolgimento di una di queste vie non esclude necessariamente il coinvolgimento delle altre.

### 2.3. Anatomia patologica

La classificazione istologica dei tumori CRC si basa sulla classificazione WHO, la più aggiornata è del 2019.

Si possono distinguere 4 forme macroscopiche:

- forma vegetante: si presenta come una neoformazione polipoide che protrude nel lume intestinale, a superficie e margini irregolari;
- forma ulcerata: si presenta con margini sollevati e irregolari; può essere circolare od ovoidale;
- forma infiltrante: composta da ulcerazione centrale con margini rilevati ed estesi e diffuso ispessimento della parete; spesso risulta l'evoluzione di una forma vegetante o ulcerata;
- forma anulare o stenosante: estesa per tutta la circonferenza intestinale determinando restringimento del lume; ha superficie irregolare e tendenza ulcerativa.

La WHO suggerisce la suddivisione microscopica dei tumori coloretali in epiteliali, carcinoidi (argentaffini o non), tumori non epiteliali (leiomiosarcomi), tumori del sistema ematopoietico e forme non classificabili. La maggior parte di tumori del colon retto sono epiteliali (carcinomi), di questi più del 90% sono adenocarcinomi e la rimanente parte è costituita da forme più rare (adenosquamoso, a cellule fusate "spindle", squamoso e indifferenziato). Gli adenocarcinomi possono essere ulteriormente differenziati in tipo cribriforme "comedo type", midollare, micropapillare, serrato, mucinoso e a cellule ad anello con castone. Per la diagnosi di queste ultime due forme è necessario che almeno il 50% delle cellule tumorali presentino le caratteristiche in oggetto, entrambi i sottotipi sono caratterizzati da una prognosi sfavorevole.

Un altro aspetto anatomico-patologico da considerare è il grado di differenziazione dei tumori. La differenziazione cellulare è determinata dalla presenza o assenza di alcuni parametri quali la conservazione della polarità del nucleo, la presenza di formazioni tubulo-ghiandolari, l'infiltrazione infiammatoria, il pattern di crescita.

Il grado di differenziazione si applica solo all'adenocarcinoma, essendo le altre varianti morfologiche associate ad una prognosi propria, è raccomandata la classificazione in grado di differenziazione (G) basso G1, moderato G2 e alto G3. I tumori ad alto grado sono associati ad una prognosi più sfavorevole. [14] Altri parametri utili nella caratterizzazione dei CRC, sono il tipo di crescita, se espansiva o infiltrativa, l'invasione linfovaskolare e perineurale, il grado di infiltrazione linfocitaria al margine di invasione e il numero di linfociti che infiltrano le cellule neoplastiche (TILs, tumor infiltrating lymphocytes).

Il sistema Tumor, Node, Metastasis (TNM) dell'American Joint Committee on Cancer (AJCC) (8° edizione, 2017) è il metodo di stadiazione preferito per i tumori del colon-retto [14]. (Tabella 1 e 2)

<b>Primary tumour (pT)</b>	
<b>TX:</b>	tumore primitivo non definibile
<b>T0:</b>	tumore primitivo non evidenziabile
<b>Tis:</b>	carcinoma in situ/carcinoma intramucoso (coinvolgimento della lamina propria senza estensione alla muscolaris mucosae)
<b>T1:</b>	tumore che invade la sottomucosa (attraversa la muscolaris mucosae ma non la muscolare propria)
<b>T2:</b>	tumore che invade la muscolare propria
<b>T3:</b>	tumore che invade la muscolare propria fino ai tessuti pericorettali
<b>T4:</b>	<p>a tumore che invade il peritoneo viscerale (compresa la perforazione dell'intestino e continua invasione del tumore attraverso aree di infiammazione sulla superficie del peritoneo viscerale)</p> <p>b tumore che invade direttamente organi o strutture adiacenti</p>
<b>Regional lymph nodes (pN)</b>	
<b>NX:</b>	linfonodi regionali non documentabili
<b>N0:</b>	linfonodi locoregionali liberi da metastasi
<b>N1:</b>	<p>a metastasi in 1 linfonodo locoregionale</p> <p>b metastasi in 2-3 linfonodi locoregionale</p> <p>c nessun linfonodo locoregionale positivo un tumor deposit nella sottosierosa, nel mesentere o nei tessuti perirettali non peritoneizzati</p>
<b>N2:</b>	<p>a metastasi in 4-6 linfonodi locoregionali</p> <p>b metastasi in 7 o più linfonodi locoregionali</p>
<b>Distant metastasis (pM)</b>	
<b>M0:</b>	metastasi a distanza assenti (categoria non assegnata dall'anatomopatologo)
<b>M1:</b>	<p>a metastasi confinate ad 1 organo, senza metastasi peritoneali</p> <p>b metastasi a 2 o più organi, senza metastasi peritoneali</p> <p>c metastasi peritoneali, con o senza metastasi ad altri organi</p>

Tabella 1: TNM cancro del colon-retto AJCC 2017 (8° edizione)

Stadio	T	N	M
<b>0</b>	Tis	N0	M0
<b>I</b>	T1-2	N0	M0
<b>IIA</b>	T3	N0	M0
<b>IIB</b>	T4a	N0	M0
<b>IIC</b>	T4b	N0	M0
<b>IIIA</b>	T1-2	N1-1c	M0
	T1	N2a	M0
<b>IIIB</b>	T3-4a	N1-1c	M0
	T2-3	N2a	M0
	T1-2	N2b	M0
<b>IIIC</b>	T4a	N2a	M0
	T3-4a	N2b	M0
	T4b	N1-2	M0
<b>IVA</b>	Qualsiasi T	Qualsiasi N	M1a
<b>IVB</b>	Qualsiasi T	Qualsiasi N	M1b
<b>IVC</b>	Qualsiasi T	Qualsiasi N	M1c

Tabella 2: Staging cancro del colon-retto AJCC 2017 (8° edizione)

In questa stadiazione la presenza di carcinosi peritoneale (M1c) e micrometastasi linfonodali (cluster più grandi di 0.2mm) sono considerati fattori prognostici negativi.

Un ruolo fondamentale, nella previsione prognostica, è rappresentato dal coinvolgimento linfonodale e dal numero di linfonodi asportati; il sample linfonodale è considerato adeguato se vengono asportati almeno 12 linfonodi.

L'indicatore prognostico più importante è lo stadio di presentazione alla diagnosi: secondo i dati SEER l'Overall Survival a 5 anni passa dal 74% dei tumori in stadio I, al 66% e 58% rispettivamente dello stadio IIa e IIb, si registra un decremento sostanziale negli stadi IIc con una 5yOS di 37%, la prognosi dello stadio III varia dal 28 al 73%, mentre nello stadio IV la sopravvivenza a 5 anni è solo del 5%. [15]

#### 2.4. Aspetti clinici e diagnostici

Una diagnosi appropriata e una corretta stadiazione sono fondamentali per garantire una corretta strategia di trattamento.

Una neoplasia del colon può essere sospettata per alcuni sintomi quali ostruzione intestinale, peritonite e talvolta emorragia intestinale; il paziente con un tumore del colon precoce nella maggior parte dei casi è del tutto asintomatico, il sospetto può insorgere se il paziente esegue una ricerca del sangue occulto delle feci con risultato positivo.

La colonscopia completa fino al cieco, accoppiata con biopsia di una lesione sospetta, è considerato il gold standard per la diagnosi delle lesioni del colon-retto: questa procedura consente di localizzare il tumore e di asportare polipi, rappresentando così un'opportunità sia diagnostica che terapeutica.

La conferma diagnostica è data dall'esame istologico eseguito su biopsia, o sul polipo resecato. Talvolta la colonscopia non è sufficiente, soprattutto in presenza di lesioni che impediscono il passaggio dell'endoscopio, ed è necessario eseguire una RX con clisma opaco o colonscopia virtuale: questa consiste nell'ottenere immagini tomografiche dopo l'insufflazione del colon con anidride carbonica e la loro ricostruzione in 2D o 3D, con sensibilità simile ad una colonscopia; alternativamente si esegue una TAC addominale e pelvica per contribuire alla diagnosi di CRC [16].



Gli esami di laboratorio, comprensivi dei marker tumorali (CEA, CA19-9 ed altri), sono di scarsa utilità diagnostica essendo influenzati da varie condizioni, sia fisiologiche che patologiche. Nel cancro del colon (CC) valori elevati di CEA possono comparire tardivamente od essere assenti, ma la loro presenza o ricomparsa nel post-operatorio ha significato prognostico negativo. Dopo la diagnosi bisogna stabilire lo stadio della neoplasia per pianificare le scelte terapeutiche.

Il gold standard per la stadiazione del CC è la TC torace-addome con mezzo di contrasto: questa, oltre a valutare le dimensioni della neoplasia e l'eventuale coinvolgimento di organi e strutture adiacenti, permette di stimare il grado di disseminazione sistemica della malattia; La TC ha una sensibilità dell'80% e una specificità del 95% nella rilevazione di metastasi epatiche, ma purtroppo ha ancora grossi limiti nella valutazione del coinvolgimento linfonodale.

La Tomografia a Emissione di Positroni (PET) non è attualmente indicata tra gli esami radiologici di stadiazione, ma può essere utile per identificare eventuali sedi extraepatiche secondarie di malattia.

Il CC può diffondersi localmente, per continuità, mediante infiltrazione neoplastica nella parete intestinale con estensione lungo la parete dell'organo, e per contiguità mediante infiltrazione di organi circostanti con possibili fistole in stomaco, vagina e vescica.

Il CRC può dare metastasi a distanza dalla sede di origine per via linfatica, con coinvolgimento dei linfonodi peri e paracolici (33-62% dei pazienti alla diagnosi) o per via ematica, mediante il circolo portale e sistemico; le sedi maggiormente colpite dalla metastatizzazione a distanza sono il fegato, i polmoni, le ossa e l'encefalo. [17]

Il 25-30% dei pazienti alla diagnosi presenta metastasi epatiche e/o polmonare.

## 2.5. Terapia

I protocolli di trattamento vengono stabiliti in base allo stadio della malattia e, in particolare, variano a seconda che si tratti di malattia localizzata, quindi negli stadi I, II e III, o di malattia metastatica, cioè stadio IV.

Circa l'80% dei pazienti con cancro del colon si presenta alla diagnosi con malattia resecabile radicalmente. Il 35% di questi sviluppa una ripresa di malattia che, nella maggioranza dei casi (80%), si verifica entro i primi 3 anni dall'intervento chirurgico e, solitamente, entro i primi 5 anni (1). A otto anni di distanza dalla diagnosi le recidive avvengono in meno dello 0.5% dei casi. Le recidive locali sono rare nel cancro del colon. Le sedi più frequenti di ripresa di malattia sono fegato, linfonodi addominali, peritoneo e polmone. [18]

La chirurgia è il trattamento principale per i pazienti con CRC potenzialmente curabile a qualsiasi età, purché con un performance status accettabile;

Le resezioni endoscopiche sono riservate a casi selezionati in stadi molto precoci di malattia (cT0-T1).

Gli obiettivi della resezione chirurgica secondo criteri oncologici sono l'asportazione completa del tumore con margini adeguati (margine prossimale e distale di almeno 5 cm nel colon, e di 5 e 2 cm per il retto), la legatura "centrale" dei vasi arteriosi tributari e la linfadenectomia regionale con asportazione di almeno 12 linfonodi.

In letteratura è ampiamente dimostrato come la resezione per via laparoscopica sia sovrapponibile, come outcome di sopravvivenza, a quella laparotomica.

La chirurgia esclusiva rappresenta il trattamento curativo per i tumori del colon in stadio I, questi pazienti sono candidati al solo follow up. Infatti, in questo gruppo, i potenziali benefici di un trattamento chemioterapico precauzionale sono nettamente inferiori ai potenziali rischi correlati alla somministrazione dello stesso.

I pazienti in stadio III (con diffusione linfonodale, node-positive) sono candidati a ricevere chemioterapia adiuvante, secondo le linee guida nazionali e internazionali (AIOM ASCO, NCCN ed ESMO). Infatti i pazienti con tumore del colon stadio III, sottoposti a sola chirurgia, hanno un tasso di sopravvivenza a 5 anni compreso tra il 20 e il 50%, l'associazione di una chemioterapia adiuvante ha dimostrato una riduzione del rischio relativo di morte del 33%. Secondo le linee guida chemioterapia adiuvante standard prevede la somministrazione di schemi FOLFOX-4 o XELOX, per 6 mesi e deve essere iniziata entro 6-8 settimane dall'intervento. [18]

Per i pazienti allo stadio II (senza coinvolgimento linfonodale, node negative) la strategia è dibattuta, in questo stadio infatti la prognosi risente di fattori ulteriori rispetto alla sola stadiazione.

Il trattamento chemioterapico adiuvante deve essere preso in considerazione in pazienti considerati ad alto rischio, secondo una strategia individualizzata e ponderando accuratamente il rapporto beneficio/danno sul singolo paziente. I fattori prognostici sfavorevoli da valutare sono l'occlusione o perforazione intestinale, la perforazione del peritoneo viscerale e/o invasione diretta di altri organi o strutture (T4), il Grading G3, l'inadeguato numero di linfonodi analizzati (<12), la presenza di invasione vascolare, linfatica e/o perineurale, più incerto è il ruolo del valore elevato del CEA pre-operatorio.

Lo studio più vasto sui tumori del colon in stadio II è l'inglese QUASAR [19], che ha selezionato randomicamente e senza stratificazione del rischio i pazienti che avrebbero ricevuto una chemioterapia adiuvante; Il rischio relativo di morte per ogni causa con CHT versus sola chirurgia è risultato dello 0.82 e il rischio di ricorrenza di 0.78, dopo un follow up di 10 anni. L'incremento complessivo dimostrato sulla sopravvivenza, con uno schema di chemioterapia adiuvante, era del 3.6%, ma allo studio sono stati riconosciuti

alcuni limiti dovuti a una scarsa dissezione linfonodale, alla somministrazione di radioterapia o di chemioterapia portale.

L'analisi retrospettiva ACCENT [20] sugli stadi II ha dimostrato un miglioramento nella DFS e OS a 10 anni nel gruppo sottoposto a chemioterapia con malattia ad alto rischio, rispetto al controllo (51%vs 35%).

Non vi sono ancora elementi sufficienti per impiegare, nella pratica clinica, criteri di stratificazione del rischio in base a precise caratteristiche biologiche e molecolari, anche se la presenza della Instabilità Microsatellitare (MSI) sembra avere un importante impatto prognostico (prognosi migliore nei pazienti in stadio II anche ad alto rischio, ma outcome peggiori negli stadi III a causa della resistenza alla terapia con 5-Fluorouracile).

È inoltre da sottolineare il paradosso secondo cui il sottogruppo dei pazienti in stadio IIc presenta una prognosi nettamente peggiore dei pazienti con coinvolgimento linfonodale in stadio IIIa, suggerendo che l'estensione tumorale T4, abbia un grande impatto negativo nella determinazione della prognosi.

Pertanto, è fondamentale soprattutto nei pazienti con tumore colico in stadio II l'identificazione di fattori prognostici che possano selezionare i pazienti a maggior rischio di recidiva, perché proprio questo gruppo di pazienti è quello che beneficerà maggiormente di uno schema chemioterapico, volto a "sterilizzare" il sito chirurgico eliminando le micrometastasi.

Un altro aspetto terapeutico interessante che sta emergendo, negli ultimi anni, è la possibilità di sottoporre i pazienti con malattia localmente avanzata a protocolli di chemioterapia neoadiuvante, come avviene già in altri tipi di neoplasia come il tumore del retto o dello stomaco.

Il principale studio in merito, i cui risultati sono stati presentati nel 2019, è il FOx-TROT [21]; ad oggi la chemioterapia neoadiuvante per i tumori localmente avanzati risulta essere un'opportunità terapeutica utile e pronta per essere utilizzata nella pratica clinica, a patto di riuscire ad ottenere una

buona selezione dei pazienti ed evitare l'overtreatment di pazienti che rischiano di essere fallacemente sovrastadiati con i metodi tradizionali.

Circa il 30% dei pazienti viene diagnosticato con carcinoma coloretale metastatico (mCRC) allo stadio IV al momento della visita iniziale. Circa il 35% dei pazienti con diagnosi di CRC allo stadio II o III, andrà incontro a malattia metastatica.

Lo stadio IV ha una prognosi infausta: il tasso di sopravvivenza a 5 anni è <10% ed il tempo di sopravvivenza mediano dei pazienti trattati con una terapia di supporto ottimale senza alcuna chemioterapia è di circa 5 mesi.

La strategia ottimale di trattamento per i pazienti con CRC metastatico (mCRC) dovrebbe essere discusso in un team multidisciplinare. Ad oggi le strategie comprendono in primo luogo la chemioterapia sistemica, ma possono contribuire anche la radioterapia e la chirurgia.

### 3. La Radiomica

Negli ultimi anni, si è assistito ad una crescita esponenziale della Diagnostica per Immagini, con un numero sempre maggiore di strumenti e modelli clinico-diagnostici ed un enorme crescita dei dataset utilizzati.

Grazie all'ausilio di algoritmi di intelligenza artificiale, necessari per gestire l'enorme mole di dati disponibili, si è assistito alla nascita di nuove opportunità di sviluppo per l'imaging; infatti, tutte le immagini digitali acquisite con le diverse metodiche di indagine (radiologia tradizionale, ultrasuoni, TC, RM) contengono una gran quantità di informazioni che possono essere estratte analizzate e rese disponibili come supporto decisionale clinico: si è assistito così alla nascita della Radiomica.

Il concetto fondante di tale nuova disciplina è la capacità di estrarre dati quantitativi da immagini qualitative, consentendo, così, l'utilizzo delle immagini biomediche a livello ultrastrutturale, al di là della semplice analisi visiva, per estrapolare informazioni che riflettano la fisiopatologia sottostante l'immagine stessa e l'integrazione di questi dati con altre informazioni molecolari e cliniche [23].

La Radiomica, sebbene si basi sempre sull'analisi delle Immagini radiologiche, è una metodica che permette di estrarre le caratteristiche quantitative ultrastrutturali di un'immagine, attraverso l'analisi dei pixel e voxel che la compongono, rendendo l'interpretazione dell'immagine nel suo complesso più oggettiva e contribuendo all'individuazione di pattern presenti nell'immagine non rilevabili ad occhio nudo, al fine di estrarre dei dati per la generazione o per la conferma di ipotesi cliniche.

La Radiomica ha l'obiettivo di integrarsi nel processo decisionale medico, nell'ottica di rispondere a quesiti personalizzati per il paziente, così come è richiesto nella Medicina di Precisione.

Il maggior campo di indagine della Radiomica è rappresentato dall'Oncologia (circa 90%) ed in minor misura da patologie non oncologiche (patologie neurodegenerative, metaboliche, etc...); le modalità di Imaging utilizzate in tale ambito sono rappresentate dalla Tomografia Computerizzata (TC), Risonanza Magnetica Nucleare (RMN), Tomografia ad Emissione di Positroni (PET/TC e PET/RMN), Ecografia e Mammografia [24].

Le caratteristiche quantitative di un'immagine diagnostica digitale riguardanti intensità dei pixel, forma, dimensione o volume e texture riflettono informazioni nuove sul fenotipo tumorale e sul microambiente (o habitat) e sono integrabili con quelle fornite dai dati clinici, dai risultati dei test di laboratorio e dai test genomici o proteomici.

Tale approccio volto alla multidisciplinarietà è rappresentato dalla Radiogenomica ovvero, nell'estrazione di dati radiomici da un tessuto e le correlazioni di questi con schemi genomici, con il fine di integrare ed associare un biomarker di Imaging ad uno molecolare.

Il suffisso -omica è mutuato dalla biologia molecolare, dove è usato per indicare la caratterizzazione dettagliata di molecole biologiche come DNA (Genomica), RNA (Trascrittomica), proteine (Proteomica) e metaboliti (Metabolomica). Tale suffisso è stato traslato ed utilizzato anche in altri campi della ricerca medica che generano dati complessi ad alta dimensione da singoli oggetti o campioni [25], come appunto la Radiomica.

I dati forniti dalla Radiomica/radiogenomica sono derivati dall'intero tumore, riflettendone in toto l'eterogeneità, e forniscono dati più completi rispetto a quelli di una biopsia, che è legata all'area tumorale campionata. Un'immagine multislice o tridimensionale di un paziente può contenere facilmente milioni di voxel. Inoltre, un tumore (o un tessuto/organo oggetto di studio) può contenere centinaia di caratteristiche quantitative che descrivono dimensioni, forma e consistenza.

L'utilizzo della radiogenomica potrebbe rivelarsi utile nella scelta delle aree del tumore da biopsizzare e potrebbe fornire informazioni di conferma a supporto dei risultati istopatologici. Questo è importante, poiché il tasso di errore dell'istopatologia in ambito oncologico non è trascurabile ed in alcuni casi può comportare un differente approccio terapeutico per il Paziente [26, 27].

La combinazione di caratteristiche radiomiche con dati genomici può così aumentare il potere diagnostico, prognostico e predittivo di uno specifico tumore e potrà fornire elementi utili alla previsione della risposta al trattamento e al monitoraggio dello stato della malattia durante follow-up [23].

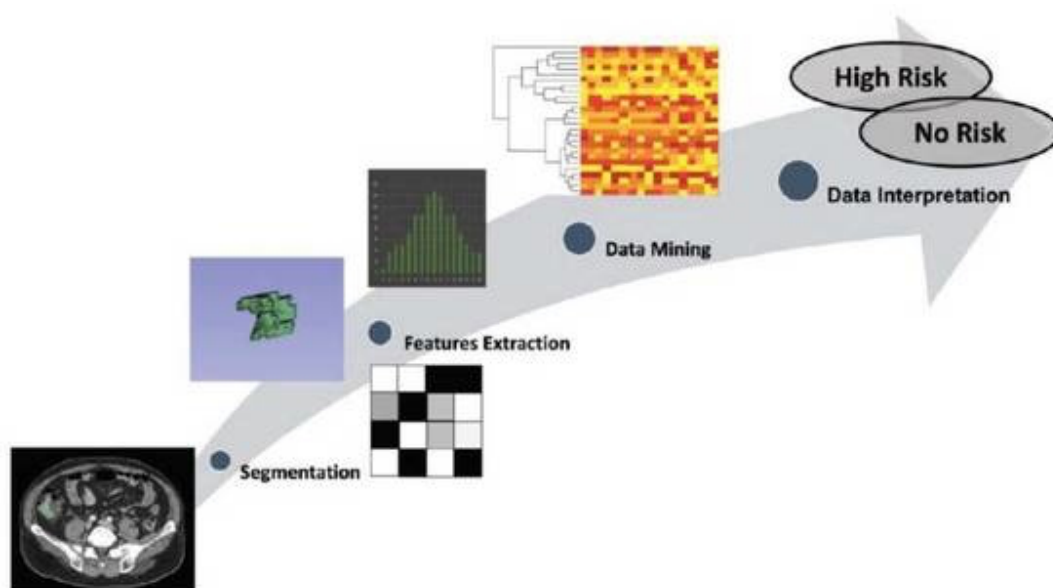
Numerosi studi hanno già dimostrato la capacità delle analisi di Radiomica di apportare un contributo importante in termini di prognosi e risposta alla terapia per quanto riguarda il tumore del retto, il tumore polmonare non a piccole cellule, i tumori renali, i tumori primitivi e metastatici epatici [28, 29, 30, 31]. È pertanto sempre più evidente come i dati forniti dalla Radiomica possano supportare il lavoro clinico quotidiano e svolgere un ruolo chiave nella costruzione di database multicentrici, da utilizzare per sviluppare modelli decisionali integrati con i biomarker e con i dati clinici già a disposizione.

Sebbene il concetto di estrazione di dati da immagini radiologiche possa sembrare di semplice attuazione, esso implica una serie di processi imprescindibili per giungere al risultato prefissato. Questi passaggi possono essere sintetizzati come segue:

1. acquisizione standardizzata delle immagini;
2. identificazione dei volumi di interesse;
3. segmentazione dei volumi;
4. estrazione e categorizzazione delle caratteristiche descrittive dal volume;



5. integrazione dei dati quantitativi estratti con altri dati quantitativi provenienti da altre fonti di informazione;
6. costruzione di modelli predittivi di supporto alle decisioni cliniche (Fig.6)



**Figura 6. Radiomica**

È necessario sottolineare l'importanza dell'acquisizione standardizzata dal punto di vista dei parametri tecnici (es. kV, spessore di acquisizione, tipologia e percentuale di ricostruzioni iterative per la TC) che permette di ridurre il numero di variabili e di possibili bias, che si potrebbero incontrare nell'estrazione dei dati e ridurre la ripetibilità di alcuni parametri [32].

Un altro step estremamente delicato è, poi, la scelta del volume di indagine, basata sulla conoscenza clinica e radiologica del quesito oggetto di analisi e la segmentazione dello stesso.

La segmentazione del volume di interesse infatti è eseguita con software che permettono una segmentazione manuale (precisa seppur operatore dipendente e dispendiosa in termini di tempo) oppure automatica (rapida, richiede software più complessi che necessitano validazione prima dell'utilizzo); un'altra alternativa è invece la segmentazione semi-automatica, che si serve di software che automaticamente riconoscono il volume da

segmentare ma con la possibilità di modificare il volume incluso nell'analisi da un operatore addestrato [34-36].

Le caratteristiche quantitative estraibili tramite l'analisi radiomica sono generalmente classificate nei seguenti sottogruppi:

- a) le caratteristiche riguardanti la forma (**Shape**) descrivono la morfologia della regione di interesse tracciata (ROI) e le sue proprietà geometriche come volume, diametro massimo lungo diverse direzioni ortogonali, massima superficie, compattezza del tumore e sfericità. Ad esempio, il rapporto superficie-volume di un tumore spicolato mostrerà valori più alti di quello di un tumore rotondo di volume simile [26].
- b) Le caratteristiche statistiche di **primo ordine** descrivono la distribuzione dei singoli valori di voxel senza considerare le relazioni spaziali. Queste sono proprietà basate sulla morfologia dell'istogramma e riportano i valori medi, mediani, massimi e minimi delle intensità del voxel sull'immagine, nonché la loro asimmetria, curtosi, uniformità ed entropia[37].
- c) Le caratteristiche statistiche di **secondo ordine** includono le cosiddette caratteristiche strutturali, che si ottengono calcolando le interrelazioni statistiche tra voxel contigui [38]. Forniscono una misura della disposizione spaziale delle intensità del voxel e quindi dell'eterogeneità all'interno della lesione. Tali caratteristiche possono essere derivate da matrici di co-occorrenza relative ai livelli di grigio (GLCM), quantificando l'incidenza di voxel con le stesse intensità a una distanza predeterminata lungo una direzione fissa, o dalla matrice a lunghezza di grigio (GLRLM), che quantifica voxel consecutivi con la stessa intensità di grigio lungo direzioni fisse [39].

d) Le caratteristiche statistiche di **ordine superiore** sono ottenute invece con metodi statistici a seguito dell'applicazione di filtri o trasformazioni matematiche alle immagini; ad esempio, allo scopo di identificare schemi ricettivi o non ripetitivi, sopprimendo il rumore o evidenziando alcuni dettagli (es. la trasformazione wavelet)[26].

## 4. Capitolo 3: lo studio

### 4.1. Obiettivi

Lo scopo del nostro progetto è di correlare le caratteristiche radiomiche con quelle istopatologiche dei pazienti con tumore del colon non metastatico, testando, le capacità predittive dello studio radiomico sulle tc stadiative preoperatorie.

L'obiettivo principale è quello di sviluppare un modello radiomico di stratificazione del rischio, che si potrebbe proporre come nuovo e precoce strumento di supporto decisionale per gli oncologi, al fine di ridurre il numero di decisioni arbitrarie nell'ambito della medicina personalizzata.

In seconda battuta l'analisi vuole correlare i risultati ottenuti con l'outcome dei pazienti, per verificare il potere prognostico del modello radiomico.

Ad oggi, molte evidenze evidenziano i punti di forza della radiomica nel workup oncologico, ma diversi aspetti limitano l'uso dei metodi radiomici come routine.

### 4.2. Materiali e metodi

Inizialmente abbiamo arruolato retrospettivamente 94 pazienti, affetti da neoplasia colica in stadio II, trattati tra Ottobre 2015 e Ottobre 2020 presso l'Azienda Ospedaliera Sant'Andrea.

Sono stati esclusi i pazienti affetti da tumore del retto extraperitoneale, quelli sottoposti a radioterapia e quelli di cui non era disponibile una Tomografia computerizzata con mdc di stadiazione preoperatoria.

Tutti i pazienti sono stati inseriti in un database che ne raccoglie le caratteristiche demografiche (età, sesso), cliniche (localizzazione, grandezza del tumore, numero di linfonodi) ed anatomo patologiche (grading G, tumor budding, instabilità microsatellitare, invasione angiolinfatica, presenza di infiltrato linfocitario tumorale, caratteristiche mucinose, necrosi e ascessualizzazione e margine di crescita).

Abbiamo valutato l'efficienza delle features radiomiche nel distinguere i tumori T3 dai T4 e cercato una correlazione tra tali caratteristiche radiomiche e l'espressione tumorale di instabilità dei microsatelliti, mediante analisi statistica con test di Mann Whitney, T- Test e Spearman's Rho.

Per accertare la capacità predittiva dei dati radiomici sono state eseguite Curve ROC.

Incentivati dai risultati incoraggianti di questa prima analisi, abbiamo voluto estendere lo studio a tutti i tumori del colon non metastatici, per provare a costruire un modello radiomico di stratificazione del rischio versatile e utile nella valutazione clinica dei pazienti.

Abbiamo quindi costruito uno studio osservazionale retrospettivo, condotto in conformità alla Dichiarazione di Helsinki ed approvato dal comitato etico dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Sant'Andrea (rif. n. CE 6597/2021). In totale, sono stati arruolati 253 pazienti (189 della coorte interna e 64 della coorte esterna) con nuove diagnosi di tumore del colon non metastatico, da gennaio 2015 a giugno 2020 e tutti i pazienti hanno fornito il consenso informato.

Per ogni paziente sono stati raccolti dati epidemiologici e clinici, tra cui l'età, il sesso, l'invasione perineurale (PNI), l'invasione linfovaskolare (LVI), la presenza di tumor budding, la stadiazione, la localizzazione del tumore e lo stato di instabilità microsatellitare.

La popolazione è stata selezionata in base ai seguenti criteri di inclusione:

- chirurgia radicale,
- disponibilità di dati clinici e istologici,
- disponibilità della fase portale sulla TAC di base e (IV) stadio I, II o III.

Criteri di esclusione:

- stadio IV,
- pazienti precedentemente trattati con chemioterapia neoadiuvante e
- pazienti con adenomi del colon in stadio avanzato.

La coorte interna è stata suddivisa in High-risk e No-risk in base alla presenza di almeno uno dei seguenti fattori di rischio: stadiazione T4, LVI, PNI, gemmazione e metastasi linfonodali [2]

Una coorte di validazione esterna di 40 tumori del colon non metastatici (27 uomini e 13 donne) è stata selezionata seguendo gli stessi criteri di inclusione ed esclusione descritti per la coorte interna. (Fig. 7).

La coorte esterna è stata utilizzata per testare i modelli predittivi.

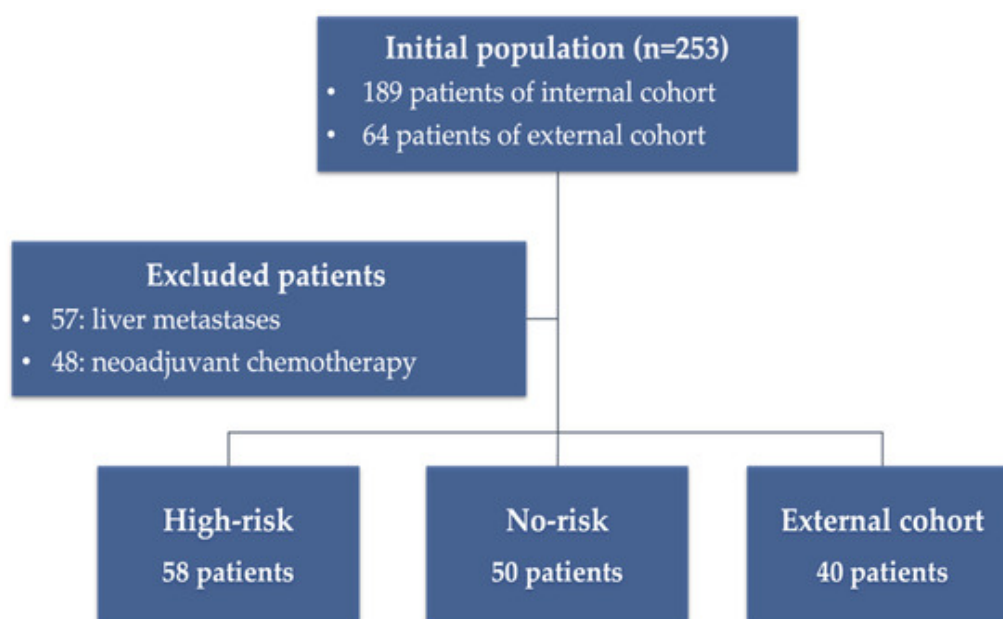


Figura 7. Diagramma di flusso per il reclutamento dei pazienti.

Infine, abbiamo provato a testare il potere predittivo di sopravvivenza della nostra analisi radiomica. In questo caso ci siamo concentrati sul subset di pazienti con tumore del colon in stadio II, tra quelli arruolati per la costruzione del modello radiomico.

Abbiamo seguito il follow up e raccolto i dati di Overall survival e Disease Free Survival degli 82 pazienti in stadio II.

Abbiamo, dunque, correlato le caratteristiche radiomiche con la OS mediante analisi univariata, usando il test di Pearson Chi quadrato.

Tutti i test sono stati eseguiti considerando statisticamente significativo un p value < 0.05.

L'analisi delle sopravvivenze è stata effettuata utilizzando le curve di Kaplan Meier, con test di eguaglianza di distribuzione delle sopravvivenze secondo Log Rank (Mantel-Cox)

#### Protocollo di acquisizione TC

Tutti i pazienti sono stati studiati con scansioni TC con mezzo di contrasto, utilizzando una TC a 128 slice (GE Revolution EVO Slice CT Scanner, GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA) prima dell'intervento.

Le scansioni TC sono state acquisite con i pazienti in posizione supina ed eseguite a fine inspirazione in direzione cranio-caudale; l'asse Z è stato impostato per coprire l'intero addome.

Il volume del mezzo di contrasto (CM) è stato personalizzato per ciascun paziente in base alla massa magra del peso corporeo (lean body weight) [18,19]:

$$\text{Volume CM (mL)} = 0,7 \text{ gI} \times \text{LBW (kg)} / \text{Concentrazione di CM ( mgI/mL )}$$

Il bolo di mezzo di contrasto (Iodixanolo 320 mg I/mL, Visipaque 320; GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA) e la successiva soluzione salina (50 mL) sono stati iniettati utilizzando un sistema di iniezione del mezzo di contrasto (MEDRAD® Centargo CT Injection System, versione 1.4.0, Bayer AG, Berlino, Germania) con una velocità di flusso fissata a 3,5 mL/s attraverso un accesso venoso antecubitale (18-20 gauge).

Per l'acquisizione della TC multifase è stato utilizzato il metodo bolus-tracking (Smart Prep, GE, Milwaukee, WI, USA) impostando una regione di interesse con soglia di 100 HU a livello del tripode celiaco all'interno dell'aorta addominale.

Per ogni paziente sono state eseguite le fasi basale, arteriosa tardiva (18 s dalla soglia) e venoso portale (70 s dalla soglia raggiunta). Sono state impostate le seguenti specifiche tecniche CT: tensione del tubo 100 kV, fattore di passo della spirale 0,98, modulazione della corrente del tubo 130-300 mAs utilizzando SMART mA (GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA), tempo di rotazione 0,6 s e collimazione  $64 \times 0,625$  mm.

#### Analisi della segmentazione delle TAC

Tutti i tumori del colon sono stati segmentati da due radiologi addominali esperti, che hanno eseguito indipendentemente una segmentazione volumetrica del tumore del colon sulle scansioni TC preoperatorie in fase portale. Per la segmentazione è stato utilizzato il software open-source 3D Slicer (versione 4.10.2, <https://download.slicer.org/>).

La regione volumetrica di interesse è stata delineata manualmente, fetta per fetta, in modo da coprire l'intero volume del tumore del colon ed evitare di includere nella segmentazione il grasso peri-colico circostante e la parete sana dell'intestino crasso (*Fig. 8*).



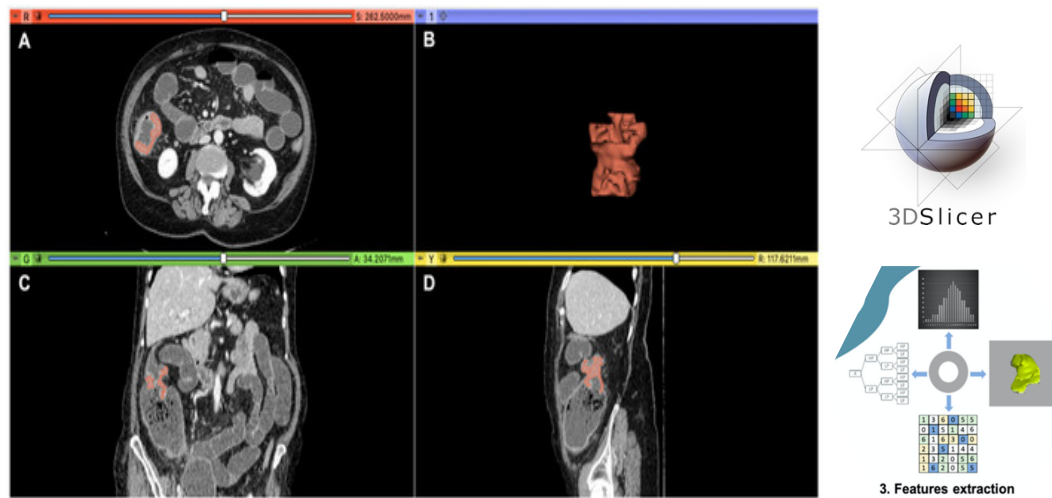


Figura 8. Segmentazione 3D del tumore del colon in fase portale eseguita con il software Slicer (versione 4.10.2, <https://download.slicer.org>, consultato il 17 marzo 2021). Il pannello (A) mostra i piani assiale, (B) la segmentazione volumetrica 3D, (C) coronale e (D) sagittale.

#### Analisi radiomica

Per estrarre 107 caratteristiche radiomiche dalla fase venosa portale della TC, è stata utilizzata l'estensione 3D Slicer Radiomics (pyradiomics library [20]).

Le 107 caratteristiche estratte comprendono: 19 caratteristiche di statistiche di primo ordine, 13 caratteristiche di Shape 2D e 3D, 5 caratteristiche di Neighboring Gray Tone Difference Matrix (NGTDM), 16 carstteristiche di Gray Level Size Zone Matrix (GLSZM, 24 caratteristiche di Gray Level Co-Occurrence Matrix (GLCM), 14 caratteristiche di Gray Level Dependence Matrix (GLDM) e 16 caratteristiche di Gray Level Run Length Matrix (GLRLM).

#### Analisi statistica nella costruzione del modello radiomico

Tutti i dati continui sono stati valutati come media  $\pm$  deviazione standard. La variabilità inter-osservatore, valutando la correlazione interclasse (ICC), è

stata utilizzata per selezionare le caratteristiche radiomiche stabili; le caratteristiche radiomiche che hanno raggiunto una ICC > 0,8 sono state selezionate per le successive fasi di analisi statistica [21].

Il t-test di Student e il test U di Mann-Whitney sono stati utilizzati per il confronto delle variabili continue dei pazienti ad alto rischio e non a rischio, rispettivamente in base alla normalità o alla non normalità gaussiana. La regressione logistica univariata è stata utilizzata per testare le caratteristiche radiomiche stabili (ICC > 0,8) come predittori di tumore ad alto rischio. Tutti i parametri significativi ( $p < 0,05$ ) sono stati selezionati per l'analisi di regressione logistica multivariata, con l'obiettivo di costruire un modello radiomico per prevedere il cancro del colon ad alto rischio.

Il modello radiomico predittivo, validato attraverso la coorte esterna, è stato classificato come tipo 3 secondo le dichiarazioni TRIPOD (transparent reporting of a multivariable prediction model for individual prognosis or diagnosis) [22].

La significatività statistica è stata impostata a  $p < 0,05$ .

L'analisi statistica è stata condotta utilizzando MedCalc (MedCalc Software, versione 15, Ostenda, Belgio).

### 4.3. Risultati

#### I. Analisi stadio II

Nella nostra prima analisi, abbiamo arruolato retrospettivamente 94 pazienti, affetti da cancro del colon in stadio II, trattati tra Ottobre 2015 e Ottobre 2020, presso l'Azienda ospedaliera Sant'Andrea.

Abbiamo raccolto tutte le caratteristiche cliniche ed istopatologiche in un database; dall'analisi di popolazione risultava un'età media di 69 anni (range da 41 a 94), con una lieve prevalenza dei pazienti di sesso maschile (55%).

Il 53% delle neoplasie era collocato in sede prossimale (colon destro o trasverso) e nel 55% dei casi il tumore era pT3; nel gruppo dei T3 l'instabilità dei microsatelliti era presente in 10 casi mentre tra i T4 in 4 casi.

Secondo la classificazione WHO le neoplasie analizzate risultavano ben differenziate nel 3% dei casi mentre erano moderatamente o scarsamente differenziate nel 94% dei casi. In 7 casi (7,4%) il numero di linfonodi raccolti nel pezzo operatorio era inferiore a 12. La presenza di budding tumorale all'esame istologico era stata valutata solo su 27 pazienti, di questi il 54% evidenziavano clusters di tumor budding. (Fig. 9 e Tabella 3)

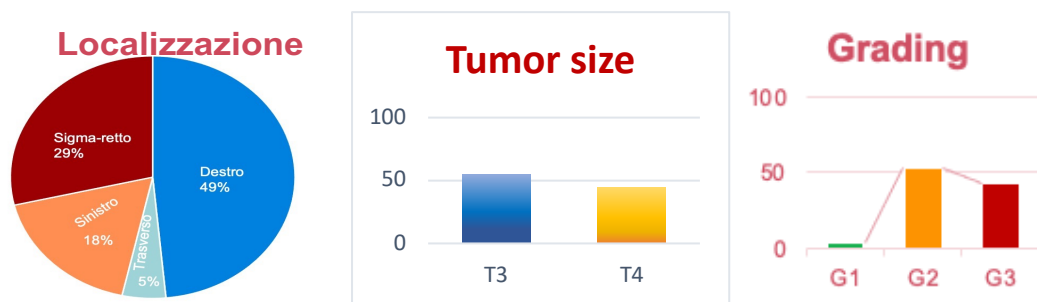


Figura 9. Analisi di popolazione tumori del colon stadio II, 94 pazienti.

A distribuzione della localizzazione B grado di estensione tumorale C distribuzione del grado di differenziazione

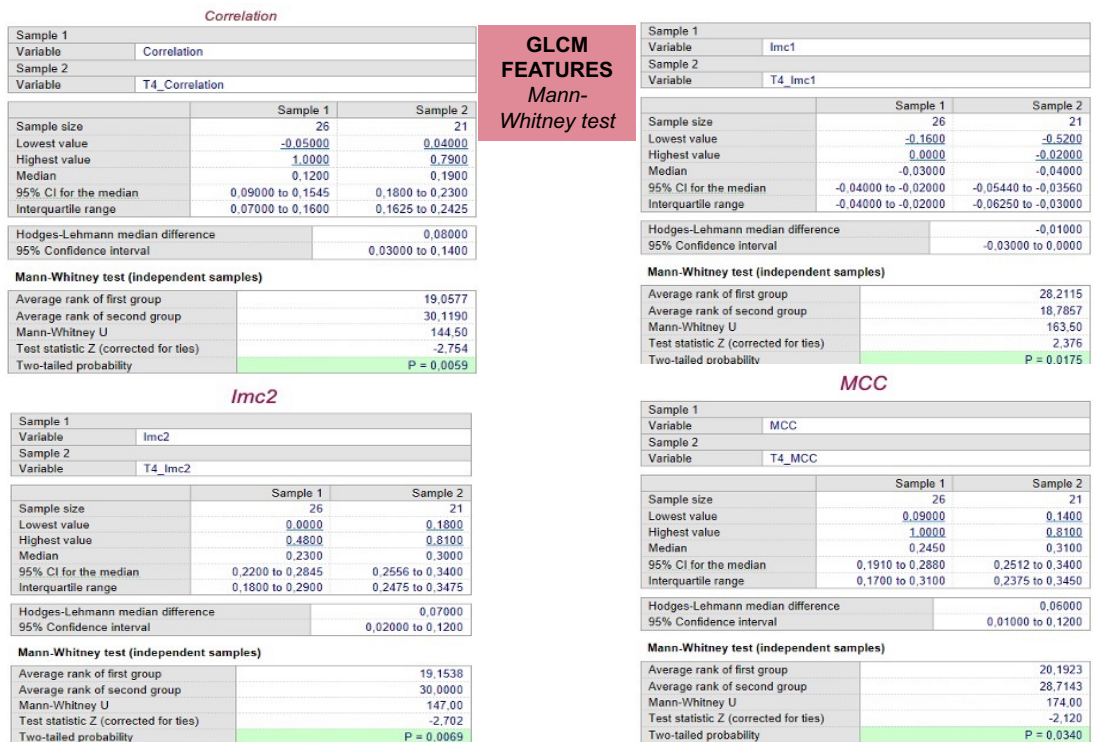
Totale 94 pz		N (%)	
<b>BUDDING</b>			
Assente	12 (12.7)		
Presente	15 (16)		
NS	48 (71.3)		
<b>INSTABILITA' MMR</b>			
Assente	80 (85.1)		
Presente	14 (14.9)		
NS	0 (0)		
<b>LV</b>			
Assente	23 (24.4)		
Presente	30 (32)		
NS	41 (43.6)		
<b>INFILTRATO LINFOCITARIO</b>			
Assente	73 (77.7)		
Presente	21 (22.3)		
NS	0 (0)		
<b>MUCINOSO</b>			
Assente	69 (73.4)		
Presente	20 (25.5)		
NS	48 (1.1)		
<b>NECROSI/ASCESSUALIZZAZIONE</b>			
Assente	77 (81.9)		
Presente	16 (17)		
NS	1 (1.1)		
<b>MARGINE DI CRESCITA</b>			
Compressivo	26 (27.7)		
Infiltrativo	20 (21.2)		
NS	48 (51.1)		

Tabella 3 Risultati analisi di popolazione tumori del colon stadio II, 94 pazienti

Abbiamo, quindi, condotto lo studio radiomico sulla fase portale della TC preoperatoria di tutti i pazienti e testato la capacità della radiomica di distinguere i tumori T3 dai T4 e di predire l'instabilità microsatellitare.

Per quanto riguarda il primo obiettivo, di tutte le 107 features analizzate, solo 6 sono risultate significativamente diverse nei gruppi di neoplasie T3 rispetto ai T4.

In particolare la Correlation ( $p= 0,0059$ ), Imc1 ( $p=0,0175$ , Imc2 ( $p= 0,0069$ ), MCC ( $p=0,0340$ ), DependenceNonUniformity ( $p=0,0066$ ) e la RunEntropy ( $p=0,0058$ ). (Fig. 10)



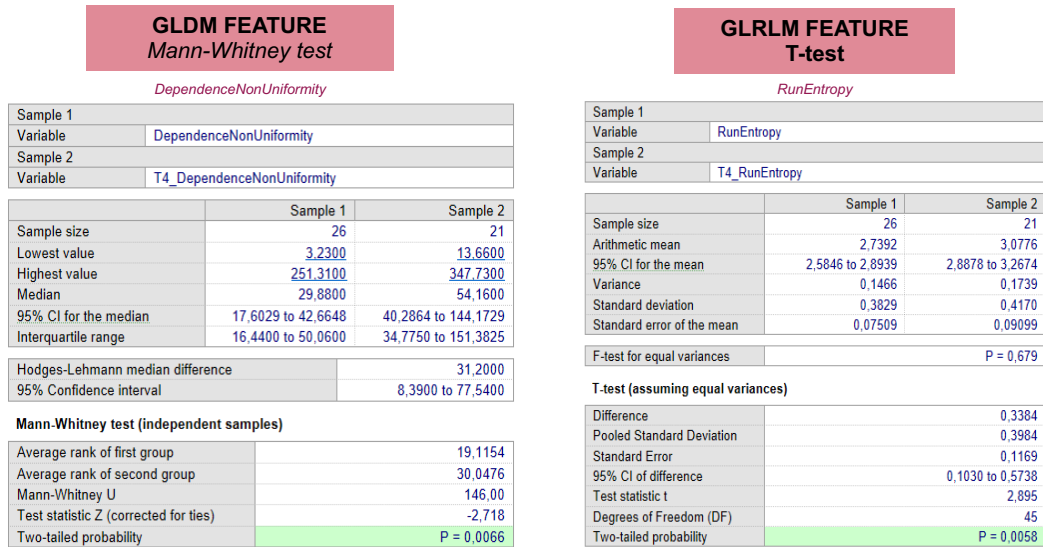


Figura 10. Analisi univariata delle caratteristiche radiomiche nell'identificare i T4.

Abbiamo quindi esaminato la forza di queste correlazioni eseguendo per gli stessi parametri le Curve ROC.

Per la feature Correlation risulta un'Area sotto la curva (AUC) di 0,735, per un valore soglia >0,16 si ottiene una sensibilità e una specificità del 76% nell'identificare i T4.

L'Imc1 invece ha una AUC di 0,701, in questo caso al valore soglia < 0.03 si ottiene una ottima sensibilità (95%) a fronte, però, di una scarsa specificità (34%). (Fig.11)

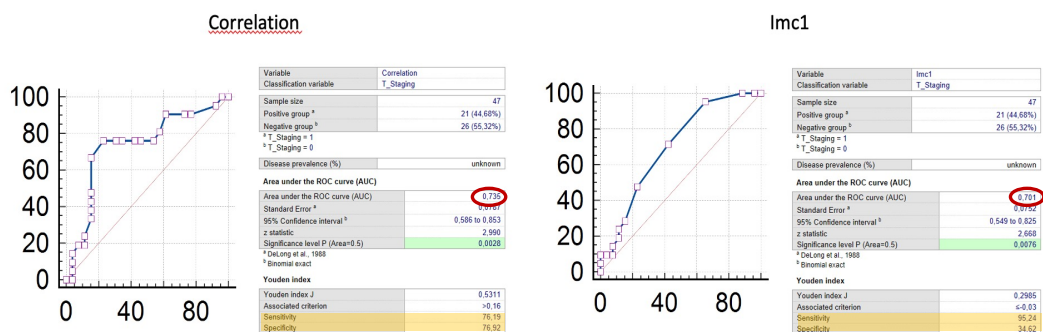


Figura 11. Curve Roc per Correlation e Imc1.

Nel caso di Imc2 la AUC è 0,731, con una sensibilità dell'80% e una specificità del 58% al valore soglia >0,23.

Per l'MCC l'AUC è 0,681, al valore soglia >0,27 si ottengono valori di sensibilità e specificità intorno al 67%. (Fig. 12)

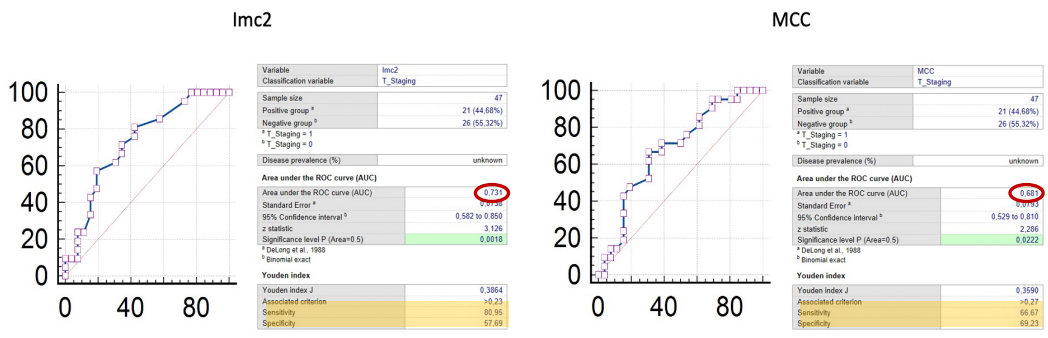


Figura 12. Curve Roc per Imc2 e MCC.

Ancora, la DependenceNonUniformity alla curva ROC ha una AUC di 0,733, con sensibilità e specificità intorno al 72% al valore soglia >42.

Infine per la RunEntropy la AUC è 0,749, si ottiene una sensibilità del 76% e specificità del 73%. (Fig.13)

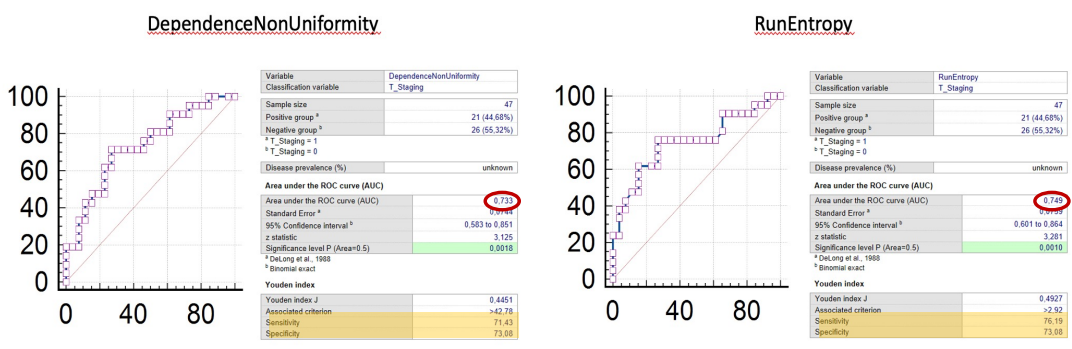


Figura 13. Curve Roc per Dependence Non Uniformity e RunEntropy.

Questi dati, seppur raccolti da un campione non molto numeroso e concentrati sull'analisi di un singolo fattore di rischio, sono comunque significativi e mostrano un ottimo potenziale dell'analisi radiomica.

Per quanto riguarda invece la correlazione con l'instabilità dei microsatelliti, abbiamo ottenuto risultati meno incoraggianti.

Tra le features estratte, l'unica che correla con valore statisticamente significativo è la ZonePercentage ( $p=0,0393$ ). (Fig.14)

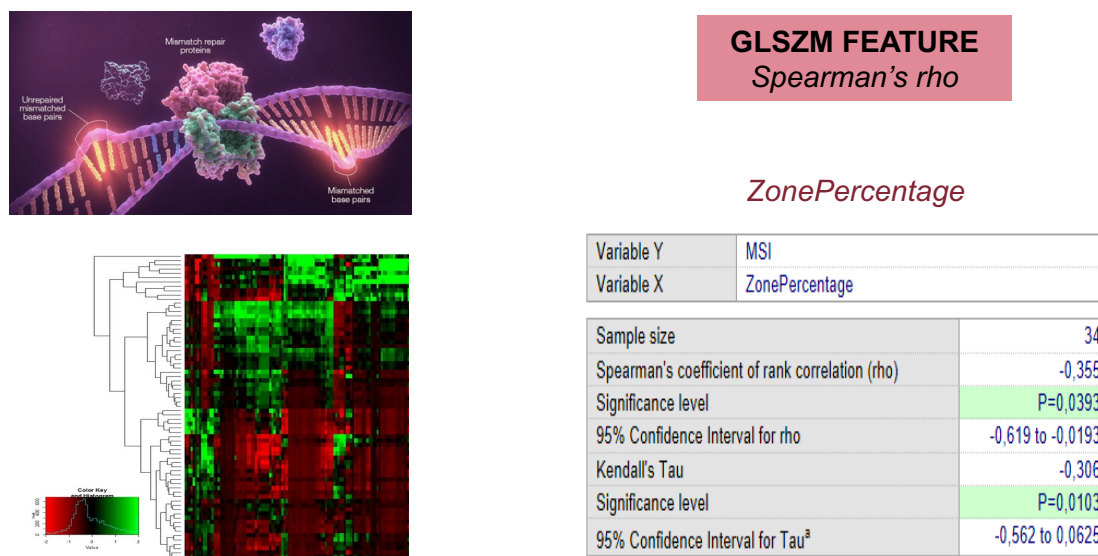


Figura 14. Analisi univariata per identificazione di instabilità microsatellitare.

Probabilmente la scarsa numerosità del campione in esame e l'esigua rappresentazione di neoplasie con instabilità dei microsatelliti hanno costituito un limite nella nostra analisi; sarà pertanto necessario approfondire l'analisi aumentando la popolazione di studio.

## II. Costruzione modello radiomico

A seguito della nostra analisi preliminare e dopo esserci confrontati con gli studi presenti in letteratura internazionale, dove non è ancora stato approfondito il ruolo della radiomica nella determinazione del rischio nei tumori del colon non metastatici, abbiamo voluto estendere l'analisi a questo

gruppo di pazienti (tumore del colon in stadio I-II-III), cercando di costruire un modello radiomico di stratificazione del rischio.

#### *Popolazione dello studio*

Abbiamo arruolato 253 pazienti con nuove diagnosi di tumore del colon non metastatico da gennaio 2015 a giugno 2020 (189 della coorte interna e 64 della coorte esterna); di questi corrispondevano ai criteri di inclusione ed esclusione, 108 pazienti della popolazione interna (età mediana 72 anni, maschi 56/108) e 40 tumori del colon non metastatici (27 uomini e 13 donne) della coorte esterna.

La coorte interna è stata suddivisa in High-risk e No-risk in base alla presenza di almeno uno dei seguenti fattori di rischio: stadiazione T4, LVI, PNI, gemmazione e metastasi linfonodali; 58 pazienti sono stati identificati come High-Risk e 50 come No-Risk.

Nella sottoanalisi del gruppo High-Risk, per quanto riguarda la stadiazione T, 1 paziente (1,7%) era T1, 3 (5,2%) erano T2, 33 (56,9%) erano T3, 17 (29,3%) erano T4a e 4 (6,9%) erano T4b. Per quanto riguarda la presenza di fattori di rischio, 36 pazienti (62%) erano LVI-positivi, 4 (6,9%) erano PNI-positivi, 34 (58,6%) erano budding-positivi e 16 (27,6%) erano N-positivi.

Nella sottoanalisi dei pazienti No-Risk, per quanto riguarda la stadiazione T, 1 paziente (2%) era T1, 8 (16%) erano T2 e 41 (82%) erano T3 (Tabella 1).

Per costituire la coorte di validazione esterna, sono stati selezionati 40 pazienti (27 maschi e 13 femmine). (Tabella 4)



High Risk (58/108)	N Patients	%	No Risk (50/108)	N Patients	%
<b>T</b>					
○ T1	1	1.7	○ T1	1	2
○ T2	3	5.2	○ T2	8	16
○ T3	33	56.9	○ T3	41/50	82
○ T4a	17	29.3	○ T4a	0/50	0
○ T4b	4	6.9	○ T4b	0/50	0
<b>LVI</b>					
○ LVI+	36/58	62	○ LVI+	0/50	-
○ LVI-	22/58	38	○ LVI-	50/50	100
<b>PNI</b>					
○ PNI+	21/58	6.9	○ PNI+	0/50	-
○ PNI-	54/58	93.1	○ PNI-	50/50	100
<b>BUDDING</b>					
○ Budding+	34/58	58.6	○ Budding+	0/50	-
○ Budding-	24/58	41.4	○ Budding-	50/50	100
<b>NODES</b>					
○ N0	42/58	72.5	○ N0	50/50	100
○ N1a	4/58	6.9	○ N1a	-	-
○ N1b	5/58	8.6	○ N1b	-	-
○ N2a	5/58	8.6	○ N2a	-	-
○ N2b	2/58	3.4	○ N2b	-	-
<b>MSI</b>					
	6/58	10.3		11/50	20
<b>TUMOR LOCATION</b>					
○ Right-sided	29/58	50	○ Right-sided	24/50	48
○ Trasverse	3/58	5.2	○ Trasverse	3/50	6
○ Left-sided	26/58	44.8	○ Left-sided	23/50	46

T: T staging; LVI: lymphovascular invasion; PNI: perineural invasion; MSI: microsatellite instability.

*Tabella 4. Dati clinici dei pazienti*

### *Selezione delle caratteristiche e analisi radiomica*

In totale, 107 caratteristiche radiomiche sono state estratte dalle segmentazioni 3D del cancro del colon nella fase portale delle scansioni TC di base.

L'analisi dell'ICC ha rivelato che solo 35 caratteristiche radiomiche (8 Shape, 5 First order, 3 GLCM, 5 GLDM, 6 GLRLM, 7 GLSZM e 1 caratteristica NGTDM) erano stabili ( $0,81 \leq \text{ICC} < 0,92$ ).

Tra le caratteristiche stabili, 28 caratteristiche (7 Shape, 3 First order, 1 GLCM, 4 GLDM, 6 GLRLM, 6 GLSZM e 1 NGTDM) erano significativamente diverse tra i pazienti ad alto rischio e quelli non a rischio ( $0,004 \leq p < 0,05$ ) (*Tabella 5*).

Radiomic Features	High Risk	No Risk	ICC	p
	Mean ± SD	Mean ± SD		
Shape_LeastAxisLength	23.34 ± 10.43	28.38 ± 12.24	0.82	0.02
Shape_Maximum2DDiameterColumn	43.20 ± 18.48	56.74 ± 23.58	0.87	0.003
Shape_Maximum2DDiameterSlice	49.30 ± 19.09	58.63 ± 22.76	0.90	0.02
Shape_MeshVolume	21,047.06 ± 26,389.25	39,659.83 ± 43,204.46	0.81	0.02
Shape_MinorAxisLength	31.52 ± 11.29	38.45 ± 13.76	0.91	0.004
Shape_SurfaceArea	6507.93 ± 4960.29	10,070.17 ± 7988.04	0.87	0.02
Shape_SurfaceVolumeRatio	0.46 ± 0.19	0.38 ± 0.16	0.85	0.02
Shape_Maximum3DDiameter	56.72 ± 22.63	65.57 ± 24.46	0.89	0.07
First Order_VoxelVolume	21,532.50 ± 26,508.12	40,253.22 ± 43,386.76	0.91	0.009
First Order_Energy	5,272,857.19 ± 6,465,846.03	9,614,816.02 ± 10,922,495.83	0.90	0.03
First Order_TotalEnergy	142,367,144.12 ± 174,577,842.8	259,600,032.54 ± 294,907,387.3	0.86	0.03
First Order_Maximum	149.91 ± 30.88	147.02 ± 27.59	0.82	0.61
First Order_Mean	74.72 ± 15.85	72.08 ± 18.64	0.88	0.81
GLCM_Idmn	0.98 ± 0.01	0.98 ± 0.01	0.89	0.03
GLCM_lcm2	0.29 ± 0.10	0.26 ± 0.09	0.85	0.08
GLCM_SumAverage	9.55 ± 6.30	11.28 ± 7.01	0.85	0.16
GLDM_DependenceNonUniformity	39.95 ± 42.32	70.22 ± 72.70	0.87	0.02
GLDM_GrayLevelNonUniformity	439.23 ± 537.16	877.22 ± 985.89	0.86	0.01
GLDM_LargeDependenceEmphasis	152.75 ± 71.20	185.66 ± 83.91	0.88	0.02
GLDM_SmallDependenceEmphasis	0.06 ± 0.03	0.05 ± 0.02	0.90	0.03
GLDM_SmallDependenceLowGrayLevelEmphasis	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.89	0.06
GLRLM_GrayLevelNonUniformity	199.18 ± 202.85	342.55 ± 321.67	0.88	0.02
GLRLM_LongRunEmphasis	4.34 ± 2.62	5.61 ± 3.63	0.85	0.03
GLRLM_RunLengthNonUniformityNormalized	0.47 ± 0.09	0.43 ± 0.10	0.81	0.02
GLRLM_RunPercentage	0.62 ± 0.09	0.58 ± 0.11	0.82	0.04
GLRLM_RunVariance	1.37 ± 1.10	2.04 ± 1.92	0.87	0.04
GLRLM_ShortRunEmphasis	0.70 ± 0.07	0.67 ± 0.08	0.87	0.03
GLSZM_LargeAreaEmphasis	12,801.55 ± 22,785.03	32,877.79 ± 45,848.79	0.90	0.006
GLSZM_LargeAreaHighGrayLevelEmphasis	609,276.79 ± 17,04,878.107	1,908,734.67 ± 4,536,097.03	0.90	0.01
GLSZM_LargeAreaLowGrayLevelEmphasis	693.99 ± 1,234.32	1714.36 ± 3566.59	0.82	0.03
GLSZM_SmallAreaEmphasis	0.58 ± 0.17	0.64 ± 0.11	0.87	0.04
GLSZM_ZonePercentage	0.07 ± 0.04	0.05 ± 0.04	0.89	0.01
GLSZM_ZoneVariance	12,224.58 ± 22,231.55	31,666.31 ± 44,755.72	0.91	0.008
GLSZM_SmallAreaHighGrayLevelEmphasis	16.35 ± 29.18	23.66 ± 31.59	0.90	0.06
NGTDM_Coarseness	0.04 ± 0.06	0.02 ± 0.04	0.88	0.01

SD: Standard deviation; ICC: inter-class correlation; P: p value; GLCM: Gray Level co-occurrence matrix; GLDM: Gray Level Dependence Matrix; GLRLM: Gray Level Run Length Matrix; GLSZM: Grey Level Size Zone Matrix; NGTDM: Neighboring Gray Tone Difference Matrix

Tabella 5. Caratteristiche radiologiche stabili nel confronto tra pazienti ad alto rischio e non.

### *Analisi univariate e multivariate*

Tutte le caratteristiche radiomiche stabili significative sono state testate utilizzando l'analisi di regressione logistica univariata per valutare la correlazione con i tumori del colon ad alto rischio (High-Risk). L'analisi univariata ha mostrato che nove caratteristiche radiomiche (una di primo ordine, una di GLCM, cinque di GLRLM e due di GLSZM) erano significativamente associate al cancro ad alto rischio, con valori di p compresi tra 0,01 e 0,05 e OR 1.

Tra queste caratteristiche, una di Shape (SurfaceVolumeRatio), tre di GLRLM (SurfaceVolumeRatio) e tre di GLSZM (GLRLM) erano associate al cancro ad alto rischio.

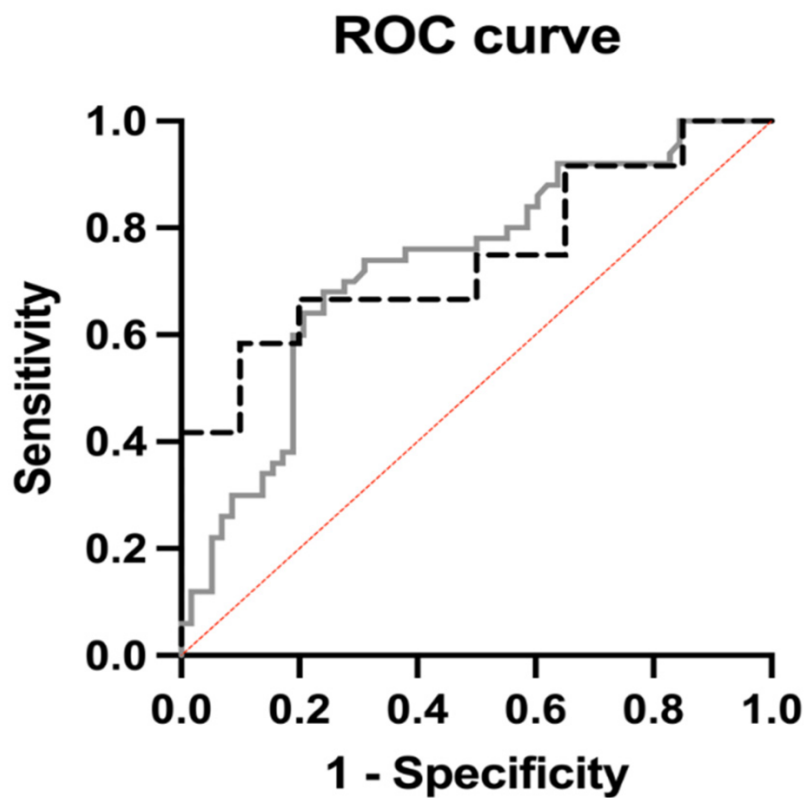
Ancora, una caratteristica di Shape (SurfaceVolumeRatio), tre di GLRLM (RunLengthNonUniformityNormalized, RunPercentage e ShortRunEmphasis) e una di GLSZM (ZonePercentage) sono risultate predittrici di tumori High-Risk, con valori di p che variavano da 0,01 a 0,05 e OR compresi tra 13,6 e  $157 \times 10^{-4}$ . Mentre, una di GLCM (Idmn), due di GLRLM (LongRunEmphasis e RunVariance) e una di GLSZM (SmallAreaEmphasis) hanno mostrato una correlazione inversa con i tumori ad alto rischio, con un valore di p compreso tra 0,01 e 0,02 e OR compreso tra 0,84 e  $4,2004 \times 10^{-17}$ .

Le caratteristiche radiologiche stabili rimanenti non hanno mostrato alcuna correlazione significativa con il cancro ad alto rischio o risultavano avere valori indifferenti di OR.

L'analisi multivariata è stata condotta per costruire il modello radiomico includendo le caratteristiche radiomiche con una correlazione significativa con il cancro ad alto rischio.

Il modello radiomico ha mostrato buone prestazioni, con un'AUC di 0,73 (95% CI, 0,63-0,82;  $p < 0,001$ ), un potere predittivo positivo del 71,43% e un potere predittivo negativo del 69,7%.

I risultati sono stati validati attraverso la coorte esterna, in cui il modello radiomico ha prodotto un'AUC di 0,75 (95% CI, 0,55-0,94;  $p = 0,02$ ), con un potere predittivo positivo del 70% e negativo del 77,3% (Figura 14 e Tabella 6).



*Figura 14. Prestazioni del modello radiomico per identificare il cancro del colon ad alto rischio nelle coorti interne (linea nera tratteggiata) ed esterne (linea grigia continua), raggiungendo un'AUC di 0,73 e 0,75, rispettivamente.*

Radiomic Variable	Internal Cohort Radiomic Model		External Cohort	
	OR (95% CI)	Coefficient	OR (95% CI)	Coefficient
Shape_SurfaceVolumeRatio	0.79 ( $7.82 \times 10^{-22}$ to $5.42 \times 10^{30}$ )	-0.24	227.1 ( $6.65 \times 10^{-5}$ to 1,771,984,111)	5.42
GLCM_Idmn	3,647,282,668 ( $2.973 \times 10^{-10}$ to $1.16 \times 10^{+30}$ )	22.02	$1.21 \times 10^{+20}$ ( $2.07 \times 10^{-28}$ to $1.05 \times 10^{+74}$ )	46.25
GLRLM_LongRunEmphasis	0.02 (0.0003 to 1.42)	-3.63	58.36 (0.0004 to 183,464,701)	4.067
GLRLM_RunLengthNonUniformityNormalized	$5.99 \times 10^{+14}$ ( $3.38 \times 10^{-15}$ to $1.37 \times 10^{+44}$ )	34.03	$8.20 \times 10^{+38}$ ( $9.29 \times 10^{-60}$ to $5.55 \times 10^{+145}$ )	89.60
GLRLM_RunPercentage	$4.7 \times 10^{+18}$ (0.005 to $1.66 \times 10^{+42}$ )	42.99	$1.54 \times 10^{-54}$ ( $1.33 \times 10^{-131}$ to 126,781)	-123.9
GLRLM_RunVariance	1537 (1.24 to 4,121,443)	7.34	$1.89 \times 10^{-5}$ ( $1 \times 10^{-17}$ to 36,401)	-10.87
GLRLM_ShortRunEmphasis	$3.54 \times 10^{-45}$ ( $2.35 \times 10^{-88}$ to 0.0006)	102.4	735,727,550 ( $1.49 \times 10^{-77}$ to $1.94 \times 10^{+100}$ )	20.42
GLSZM_SmallAreaEmphasis	38.22 (0.49 to 3684)	3.64	0.89 ( $9.58 \times 10^{-6}$ to 64,647)	-0.11
GLSZM_ZonePercentage	$6.87 \times 10^{-8}$ ( $6.04 \times 10^{-19}$ to 1659)	-16.49	42,583,803 ( $1.39 \times 10^{-22}$ to $1.75 \times 10^{+40}$ )	17.57
p value	<0.0001		0.02	
AUC	0.73		0.75	
Positive Predictive Power	71.4%		70%	
Negative Predictive Power	69.7%		77.3%	

OR: Odds ratio; AUC: Area under curve; GLCM: Gray Level Co-occurrence Matrix; GLRM: Gray Level Run Length Matrix; GLSZM: Grey Level Size Zone Matrix.

**Tabella 6. Regressione logistica multivariata per testare le prestazioni del modello radiomico nel predire il cancro del colon ad alto rischio nelle coorti interne ed esterne.**

### III. Analisi di sopravvivenza

Il modello radiomico da noi creato è uno strumento di stratificazione del rischio, ma non fornisce dati sulla predizione della prognosi in termini di sopravvivenza.

Al momento abbiamo condotto solo uno studio preliminare sulla sopravvivenza, concentrandoci sul subset di pazienti con tumore del colon in stadio II tra quelli arruolati nello studio per costruire il modello radiomico.

Abbiamo così ottenuto una popolazione di 82 pazienti con tumore del colon in stadio II, di cui abbiamo raccolto i dati di follow up.

L'OS media è stata di 54 mesi (range tra 0 e 112) e la DFS media di 50 mesi (range tra 0 e 97 mesi).

Abbiamo quindi tentato di correlare le features radiomiche estratte dalle TC preoperatorie dei pazienti con l'OS.

Delle 107 features analizzate solo 2 mostravano una correlazione statisticamente significativa con l'overall survival dopo analisi univariata: la GLCM\_Idmn (con  $p=0.025$  e OR 3.6) e la GLDM\_SumSquares ( $p=0.022$  e OR 0.1).

Su questi parametri abbiamo costruito delle curve di sopravvivenza con Analisi di Kaplan Meyer impostando l'OS come survival time e la mortalità come endpoint.

Le curve ottenute in entrambi i casi, però, non hanno raggiunto valori di significatività statistica. (*Fig 15*)

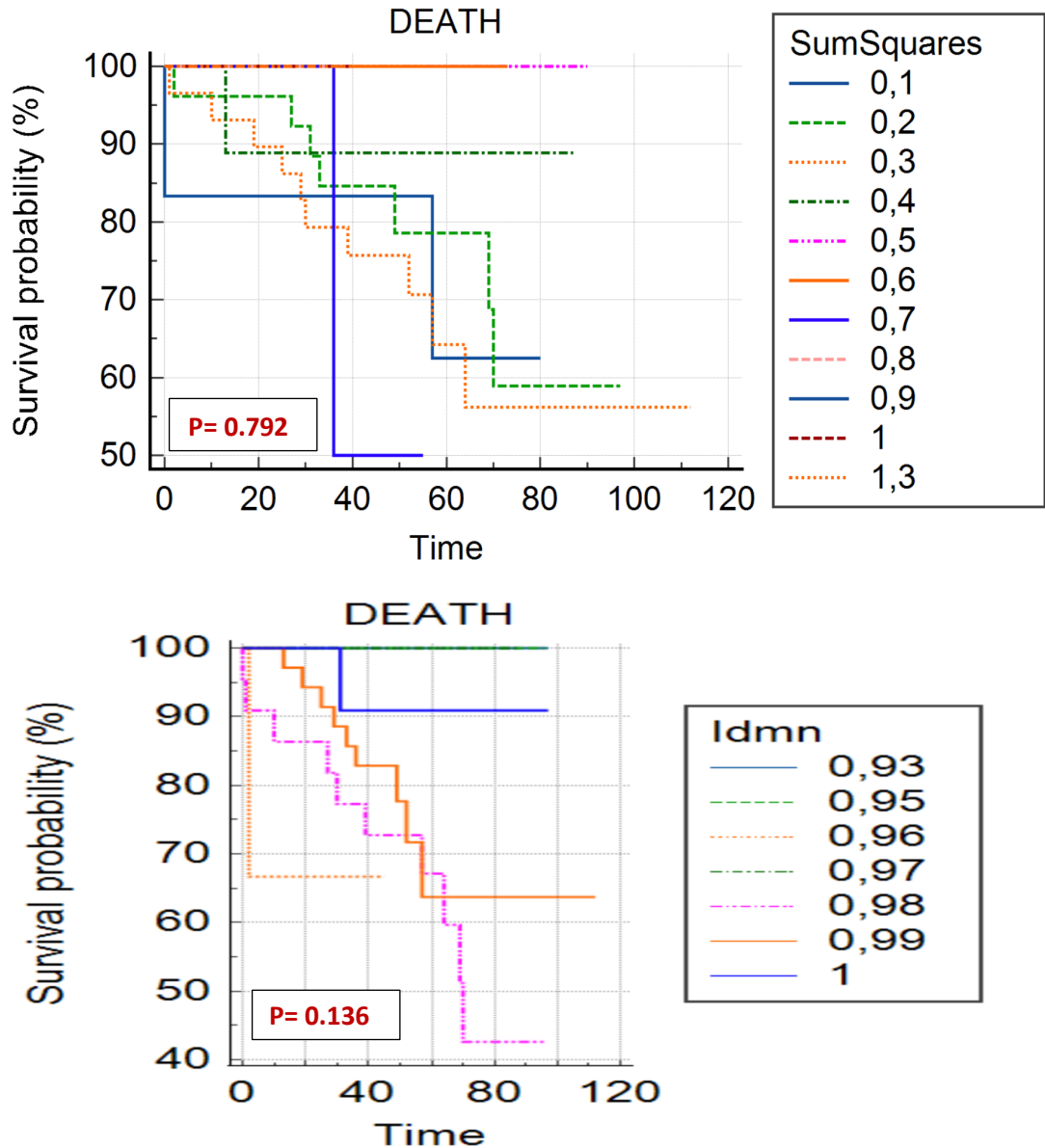


Figura 15. Curve di sopravvivenza Kaplan Meyer

Anche in questo caso è probabile che il campione da noi utilizzato sia troppo esiguo e che la valutazione del potere predittivo della radiomica, in termini di sopravvivenza debba essere ulteriormente approfondito, ampliando la popolazione o ancora inserendo nell'analisi dati clinici oltre che radiomici, in un modello clinico-radiomico, che è stato dimostrato in letteratura essere molto efficace.



## 4.1. Discussione

Nel nostro studio abbiamo inizialmente indagato e dimostrato le buone capacità dell'analisi radiomica nel distinguere, dalle tc staditive preoperatorie dei pazienti con neoplasia del colon in Stadio II, i tumori T3 dai T4; distinzione che risulta fondamentale nella stratificazione del rischio dei pazienti, per selezionare i gruppi a maggior rischio che possano beneficiare maggiormente di protocolli di terapia personalizzati.

Abbiamo, dunque, sviluppato un modello radiomico per predire le caratteristiche di malattia ad alto rischio dei tumori del colon non metastatici. Tutti i pazienti sono stati trattati con resezione chirurgica e abbiamo utilizzato i dati clinicopatologici per dividere la popolazione di partenza in pazienti ad alto rischio e senza rischio in base alla presenza di almeno un fattore di rischio clinico (la stadiazione T4, LVI, PNI, tumor budding e metastasi linfonodali) [41, 42]. Abbiamo, quindi, confrontato le caratteristiche radiomiche stabili tra pazienti ad alto rischio e non, e le caratteristiche radiomiche significative sono state utilizzate per costruire un modello predittivo radiomico.

Il modello ha ottenuto buone prestazioni nel predire la malattia ad alto rischio con un'AUC di 0,73, evidenziando il ruolo promettente della radiomica nella stratificazione del rischio dei pazienti. Il modello è stato, poi, validato attraverso una coorte esterna, in cui l'AUC si è confermata buona, con un valore di 0,75.

Negli ultimi anni, la radiomica si è affermata come nuovo strumento di imaging, capace di delineare la microarchitettura e l'eterogeneità dei tessuti attraverso un grande volume di dati numerici estratti dalle immagini mediche [42]. Questi dati ad alta dimensionalità potrebbero fornire informazioni importanti riguardo l'aggressività del tumore e questo costituisce una grande opportunità di superare i limiti dell'imaging convenzionale, passando da un'analisi soggettiva e qualitativa ad una oggettiva e quantitativa [43, 44].

Per quanto riguarda il tumore del colon, l'imaging convenzionale presenta limiti importanti nell'identificazione dei principali fattori clinici ad alto rischio, come le metastasi linfonodali, il LVI e il PNI. Tra questi, in particolare la capacità dell'imaging convenzionale di identificare il coinvolgimento linfonodale è stata frequentemente oggetto di studio, ma in quasi tutte le valutazioni lo studio radiologico non si è dimostrato efficiente [45].

Inoltre, è dimostrato come la stadiazione radiologica preoperatoria sia attualmente associata ad una percentuale tra il 24 e il 33% dei casi di pazienti sovrastadiati (per esempio stadio I o stadio II a basso rischio) ; risulta quindi indispensabile individuare nuovi criteri radiologici per distinguere i pazienti in stadio II ad alto rischio e gli stadi III, che dovranno essere sottoposti a chemioterapia adiuvante [46]

In questo contesto, la radiomica si propone come nuovo strumento per stratificare i pazienti affetti da cancro del colon, fornendo dati quantitativi aggiuntivi, con l'obiettivo di delineare il fenotipo tumorale e prevedere la prognosi del paziente prima di iniziare il percorso terapeutico.

Recentemente, il gruppo di Yao X. [48] ha dimostrato l'efficacia di utilizzare un approccio radiomico per prevedere la sopravvivenza libera da malattia nei pazienti affetti da cancro del colon. Nel loro studio è stato anche confrontato il valore predittivo del sistema di stadiazione TNM, quello del modello clinico e quello della radiomica. La radiomica si è dimostrata più efficace del TNM e del modello clinico nel predire la prognosi del paziente.

Risultati simili sono stati riportati da Dai W. et al. [48] che hanno testato la radiomica come biomarcatore di imaging per identificare i pazienti con prognosi sfavorevole, in termini di sopravvivenza globale e di sopravvivenza libera da malattia analizzando le scansioni TC preoperatorie. Gli autori hanno ottenuto buone prestazioni per entrambi gli endpoint, raggiungendo AUC di 0,77 e 0,74 nel predire la overall survival e la Disease Free Survival, rispettivamente.

Questi studi hanno contribuito all' affermazione delle enormi potenzialità dell'analisi radiomica, come biomarcatore di imaging nel cancro del colon non metastatico.

Attualmente, per tutti i tumori del colon in stadio III e II con caratteristiche cliniche ad alto rischio si raccomanda il trattamento con chemioterapia adiuvante. Tuttavia, i benefici della chemioterapia adiuvante nello stadio II con caratteristiche cliniche ad alto rischio sono discussi, soprattutto a causa dei risultati contrastanti di alcuni studi clinici [49, 50].

La decisione di effettuare chemioterapia adiuvante nel cancro del colon ad alto rischio in stadio II è ancora arbitraria e spesso guidata dalla valutazione soggettiva degli oncologi.

Un ulteriore campo di utilizzo del modello radiomico da noi proposto può essere nella stratificazione del rischio dei pazienti con malattia localmente avanzata che possono beneficiare di una chemioterapia neoadiuvante.

Nel 2019 sono stati presentati primi risultati dello studio FOx-TROT , [21], sugli effetti della chemioterapia neoadiuvante versus chirurgia + chemioterapia adiuvante, nei tumori del colon T3-T4, N0-N2, M0. I dati in merito al miglioramento della DFS non sono risultati significativi, ma si è notato un ottimo effetto sul downsizing e downstaging tumorale, con conseguente aumento delle resezioni chirurgiche curative (R0) e senza aumento della morbidità postoperatoria. Nello stesso studio è emerso che i pazienti con neoplasia pT4 sono quelli che possono trarre maggiore beneficio dalla somministrazione di protocolli neoadiuvanti di terapia.

Negli anni si sono moltiplicati gli studi in merito e una recente metanalisi condotta da Cheong et al. Ha messo in luce i benefici dell'applicazione del trattamento neoadiuvante, con un aumento sia nella OS che nella DFS. [22]

Anche in questo contesto, risulta cruciale una corretta stratificazione preoperatoria del rischio, infatti uno dei limiti dell'applicazione di protocolli di neoadiuvante è il fatto che la stadiazione radiologica pretrattamento spesso

sovrastima lo stadio patologico, ottenendo così un overtreatment di alcuni pazienti, che potrebbero invece andare incontro a complicanze legate alla chemioterapia.

Rispetto ai tumori della mammella e del polmone, nei quali si sono raggiunti miglioramenti nella prognosi a lungo termine grazie all'identificazione di pathway molecolari o farmaci target, nel trattamento del tumore del colon si è rimasti indietro nel campo dell'oncologia di precisione; l'utilizzo di approcci terapeutici neoadiuvanti combinato con strategie basate su biomarkers selezionati può dare un'enorme spinta in avanti nel trattamento secondo i criteri di medicina di precisione.

In questo contesto, l'imaging quantitativo potrebbe essere centrale nella gestione del cancro del colon, fornendo ai medici un biomcatore di imaging non invasivo per scegliere ed individualizzare la terapia, soprattutto nei casi dubbi.

Il numero di decisioni arbitrarie dovrebbe essere ridotto ed è necessario potersi avvalere di schemi decisionali strutturati per garantire un programma terapeutico su misura per ogni paziente.

Bisogna specificare che nel nostro studio abbiamo deciso di stratificare i pazienti in gruppi High-Risk e No-Risk sulla base dei soli dati istopatologici.

In letteratura sono riportati risultati controversi riguardo le capacità di identificare preoperatoriamente i tumori del colon in stadio III utilizzando un modello clinico-radiomico, che integri dati clinici alla pura analisi radiomica.

Da un lato, uno studio recente ha affermato che il nomogramma clinico-radiomico fosse superiore alla sola radiomica nella previsione preoperatoria delle metastasi linfonodali [48]. Al contrario, in un altro lavoro è stato riportato che lo studio radiomico ha ottenuto migliori prestazioni rispetto al modello combinato nella stadiazione N [52].

In considerazione di questi risultati, abbiamo voluto evitare qualsiasi risultato confondente relativo ai dati clinici, anche considerando che il nostro obiettivo

principale di indagine era quello di esaminare l'approccio radiomico come strumento di supporto per i medici, senza alcuna possibilità di sostituire l'approccio clinico.

Dobbiamo sottolineare inoltre, che, nella stratificazione dei pazienti del nostro studio non abbiamo incluso diversi nuovi biomarcatori relativi al pannello mutazionale, come, BRAF, KRAS e instabilità dei microsatelliti [52, 53].

Riguardo l'instabilità microsatellitare, la scelta di non utilizzarli nella costruzione del nostro modello prognostico, sebbene avessimo a disposizione i dati relativi all'espressione di questi geni dei nostri pazienti (mutazione MMR nel 10,3% dei pazienti del gruppo High-Risk e il 20% i quelli No-Risk), è dovuta al ruolo prognostico controverso che ha negli studi di letteratura. Infatti lo stato MSI è dimostrato essere un importante fattore predittivo, ma la mutazione di questi geni sembra conferire un beneficio prognostico con un rischio ridotto di malattia metastatica nel cancro del colon in stadio I e II, anche ad alto rischio [54], mentre nei tumori del colon in stadio III e IV, l'MSI è un fattore prognostico negativo in quanto indice di una minore responsività alla chemioterapia convenzionale, questi pazienti infatti necessitano di trattamento con farmaci mirati come il Pembrolizumab [55].

Riguardo il rimanente assetto mutazionale dei tumori, alcuni marcatori non sono stati ricercati di routine negli esami istologici, soprattutto in quelli meno recenti; pertanto, anche in considerazione della natura retrospettiva dello studio non avevamo a disposizione ulteriori dati di paneling genetico al momento dell'analisi.

Al momento abbiamo concentrato i nostri sforzi nella valutazione delle sole prestazioni del modello radiomico proposto. Infatti, nonostante l'elevato potenziale dell'analisi radiomica in ambito clinico pre-operatorio, la nostra preliminare analisi sulla capacità di stimare l'outcome dei pazienti non ha ottenuto dati statisticamente significativi; è probabile che il campione

analizzato fosse troppo esiguo e sarà necessario ampliare la popolazione in esame per ottenere dei risultati soddisfacenti.

In conclusione la radiomica potrebbe essere vista come uno strumento quantitativo per guidare i medici e limitare l'eccesso o il difetto di trattamento di pazienti che possono o meno beneficiare della chemioterapia. La radiomica potrebbe anche essere utilizzata come biomarcatore di imaging oggettivo per monitorare i pazienti oncologici durante il follow-up, anche quantificando i cambiamenti ultrastrutturali, soprattutto in caso di malattia metastatica [56].

Bisogna, però, tenere a mente i limiti di questa disciplina, come la scarsa standardizzazione, la bassa riproducibilità dei risultati e i diversi parametri di acquisizione tra i vari centri [6]. Infatti, tra i vari centri di ricerca sui tumori, vi è una disparità riguardo a diversi fattori inerenti le modalità di acquisizione della TC, come le fasi della TC con contrasto, le ricostruzioni iterative e il volume totale del mezzo di contrasto, che potrebbero influenzare l'affidabilità della radiomica [57].

Anche il nostro studio presenta diverse limitazioni: in primo luogo, la sua natura retrospettiva; in secondo luogo, i piccoli campioni di coorti interne ed esterne; in terzo luogo, gli scarsi risultati sugli outcome clinici dei pazienti ottenuti dopo una parziale analisi di sopravvivenza (solo nel gruppo stadio II).

In futuro, queste limitazioni potrebbero essere superate eseguendo una seconda fase di analisi basata su un ampio arruolamento prospettico, in cui saranno raccolti molti dati clinici e di sopravvivenza (ad esempio, il pannello genetico completo e la decisione di trattamento), nonché seguendo i pazienti selezionati in questa prima fase retrospettiva.

Un'ulteriore opportunità potrebbe essere quella di correlare anche i dati clinici, costruendo un modello clinico-radiomico, che potrebbe aiutare a superare i limiti del solo studio radiomico.

## 4.2. Conclusioni

In conclusione, possiamo affermare che il modello radiomico potrebbe svolgere un ruolo fondamentale nel futuro workup del cancro del colon, concentrandosi sulla stratificazione del rischio del paziente in un contesto clinico preoperatorio. Questo approccio potrebbe servire come strumento di supporto per i medici, con l'aspettativa di entrare nel percorso diagnostico-terapeutico, consentendo di ottenere una strategia terapeutica personalizzata.

## Bibliografia

1. Sung, H.; Ferlay, J.; Siegel, R.L.; Laversanne, M.; Soerjomataram, I.; Jemal, A.; Bray, F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J. Clin.* 2021, 71, 209–249
2. I numeri del cancro 2021 AIOM-Registri Tumori Italiani-SIAPEC-PASSI-PASSI D'ARGENTO-ONS-Fondazione AIOM
3. Siegel R. L., Miller K. D., Goding Sauer A., Fedewa S. A., Butterly L. F., Anderson J. C., Cercek A, Smith R. A., Jemal A. (2020) Colorectal cancer statistics, 2020. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 70:145-164. doi: 10.3322/caac.21601
4. Céline J, Ohlsson C, Bygdell M, Nethander M, Kindblom JM. Childhood Body Mass Index Is Associated with Risk of Adult Colon Cancer in Men: An Association Modulated by Pubertal Change in Body Mass Index. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2019 May;28(5):974-979.
5. Pedersen JK, Rosholm JU, Ewertz M, Engholm G, Lindahl-Jacobsen R, Christensen K. Declining cancer incidence at the oldest ages: Hallmark of aging or lower diagnostic activity? *J Geriatr Oncol.* 2019 Sep;10(5):792-798.
6. Aiom-Airtum. I Numeri del Cancro in Italia. Edizione 2018. Disponibile online: [https://www.aiom.it/wp-content/uploads/2018/10/2018\\_NumeriCancro-operatori](https://www.aiom.it/wp-content/uploads/2018/10/2018_NumeriCancro-operatori).
7. Rawla P., Sunkara T., Barsouk A. (2019). Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Przegląd Gastroenterologiczny*, 2019;14:89-103. doi:10.5114/pg.2018.81072
8. Marley AR, Nan H. Epidemiology of colorectal cancer. *International journal of molecular epidemiology and genetics.* 2016.
9. Beaugerie L, Itzkowitz SH. Cancers complicating inflammatory bowel disease. *The New England journal of medicine.* 2015.



10. Tsilidis KK, Kasimis JC, Lopez DS, Ntzani EE, Ioannidis JP. Type 2 diabetes and cancer: umbrella review of meta-analyses of observational studies. *BMJ : British medical journal*. 2015
11. Morson B. The Polyp-cancer Sequence in the Large Bowel. *Proceedings of the Royal Society of Medicine*. 1974.
12. Ponz de Leon M, Percesepe A. Pathogenesis of colorectal cancer. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2000.
13. Kim B. H., Kim J. M., Kang G. H., Chang H. J., Kang D. W., Kim J. H., Bae J. M., Seo A. N., Park H. S., Kang Y. K., Lee K. H., Cho M. Y., Do I. G., Lee H. S., Chang H. K., Park D. Y., Kang H. J., Sohn J. H., Chang M. S., Jung E. S., Jin S. Y., Yu E., Han H. S., Kim Y. W.; The Gastrointestinal Pathology Study Group of the Korean Society of Pathologists (2020). Standardized pathology report for colorectal cancer, 2nd Edition. *Journal of Pathology and Translational Medicine*, 54:1-19. doi: 10.4132/jptm.2019.09.28.
14. American Joint Committee on Cancer. AJCC. Cancer Staging. [Online] 2017. <https://cancerstaging.org/>.
15. Saran Lotfollahzadeh; Alejandro Recio-Boiles; Burt Cagir. Colon Cancer, Last Update: December 3, 2022.
16. De Rosa M., Pace U., Rega D., Costabile V., Duraturo F., Izzo P., Delrio P. (2015). Genetics, diagnosis and management of colorectal cancer (Review). *Oncology Reports*, 34:1087-1096. doi: 10.3892/or.2015.4108.
17. Cunningham D., Atkin W., Lenz H. J., Lynch H. T., Minsky B., Nordlinger B., Starling N. (2010). Colorectal cancer. *The Lancet*, 375:1030-1047. doi: 10.1016/S0140- 6736(10)60353-4.
18. Linee guida tumori del colon AIOM edizione 2021
19. Quasar Collaborative Group<sup>1</sup>; Richard Gray, Jennifer Barnwell, Christopher McConkey, Robert K Hills, Norman S Williams, David J Kerr, Adjuvant chemotherapy versus observation in patients with colorectal cancer: a

- randomised study, Randomized Controlled Trial, *Lancet*, 2007 Dec 15;370(9604):2020-9. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61866-2.
20. Lindsay A Renfro , Daniel J Sargent , Findings from the Adjuvant Colon Cancer End Points (ACCENT) Collaborative Group: the power of pooled individual patient data from multiple clinical trials, *Clin Oncol*, 2016 Dec;5(6):80. doi: 10.21037/cco.2016.12.02.
  21. Morton D, Seymour M, Magill L, et al: Preoperative chemotherapy for operable colon cancer: Mature results of an international randomized controlled trial. *J Clin Oncol* 10.1200/JCO.22.00046
  22. Chin Kai Cheong<sup>1</sup>, Kameswara Rishi Yeshayahu Nistala<sup>1</sup>, Cheng Han Ng<sup>1</sup>, Nicholas Syn<sup>1</sup>, Heidi Sian Ying Chang<sup>2</sup>, Raghav Sundar<sup>1,3,4</sup>, Soon Yu Yang<sup>5</sup>, Choon Seng Chong<sup>1,2</sup> Neoadjuvant therapy in locally advanced colon cancer: a meta- analysis and systematic review, *Gastrointest Oncol* 2020
  23. illies, R.J., P.E. Kinahan, and H. Hricak, Radiomics: Images Are More than Pictures, They Are Data. *Radiology*, 2016. 278(2): p. 563-77.
  24. Liu Z, W.S., Dong D, Wei J, Fang C, Zhou X, Sun K, Li L, Li B, Wang M, Tian J. The Applications of Radiomics in Precision Diagnosis and Treatment of Oncology: Opportunities and Challenges. *Theranostics* 2019, 2020. 9(5), 1303-1322 DOI: 10.7150/thno.30309.
  25. Micheel, C.M., et al., COMMITTEE ON THE REVIEW OF OMICS-BASED TESTS FOR PREDICTING PATIENT OUTCOMES IN CLINICAL TRIALS. 2012.
  26. Rizzo, S., et al., Radiomics: the facts and the challenges of image analysis, in *Eur Radiol Exp*. 2018.
  27. Staradub, V.L., et al., Changes in breast cancer therapy because of pathology second opinions. *Ann Surg Oncol*, 2002. 9(10): p. 982-7.

28. Andersen, I.R., et al., Texture in the monitoring of regorafenib therapy in patients with colorectal liver metastases. *Acta Radiol*, 2019. 60(9): p. 1084-1093.
29. Phillips, I., et al., Clinical applications of textural analysis in non-small cell lung cancer. *Br J Radiol*, 2018. 91(1081): p. 20170267.
30. Brenet Defour, L., et al., Hepatocellular carcinoma: CT texture analysis as a predictor of survival after surgical resection. *Eur Radiol*, 2019. 29(3): p. 1231-1239.
31. Lubner, M.G., et al., CT Texture Analysis: Definitions, Applications, Biologic Correlates, and Challenges. *Radiographics*, 2017. 37(5): p. 1483-1503.
32. Prezzi, D., et al., Adaptive statistical iterative reconstruction (ASIR) affects CT radiomics quantification in primary colorectal cancer. *Eur Radiol*, 2019. 29(10): p. 5227-5235.
33. Yang, F., et al., Impact of contouring variability on oncological PET radiomics features in the lung. *Sci Rep*, 2020. 10(1): p. 369.
34. Park, B.W., et al., Reliability of CT radiomic features reflecting tumour heterogeneity according to image quality and image processing parameters, in *Sci Rep*. 2020.
35. Soomro, M.H., et al., Automated Segmentation of Colorectal Tumor in 3D MRI Using 3D Multiscale Densely Connected Convolutional Neural Network. *J Healthc Eng*, 2019. 2019: p. 1075434.
36. I deSouza, N.M., et al., Validated imaging biomarkers as decision-making tools in clinical trials and routine practice: current status and recommendations from the EIBALL\* subcommittee of the European Society of Radiology (ESR). *Insights Imaging*, 2019. 10(1): p. 87.
37. Miles, K.A., B. Ganeshan, and M.P. Hayball, CT texture analysis using the filtration-histogram method: what do the measurements mean? *Cancer Imaging*, 2013. 13(3): p. 400-6.

38. Haralick R.M, S.K., Dinstein I. Textural Features for Image Classification - IEEE Xplore Document. of Publication: 12 November 2007; Available from:
39. M.Galloway, M., Texture analysis using gray level run lengths. *Computer Graphics and Image Processing*, June 1975,. Volume 4(Issue 2): p. 172-179.
40. Babcock, B.D.; Aljehani, M.A.; Jabo, B.; Choi, A.H.; Morgan, J.W.; Selleck, M.J.; Luca, F.; Raskin, E.; Reeves, M.E.; Garberoglio, C.A.; et al. High-Risk Stage II Colon Cancer: Not All Risks Are Created Equal. *Ann. Surg. Oncol.* 2018, 25, 1980–1985.
41. Skancke, M.; Arnott, S.M.; Amdur, R.L.; Siegel, R.S.; Obias, V.J.; Umapathi, B.A. Lymphovascular Invasion and Perineural Invasion Negatively Impact Overall Survival for Stage II Adenocarcinoma of the Colon. *Dis. Colon Rectum* 2019, 62, 181–188
42. Caruso, D.; Polici, M.; Zerunian, M.; Pucciarelli, F.; Guido, G.; Polidori, T.; Landolfi, F.; Nicolai, M.; Lucertini, E.; Tarallo, M.; et al. Radiomics in Oncology, Part 1: Technical Principles and Gastrointestinal Application in CT and MRI. *Cancers* 2021, 13, 2522.
43. Bodalal, Z.; Trebeschi, S.; Nguyen-Kim, T.D.L.; Schats, W.; Beets-Tan, R. Radiogenomics: Bridging imaging and genomics. *Abdom. Radiol.* 2019, 44, 1960–1984.
44. Filitto, G.; Coppola, F.; Curti, N.; Giampieri, E.; Dall’Olio, D.; Merlotti, A.; Cattabriga, A.; Coccozza, M.A.; Tomassoni, M.T.; Remondini, D.; et al. Automated Prediction of the Response to Neoadjuvant Chemoradiotherapy in Patients Affected by Rectal Cancer. *Cancers* 2022, 14, 2231
45. Rollvén, E.; Blomqvist, L.; Öistämö, E.; Hjern, F.; Csanaky, G.; Abraham-Nordling, M. Morphological predictors for lymph node metastases on computed tomography in colon cancer. *Abdom. Radiol.* 2019, 44, 1712–1721

46. Julien Taieb , MD, PhD1 and Mehdi Karoui , MD, PhD2Show More, FOxTROT: Are We Ready to Dance?, journal of clinical oncology

47. Yao, X.; Sun, C.; Xiong, F.; Zhang, X.; Cheng, J.; Wang, C.; Ye, Y.; Hong, N.; Wang, L.; Liu, Z.; et al. Radiomic signature-based nomogram to predict disease-free survival in stage II and III colon cancer. *Eur. J. Radiol.* 2020, 131, 109205.
48. Li, M.; Zhang, J.; Dan, Y.; Yao, Y.; Dai, W.; Cai, G.; Yang, G.; Tong, T. A clinical-radiomics nomogram for the preoperative prediction of lymph node metastasis in colorectal cancer. *J. Transl. Med.* 2020, 18, 46.
49. Weiss, J.M.; Schumacher, J.; Allen, G.O.; Neuman, H.; Lange, E.O.; Loconte, N.K.; Greenberg, C.C.; Smith, M.A. Adjuvant chemotherapy for stage II right-sided and left-sided colon cancer: Analysis of SEER-medicare data. *Ann. Surg. Oncol.* 2014, 21, 1781–1791
50. Casadaban, L.; Rauscher, G.; Aklilu, M.; Villenes, D.; Freels, S.; Maker, A.V. Adjuvant chemotherapy is associated with improved survival in patients with stage II colon cancer. *Cancer* 2016
51. Eresen, A.; Li, Y.; Yang, J.; Shangguan, J.; Velichko, Y.; Yaghmai, V.; Benson, A.B.; Zhang, Z. Preoperative assessment of lymph node metastasis in Colon Cancer patients using machine learning: A pilot study. *Cancer Imaging* 2020, 20, 30
52. Argilés, G.; Taberero, J.; Labianca, R.; Hochhauser, D.; Salazar, R.; Iveson, T.; Laurent-Puig, P.; Quirke, P.; Yoshino, T.; Taieb, J.; et al. Localised colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann. Oncol.* 2020, 31, 1291–1305
53. Weiser, M.R. *AJCC 8th Edition: Colorectal Cancer.* *Ann. Surg. Oncol.* 2018, 25, 1454–1455.
54. Mohan, H.M.; Ryan, E.; Balasubramanian, I.; Kennelly, R.; Geraghty, R.; Sclafani, F.; Fennelly, D.; McDermott, R.; Ryan, E.J.; O'Donoghue, D.; et al.

- Microsatellite instability is associated with reduced disease specific survival in stage III colon cancer. *Eur. J. Surg. Oncol.* 2016, 42, 1680–1686.
55. André, T.; Shiu, K.K.; Kim, T.W.; Jensen, B.V.; Jensen, L.H.; Punt, C.; Smith, D.; Garcia-Carbonero, R.; Benavides, M.; Gibbs, P.; et al. Pembrolizumab in Microsatellite-Instability-High Advanced Colorectal Cancer. *N. Engl. J. Med.* 2020, 383, 2207–2218
56. Bourbonne, V.; Fournier, G.; Vallières, M.; Lucia, F.; Doucet, L.; Tissot, V.; Cuvelier, G.; Hue, S.; Le Penn Du, H.; Perdriel, L.; et al. External Validation of an MRI-Derived Radiomics Model to Predict Biochemical Recurrence after Surgery for High-Risk Prostate Cancer. *Cancers* 2020, 12, 814
57. Caruso, D.; Zerunian, M.; Pucciarelli, F.; Bracci, B.; Polici, M.; D'Arrigo, B.; Polidori, T.; Guido, G.; Barbato, L.; Polverari, D.; et al. Influence of Adaptive Statistical Iterative Reconstructions on CT Radiomic Features in Oncologic Patients. *Diagnostics* 2021, 11, 1000

## ***Ringraziamenti***

Vorrei riservare questo spazio finale della mia tesi di dottorato ai ringraziamenti verso tutti coloro che hanno contribuito, con il loro instancabile supporto, alla realizzazione della stessa.

Un sentito ringraziamento va al mio supervisore prof. Paolo Mercantini e alla co-supervisore prof.ssa Genoveffa Balducci che mi hanno seguito, con disponibilità e gentilezza, in tutto il mio percorso accademico e professionale.

Ringrazio il dott. Damiano Caruso per il suo prezioso aiuto nel condurre le ricerche, oggetto della mia tesi. Un grazie sentito a tutti i colleghi della radiologia dell'Azienda Ospedaliera Sant'Andrea, per la loro indispensabile collaborazione, senza la quale questo lavoro non sarebbe stato possibile.

Ringrazio infinitamente i miei genitori, che mi hanno sostenuto con costanza e i miei più cari amici, *Eleonora, Alessandra, Valerio, Giulia, Gian Marco*, per essere sempre al mio fianco.

Infine un ringraziamento particolare a mio marito Francesco, per il suo incrollabile supporto e per la sua capacità di motivarmi sempre a dare il meglio.