

## **Prot.GOIM 2802**

# **TRATTAMENTO DI I LINEA CON BEVACIZUMAB + FOLFOX4 O XELOX2 NEL CARCINOMA COLORETTALE. STUDIO DI FASE II RANDOMIZZATO**

**Ricercatore responsabile:**

**Evaristo Maiello  
Dipartimento di Oncoematologia  
U.O. Oncologia  
IRCCS “Casa Sollievo della Sofferenza”  
Viale Cappuccini  
71013 San Giovanni Rotondo (FG)**

**Coordinatore:**

**Gabriele Di Maggio  
U.O.C. Oncologia  
IRCCS “Casa Sollievo della Sofferenza”  
Viale Cappuccini  
71013 San Giovanni Rotondo (FG)**

## **INDICE**

### **1.0 Introduzione**

- 1.1 Folfox: studi clinici
- 1.2 Capecitabina in combinazione con Oxaliplatino: studi clinici
- 1.3 Bevacizumab (rHUMab VEGF, Avastin®)
- 1.4 Bevacizumab: studi preclinici
- 1.5 Bevacizumab: studi clinici
- 1.6 Bevacizumab in combinazione con Folfox e Xelox : studi clinici
- 1.7 Terapia di Mantenimento

### **2.0 Razionale dello studio**

### **3.0 Obiettivi dello studio**

- 3.1 Obiettivo Primario
- 3.2 Obiettivi Secondari

### **4.0 Disegno dello studio**

### **5.0 Criteri di inclusione**

### **6.0 Criteri di esclusione**

### **7.0 Schema di trattamento**

### **8.0 Terapia di mantenimento**

### **9.0 Terapia di supporto**

### **10.0 Piano di trattamento**

### **11.0 Valutazione della risposta**

### **12.0 Codifica della risposta**

- 12.1.1 Definizione della risposta
- 12.1.2 Valutazione della durata della risposta, tempo alla progressione e sopravvivenza

### **13.0 Valutazione basale**

- 13.1.1 Esami pretrattamento

### **14.0 Valutazione della tossicità e riduzioni di dose**

### **15.0 Criteri di rilievo della tossicità**

### **16.0 Tossicità di Bevacizumab: considerazioni generali**

- 16.1.1 Modifica schedula e dose di Bevacizumab

### **17.0 Follow-up**

### **18.0 Registrazione dei dati**

### **19.0 Consenso informato**

### **20.0 Analisi Statistica**

- 20.1.1 Disegno Sperimentale
- 20.1.2 Stima della dimensione del campione della popolazione
- 20.1.3 Metodi Statistici

## **BIBLIOGRAFIA**

## 1.0 Introduzione

Il carcinoma colo-rettale (CCR) rappresenta la seconda causa di morte per cancro nel mondo occidentale (1), con una incidenza di 170.000 casi in Europa e circa 50.000 nuovi casi in Italia. La chirurgia, quando praticabile, rappresenta la principale opzione terapeutica; tuttavia, essa risulta curativa solamente negli stadi precoci di malattia. Infatti, circa metà dei pazienti operati per CCR sviluppa metastasi a distanza. La sopravvivenza mediana di questi pazienti trattati con solo terapia di supporto varia dai 4 ai 6 mesi di vita (2), mentre la somministrazione di una chemioterapia attiva nei confronti del CCR è in grado attualmente di assicurare sopravvivenze mediane tra i 17 e i 21 mesi (3-4).

La chemioterapia è generalmente considerata il trattamento standard per i pazienti con cancro colo-rettale avanzato e prevede l'utilizzo principalmente di tre tipi di farmaci: fluoropirimidine (5-fluorouracile e capecitabina), irinotecano e oxaliplatino: l'introduzione poi nella pratica clinica di nuovi farmaci in grado di inibire il pathway dell'angiogenesi (VEGF) e dell'epidermal growth factor receptor (EGFR) hanno ulteriormente migliorato i risultati con sopravvivenze che raggiungono i 25 mesi.

E' stato, inoltre, ben stabilito che la terapia di combinazione aumenta l'efficacia clinica di questi farmaci, per cui studi sono in corso per determinare la sequenza e la combinazione ottimale.

### 1.1 Folfox: studi clinici

Un deciso passo avanti nel trattamento del carcinoma colo-rettale e' stato realizzato con l'introduzione nella pratica clinica di due farmaci che si sono dimostrati efficaci quando utilizzati in pazienti pretrattati con fluoropirimidine: l'Irinotecan (CPT-11) inibitore delle topoisomerasi e l'Oxaliplatino (OHP) derivato equiattivo ma meno tossico del Cisplatino (CDDP) con meccanismo d'azione simile ma con un profilo d'attività differente (18). Studi sperimentali hanno dimostrato che l'oxaliplatino è in grado di inibire linee cellulari di cancro colo-rettali resistenti al cis e carboplatino (19).

Entrambi i farmaci sono stati studiati in associazione nella terapia di prima linea con ottimi risultati. Tre studi randomizzati di fase III hanno confrontato la combinazione di OHP+5FU+AF con il solo fluorofolato, dimostrando la superiorità del braccio di combinazione in termini di risposte obiettive (RR circa 50% versus 20-25%) e tempo alla progressione (range di 8-9 mesi versus 4 mesi del 5FU/LV) (20-22).

I risultati di un trial del NCCTG/Intergroup hanno dimostrato la superiorità del FOLFOX 4 sullo schema IFL nella prima linea del cancro colo-rettale in termini di RR (41% vs 31%), PFS (8,7 vs 6,9 mesi), OS (19,5 vs 15 mesi) e in termini di tossicità. Lo studio ha però mostrato dei limiti legati al fatto che si sono confrontate due modalità differenti di infusione del fluorouracile nonché per uno sbilanciamento nella seconda linea dovuta alla non facile disponibilità di oxaliplatino in U.S.A.(23)

Il Gruppo Oncologico dell'Italia Meridionale (GOIM) ha condotto uno studio randomizzato, che ha arruolato trecentosessanta pazienti, e che ha confrontato lo schema FOLFIRI con il FOLFOX-4 con l'obiettivo di verificare se uno dei due schemi fornisse risultati migliori rispetto all'altro. I

risultati di tale studio, che è il primo che ha confrontato direttamente i due più utilizzati regimi di trattamento di prima linea in questa patologia, hanno evidenziato che analoga è stata la percentuale di risposte obiettive: 31% e 34% rispettivamente, con un tempo alla progressione e una sopravvivenza mediana sovrapponibili. Nessuna differenza è stata riscontrata nei gradi maggiori di tossicità; le differenze principali possono essere rapportate al diverso spettro di tossicità dell'irinotecan e dell'oxaliplatino (24).

## 1.2 Capecitabina in combinazione con Oxaliplatino: studi clinici

Uno studio di fase I è stato condotto per identificare la sicurezza della combinazione di oxaliplatino con capecitabina (20). Ventitrè pazienti con tumore avanzato o metastatico hanno ricevuto un regime trisettimanale con capecitabina per os (alle dosi di 500, 825, 1000 o 1250 mg/mq due volte al giorno per 14 giorni) in combinazione con oxaliplatino (130 mg/mq e.v. al giorno 1). A seguito dello studio è stata raccomandata una dose di capecitabina di 1000 mg/mq due volte al giorno per 14 giorni con oxaliplatino a 130 mg/mq ogni 3 settimane. La principale tossicità dose-limitante è stata la diarrea. I principali effetti collaterali sono stati quelli gastrointestinali (nausea/vomito, diarrea) e neurologici (disestesie, parestesie) per lo più di grado 1-2, mentre non si sono avute tossicità di grado 4 nei 15 pazienti trattati alla dose raccomandata. Le principali tossicità ematologiche di grado 3 e 4 sono state la leucopenia (52% dei paz.), la piastrinopenia (22% e solo grado 3), neutropenia (17%) e iperbilirubinemia (17%). Si sono ottenute sei risposte parziali (26%), inclusi i 5 pazienti dei nove con carcinoma del colon-retto (55%). Uno studio di fase II ha saggiato la combinazione capecitabina con oxaliplatino (XELOX trial) utilizzando gli stessi dosaggi del precedente studio di fase I ed ha inserito 96 pazienti con carcinoma del colon retto non pretrattato. Le tossicità di grado 3 e 4 sono state la diarrea (16%), neuropatia sensoriale (16%), nausea/vomito (11%/6%), astenia (6%). È stato segnalato un 3% di Hand Foot Syndrome di grado 3, un 6% di neutropenia di grado 3 e 4% di iperbilirubinemia di grado 3 (nessun grado 4) (21). Sono stati somministrati in media 10 cicli e 17 pazienti (17%) sono usciti dallo studio per tossicità. Il 50% dei paz. non ha richiesto riduzione di dose, il 14,6% ha dovuto ridurre solo la dose di capecitabina mentre il 13,5% del solo oxaliplatino e il 21,9% di entrambi. La percentuale delle risposte è stata del 55% (CI95%=45-65%), con un'ulteriore 32% di stabilità di malattia (CI95%=23-43% oltre i 3 mesi). La PFS mediana è stata di 7,7 mesi (CI95=6,5-8,5 mesi) con una OS mediana di 17,4 mesi (22). Lo studio di fase III NO 16966 ha documentato che i regimi contenenti capecitabina non sono inferiori a quelli infusionali in termini di sopravvivenza globale (obiettivo primario dello studio); è stata osservata d'altro canto una minore incidenza di eventi avversi di grado severo nei pazienti trattati con XELOX vs FOLFOX4 (71,5% vs 78,1%). Dati recenti anche nel trattamento della malattia in fase adiuvante confermano che XELOX è sicuro in termini di tollerabilità ed inoltre è stato documentato che riduce il numero di visite ospedaliere del 60% in confronto alla terapia standard, offrendo un miglioramento della qualità di vita (23). La ricerca di schedule alternative per ottimizzare il rapporto efficacia/tollerabilità rimane un argomento di attualità tanto che recentemente lo studio GOIM 2503 "XELOX-2 nel trattamento del carcinoma coloretale avanzato non pretrattato: studio di fase II del GOIM

(Gruppo Oncologico dell'Italia Meridionale)" ha utilizzato una schedula di trattamento XELOX bisettimanale in pazienti affetti da carcinoma coloretale non pretrattati: oxaliplatino 100 mg/mq giorno1 più capecitabina 2000 mg/mq po/die per 7 giorni diviso in due dosi giornaliere, il tutto ripetuto ogni 2 settimane. Sono stati arruolati 85 pazienti registrando una percentuale di risposte (risposte parziali RP + risposte complete RC) di circa il 50% e un controllo di malattia (RC+RP+SD) di circa il 76% con un favorevole profilo tossicologico (diarrea G3-4 4%, neuropatia periferica G3 4%, astenia G3 2% trombocitopenia G3 4%), a dimostrazione che questa combinazione risulta attiva e ben tollerata (24).

### 1.3 Bevacizumab (rHUMab VEGF, Avastin®)

L'angiogenesi è un meccanismo essenziale per la crescita, la progressione e la metastatizzazione delle cellule tumorali. Nel 1971, Judah Folkman propose l'angiogenesi come uno degli step fondamentali per la crescita neoplastica ed ipotizzò nell'inibizione di questo processo, una possibile strategia del trattamento dei tumori (5,6). In questi ultimi anni numerose ricerche hanno contribuito a chiarire molti meccanismi alla base dell'angiogenesi ed hanno portato allo sviluppo di farmaci mirati contro alcuni dei target che ne sono alla base.

Tra i fattori che promuovono l'angiogenesi il Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) è il più potente e specifico (8). VEGF è una glicoproteina omodimerica, la cui isoforma dominante ha un peso molecolare di 45000 Dalton (7,8) che agisce legandosi ai recettori tirosin-chinasici VEGFR-1 e VEGFR-2; VEGF ha varie funzioni fra cui quelle di promuovere l'angiogenesi attraverso la migrazione e la mitogenesi delle cellule endoteliali, di aumentare la permeabilità vasale, di mediare la secrezione e l'attivazione di enzimi coinvolti nella degradazione della matrice extracellulare e di prolungare la sopravvivenza dei vasi neoformati(8). L'espressione genica di VEGF è regolata da una serie di fattori, tra i quali il più importante è lo stato di ossigenazione.(8) L'espressione di VEGF risulta aumentata nella maggior parte dei tumori, tra i quali tumori del polmone, mammella, tiroide, tumori del tratto gastrointestinale, rene, vescica, ovaio e cervice uterina, nonché negli angiosarcomi e nei glioblastomi (8). In particolare nei tumori del colon-retto una elevata espressione di VEGF è correlata con una maggiore invasività, capacità di recidiva e metastasi con una prognosi peggiore. (9); inoltre sembrerebbe avere un ruolo nella formazione dell'ascite neoplastica, in quanto il VEGF è responsabile dell'aumento della permeabilità vasale. L'inibizione del VEGF con un anticorpo monoclonale anti VEGF blocca la crescita di linee cellulari di cancro umano di vario tipo inoculate in topi nudi (8). L'effetto antitumorale inoltre è maggiore se all'anticorpo monoclonale anti VEGF si aggiunge un chemioterapico rispetto al trattamento con i soli anticorpi o la sola chemioterapia. Esperimenti preclinici hanno dimostrato che questo anticorpo non interferisce sulla proliferazione delle cellule tumorali in vitro, mentre inibisce la crescita e riduce la densità vascolare di tumori umani trapiantati in topi nudi e riduce il numero e il diametro delle metastasi epatiche in un modello murino di carcinoma coloretale. Interessante è rilevare che questo esperimento, la percentuale di metastasi epatiche di diametro inferiore a 1 millimetro era superiore al 90% nei topi che avevano ricevuto l'anticorpo monoclonale, mentre era inferiore al 40%

nei controlli (10). Alla luce di questi dati preclinici è stata realizzata una versione umanizzata ricombinante di un anticorpo monoclonale anti VEGF umano di topo ( $\mu$ MAB), chiamato rhuMAB VEGF (Bevacizumab)(11). Il 93% degli aminoacidi che lo compongono sono derivati da IgG umane, mentre il 7% deriva dalla frazione murina. L'umanizzazione ha determinato una minore immunogenicità. Il bevacizumab lega VEGF con una affinità molto simile a quella dell'anticorpo originale e neutralizza tutte le isoforme umane di VEGFA e i frammenti proteolitici bioattivi, mentre non ha effetti su altri membri della famiglia VEGF. È importante sottolineare che non c'è evidenza di alcuna risposta anticorpale contro bevacizumab in nessuno studio clinico finora realizzato, a dimostrazione del successo dell'umanizzazione della molecola.

#### 1.4 **Bevacizumab: studi preclinici**

In studi condotti su macachi, la somministrazione e.v. ogni due settimane con bevacizumab (alla dose di 2, 10 e 50 mg/kg) per 4, 13 o 26 settimane è stata ben tollerata senza evidenti segni di tossicità acuta. Non sono stati segnalati effetti su peso, pressione arteriosa, elettrocardiogramma, temperatura corporea, frequenza respiratoria ecc. In tutti i gruppi trattati si è osservata invece una displasia caratterizzata da un incremento dose dipendente di condrociti ipertrofici e una inibizione dell'invasione vascolare della metafisi. Altri effetti attesi di una somministrazione prolungata di bevacizumab sono stati la soppressione dell'angiogenesi nel tratto riproduttivo della femmina, con diminuzione del peso di utero ed ovaie ed assenza di corpi lutei. I cambiamenti sia nella metafisi sia nelle ovaie sono reversibili con la sospensione del trattamento (12). Il bevacizumab, inoltre rallenta il processo di cicatrizzazione delle ferite, infatti un ritardo dose dipendente è stato osservato soprattutto alla dose di 10 mg/kg in conigli cui è stata procurata una lesione cutanea sull'orecchio (19).

#### 1.5 **Bevacizumab: studi clinici**

Nell'aprile del 1997 studi clinici di fase I sono stati condotti per identificare la farmacocinetica e la sicurezza del bevacizumab dimostrando che esso è un agente relativamente poco tossico se somministrato da solo o in associazione a regimi standard di chemioterapia, senza aumentare significativamente le tossicità. Successivamente sono stati condotti cinque studi di fase II in diversi tumori, in cui il bevacizumab è stato somministrato o come singolo agente o in associazione con chemioterapia: come agente singolo nel cancro metastatico ormonorefrattario della prostata (13), nel carcinoma mammario in ricaduta (14), e nel carcinoma renale in progressione dopo terapia con IL-2 (15); in combinazione con chemioterapia standard di prima linea nel carcinoma del colon retto metastatico(16) e nel carcinoma del polmone NSCLC in stadio III/IV (17). I risultati più incoraggianti circa l'efficacia sono stati osservati quando bevacizumab è stato utilizzato in combinazione con la chemioterapia nel cancro sia colo-rettale che del polmone. Lo studio di fase II nel cancro del colon retto era randomizzato e non in cieco, mirato a valutare l'efficacia e la sicurezza di bevacizumab combinato a chemioterapia a base di 5-Fluorouracile(5-FU)/Leucovorin(LV) in soggetti metastatici non pretrattati. Sono stati randomizzati 104 pazienti verso i tre bracci di trattamento: 36 nel

braccio 5-FU/LV da solo, 35 nell' braccio 5-FU/LV + Bevacizumab 5 mg/kg ogni due settimane e 35 nel braccio 5-FU/LV + Bevacizumab 10 mg/kg ogni due settimane. L'evento avverso più significativo è stato la tromboembolia venosa; ci sono stati inoltre eventi di ipertensione arteriosa, proteinuria ed epistassi. Le risposte obiettive (RO) sono state del 40% nel braccio con bevacizumab alla dose di 5 mg/kg con un time to progression (TTP) mediano di 9 mesi e una sopravvivenza mediana (OS) di 17,7 mesi verso un 34% di RO, 7,2 mesi di TTP e 15,2 mesi in OS nel braccio con bevacizumab a 10 mg/kg; mentre nel braccio di controllo senza bevacizumab le RO sono state del 17%, il TTP di 5,2 mesi e la OS di 13,6 mesi. Dopo gli studi di fase I-II in cui sono state definite le dosi e la tossicità del bevacizumab, Hurwitz et al. (18) hanno condotto uno studio di fase III randomizzato con Irinotecano +5-FU+LV (scheda IFL) + placebo vs IFL + Bevacizumab (5 mg/kg ogni due settimane) vs 5-FU/ LV + Bevacizumab (stesse dosi) in pazienti affetti da carcinoma del colon-retto metastatici non precedentemente pretrattati con chemioterapia ed hanno ottenuto una progression free survival (PFS) di 10,6 mesi (IC 95%=9,00-11,0) con la combinazione IFL+Bevacizumab verso 6,2 mesi (IC95%=5,6-7,7) con IFL+placebo (18). Questo incremento in PFS è risultato statisticamente significativo (H R:0,54-IC95%:0,45-0,66; p<0,001). E' stato inoltre osservato un incremento della OS da 15,3 a 29,3 mesi con un incremento relativo del 30% ed una riduzione del rischio di morte del 34%. Da ricordare che il braccio con 5-FU/LV è stato chiuso dopo che gli altri due trattamenti sono stati considerati sicuri in termini di tollerabilità e che i risultati in termini di OS sono da considerarsi particolarmente interessanti se si valuta che solo il 25% dei pazienti in progressione nel braccio con bevacizumab è stato successivamente trattato con Oxaliplatino (Oxa). Nel sottogruppo di pazienti, infatti, che avevano ricevuto la sequenza delle combinazioni 5-FU, Irinotecano, Bevacizumab ed Oxaliplatino, la OS ha raggiunto i 25 mesi rispetto a 19,6 senza Oxa. Gli eventi avversi attribuibili al Bevacizumab sono stati principalmente l'ipertensione, mentre la proteinuria, il sanguinamento e l'incidenza di tromboembolie non erano significativamente incrementate. La mortalità a 60 giorni era di 4,9% con il Bevacizumab e del 3,0% con la sola chemioterapia. La combinazione FOLFOX 4 è stata valutata in seconda linea nello studio E3200(19), ove 828 pazienti pretrattati con chemioterapia sono stati randomizzati a ricevere FOLFOX 4 con o senza bevacizumab. La PFS è stata di 4,2 mesi verso 7,2 con l'aggiunta del bevacizumab, che corrisponde a una riduzione del rischio del 36% e la OS era superiore di 2,1 mesi nel braccio con bevacizumab (10,8 vs 12,9).

#### 1.6 **Bevacizumab in combinazione con FOLFOX e XELOX : studi clinici**

Lo studio NO16966 (25) inizialmente disegnato per valutare FOLFOX vs XELOX, dopo i dati dello studio di Hurwitz, è stato modificato in uno studio 2x2 per indagare il potenziale beneficio dell'aggiunta di bevacizumab allo XELOX (7,5 mg/kg ogni 21 giorni) o al FOLFOX4 (5 mg/kg ogni 14 giorni). Questo studio, che ha inserito 1401 pazienti dopo l'emendamento, aveva due endpoints primari e i risultati sono stati: a) XELOX da solo o con placebo o con bevacizumab non è stato inferiore a FOLFOX da solo o con placebo o con bevacizumab, e b) XELOX + bevacizumab e FOLFOX + bevacizumab è stato superiore a XELOX e FOLFOX + placebo in termini di PFS. la PFS è stata di 8 mesi nel braccio con la sola chemioterapia

(FOLFOX e XELOX) vs 9,4 mesi nella combinazione chemioterapia + bevacizumab mentre la OS è risultata maggiore con i regimi contenenti bevacizumab (21,3 vs 19,9 mesi), anche se questa differenza non è risultata statisticamente significativa ( $p=0,0769$ ).

La tossicità ematologica di ogni grado è stata del 47,6% nel braccio XELOX vs il 69,1% nel braccio FOLFOX4 (grado 3-4 nel 15,9% vs 49,1% e di grado 4 nel 2,1% vs 19,1%). La tossicità gastrointestinale di grado severo è risultata invece più frequente con il regime XELOX (33% vs 25,8%) come pure la sindrome mano-piede (grado 3: 6,1% vs 1,2%).

La combinazione di bevacizumab con FOLFOX 4 è stata valutata in seconda linea nello studio E3200 (19), nel quale 828 pazienti pretrattati con chemioterapia sono stati randomizzati a ricevere FOLFOX 4 con o senza bevacizumab. La PFS è stata di 4,7 vs 7,3 mesi e la OS di 12,9 vs 10,8 mesi, a favore del braccio con l'aggiunta del bevacizumab. Anche le risposte obiettive sono risultate statisticamente maggiori nel braccio con bevacizumab (22,7% vs il 8,6%;  $p=0,0001$ ). La principale tossicità di grado 3-4 è stata l'ipertensione (6%), mentre la perforazione del colon si è verificata nell'1% dei casi; gli episodi tromboembolici sono risultati sovrapponibili in entrambi i bracci.

Recentemente lo studio PACCE (Panitumumab Advanced Colorectal Cancer Evaluation) ha preso in considerazione l'aggiunta di panitumumab a schemi di terapia contenenti oxaliplatino o irinotecan più bevacizumab in pazienti con carcinoma del colon-retto non pretrattati. I risultati del trattamento di prima linea del braccio con oxaliplatino più bevacizumab sono stati i seguenti: nei 410 pazienti trattati è stata riscontrata una PFS di 11,4 mesi ed un tasso di risposte obiettive del 48% (26).

### 1.7 **Terapia di Mantenimento**

Negli ultimi 10 anni la sopravvivenza dei pazienti con carcinoma del colon-retto metastatico è notevolmente aumentata grazie alla disponibilità di nuovi farmaci attivi ed al loro utilizzo sequenziale. Poiché ormai sono stati superati i 2 anni di sopravvivenza mediana, è assai difficile mantenere un'intensità di dose costante della chemioterapia per un periodo così lungo, in particolare l'oxaliplatino quasi sempre dà luogo a neuropatia periferica. Sono state perciò individuate alcune strategie per rendere meno pesante il trattamento, come la cosiddetta terapia di mantenimento. Nonostante lo studio di fase III randomizzato NO16966 (25) raccomandasse di continuare l'inibitore VEGF fino a progressione, la maggior parte dei pazienti ha sospeso bevacizumab dopo 6 mesi. Nel gruppo, però, che ha proseguito fino a progressione si rileva un ulteriore guadagno in PFS rispetto a chi ha sospeso la terapia precocemente. Il numero di pazienti in progressione è sempre costantemente più alto nel gruppo placebo, sia nelle prime settimane, quando ancora il paziente sta ricevendo la chemioterapia, sia più tardi quando bevacizumab è l'unico trattamento ancora in corso per molti pazienti. Del resto i dati di PFS dello studio NO 19966 sono peggiori rispetto a quelli di Hurwitz (18) e una delle spiegazioni sta proprio nel fatto che nel secondo studio il bevacizumab è stato somministrato anche da solo dopo i previsti cicli di chemioterapia fino a progressione di malattia. Ciò ha poi fatto sì oggi che sia divenuto pratica clinica mantenere il farmaco biologico al termine del programmato numero di cicli di chemioterapia.



## 2.0 Razionale dello studio

2.1.1 Lo schema FOLFOX  $\pm$  bevacizumab rappresenta attualmente uno degli standard del trattamento del carcinoma del colon-retto in prima linea; La capecitabina ha dimostrato di poter efficacemente sostituire il fluorouracile folinico potenziato con un piu' favorevole profilo di tossicità e una migliore compliance da parte del paziente; L'oxaliplatino e la capecitabina hanno dimostrato un effetto additivo in studi sperimentali; Studi di fase I hanno individuato la tossicità dose limitante di tale combinazione e i dosaggi da impiegare nelle successivamente esperienze cliniche. I dati di studi di fase II e III indicano una notevole attività di questa associazione.

Lo schema di somministrazione bisettimanale XELOX2 della capecitabina + oxaliplatino ha mostrato di essere un trattamento attivo nel carcinoma del colon retto di prima linea con un favorevole profilo di tossicità.

2.1.2 Partendo da queste considerazioni, GOIM ha voluto intraprendere uno studio di fase II, randomizzato, con FOLFOX4 + bevacizumab versus l'associazione capecitabina/ oxaliplatino con schedula bisettimanale (XELOX-2) + bevacizumab nei pazienti con carcinoma colo-rettale avanzato non pretrattato, al fine di poter selezionare lo schema da proporre successivamente per uno studio di fase III.

Lo studio si propone, inoltre, di valutare una terapia di mantenimento nei pazienti non in progressione (SD,RP,RC) dopo 12 cicli di terapia, con una randomizzazione tra fluoropirimidine (Capecitabina o fluorouracile folinico potenziato secondo lo schema de Gramont) +Bevacizumab versus solo Bevacizumab.

Lo studio si propone inoltre di condurre un'approfondita indagine molecolare finalizzata a chiarire il ruolo del VEGF e dei suoi principali interattori nell'ambito della risposta al trattamento con bevacizumab nei pazienti con carcinoma colo-rettale avanzato non pretrattato.

## 3.0 Obiettivi dello studio

### 3.1 Obiettivo Primario:

Valutare l'efficacia della combinazione Oxaliplatino e Capecitabina bisettimanale (XELOX-2) + bevacizumab misurato in termini di tasso di risposte obiettive nel trattamento del carcinoma colo-rettale avanzato non pretrattato.

### 3.2 Obiettivi Secondari:

- 3.2.1 Tollerabilità dello schema Bevacizumab+XELOX2.
- 3.2.2 Sopravvivenza globale.
- 3.2.3 Tempo alla progressione della malattia.

- 3.2.4 Valutazione dei risultati nei pazienti K-ras mutati e non mutati.
- 3.2.5 Valutazione tempo alla progressione e sopravvivenza globale dopo mantenimento con bevacizumab da solo o in combinazione con fluoro pirimidine.
- 3.2.6 Valutazione delle possibili correlazioni tra le determinazioni molecolari dei livelli di espressione dei geni appartenenti al pathway del VEGF e ad esso correlati con la risposta al trattamento con bevacizumab nei pazienti con carcinoma colo-rettale avanzato non pretrattato.

#### **4.0 Disegno dello studio**

- 4.1.1 E' uno studio di fase II randomizzato, multicentrico con la combinazione FOLFOX4 + bevacizumab versus XELOX-2 + bevacizumab in pazienti con carcinoma coloretale avanzato non pretrattati.
- 4.1.2 Il periodo di arruolamento e' stimato in 18 mesi e ----- sono i centri partecipanti.
- 4.1.3 La valutazione della risposta sara' effettuata secondo i criteri RECIST(26).
- 4.1.4 Le valutazioni delle risposte saranno effettuate ogni 4 cicli di trattamento.
- 4.1.4 I pazienti in risposta o stazionarietà di malattia effettueranno massimo 12 cicli in entrambi i bracci. Successivamente verranno randomizzati a ricevere un trattamento di mantenimento con solo bevacizumab o con bevacizumab + fluoropirimidine (capecitabina o fluorouracile folinico potenziato secondo lo schema de Gramont).

#### **5.0 Criteri di inclusione**

- 1 Diagnosi istologica di carcinoma del colon-retto
- 2 Determinazione stato mutazionale di K-ras ;
- 2 Presenza di malattia misurabile;
- 3 Nessun precedente trattamento chemioterapico di prima linea (e' ammesso un trattamento chemioterapico adiuvante, purché' terminato da almeno 6 mesi);
- 4 Performance status ECOG 0-1
- 5 Eta' compresa tra 18 e 75 anni;
- 6 Aspettativa di vita  $\geq 3$  mesi;
- 7 Adeguata funzionalita' renale (creatinina  $< 1,5$  mg/dl), epatica (transaminasi  $< 2,5 \times N$  in assenza e  $< 5 \times N$  in presenza di metastasi epatiche) e midollare (neutrofili  $> 2.000/mm^3$  e piastrine  $> 100.000/mm^3$ );
- 8 Proteinuria con stick urinario  $< 2+$ , se  $\geq 2+$  occorre eseguire dosaggio della proteinuria delle 24 ore ed essere  $< 1$  gr di proteine nelle urine delle 24 ore.
- 9  
    Consenso informato scritto.

#### **6.0 Criteri di esclusione**

- 1 Presenza di metastasi cerebrali;
- 2 Precedente trattamento chemioterapico di prima linea ;
- 3 Precedente neoplasia maligna ad eccezione del basalioma cutaneo e del carcinoma in situ della cervice uterina purché' adeguatamente trattati;

- 4 Anamnesi di infarto acuto del miocardio negli ultimi 12 mesi o segni clinici rilevanti di coronaropatia;
- 5 Presenza di infarto in fase attiva, scompenso cardiaco o grave aritmia non controllata farmacologicamente;
- 6 Occlusione intestinale acuta o subacuta o anamnesi di malattia infiammatoria del colon;
- 7 Pazienti con neuropatia periferica (NCI CTC  $\geq$  1);
- 8 Reazioni allergiche di grado 3-4 note ai componenti del trattamento
- 9 Stato di gravidanza o di allattamento;
- 10 Concomitante trattamento con farmaci sperimentali;
- 11 Evidenza di diatesi emorragica o coagulopatia
- 12 Ipertensione arteriosa non controllata
- 13 Radioterapia nelle 4 settimane prima dell'inizio dello studio
- 14 Assunzione a scopo terapeutico da meno di 10 giorni di anticoagulanti
- 15 Assunzione cronica giornaliera di aspirina a dosi elevate (>325 mg/day)
- 16 Procedure chirurgiche, biopsia a cielo aperto o significativi traumi entro i 28 giorni dall'inizio dello studio
- 17 Neuropatia periferica sintomatica  $\geq$  grado 1 secondo i NCI Common Toxicity Criteria

## 7.0 Schema di trattamento

7.1.1 I pazienti verranno randomizzati a ricevere uno dei due trattamenti in studio vale a dire FOLFOX4+bevacizumab (braccio A) oppure XELOX2+Bevacizumab (braccio B). In particolare, i pazienti saranno trattati secondo i seguenti dosaggi

### 7.1.2 Braccio A

**Oxaliplatino** 85 mg/mq diluito in 500 ml di soluzione glucosata al 5% in infusione di 120 minuti, giorno 1;

**Acido Folinico** 100 mg/mq e.v.diluito in 500 ml soluzione glucosata durata 120 min giorni 1-2

**5Fluorouracile** 400 mg/mq e.v. push giorni 1-2

**5Fluorouracile** 600 mg/mq in soluzione fisiologica 500 ml in infusione continua oppure giorni 1-2 oppure in pompa elastomerica two days.

**Bevacizumab** 5 mg/kg e.v.in soluzione fisiologica 500 ml durata da 30 a 90 minuti giorno 1. La prima somministrazione va fatta dopo la chemioterapia, le successive indifferentemente prima o dopo.

Cicli ripetuti ogni 2 settimane.

### 7.1.3 Braccio B

**Oxaliplatino** 100 mg/mq diluito in 500 ml di soluzione glucosata al 5% in infusione di 120 minuti, giorno 1;

**Capecitabina** 2000 mg/mq per os in due somministrazioni giornaliere, dal giorno 1 al giorno 7;

**Bevacizumab** 5 mg/kg e.v.in soluzione fisiologica 500 ml durata da 30 a 90 minuti giorno 1. prima somministrazione va fatta prima della chemioterapia, le successive indifferentemente prime o dopo la chemioterapia

Cicli ripetuti ogni 2 settimane.

## 8.0 Terapia di mantenimento

8.1.1 I pazienti in risposta e/o stazionarietà dopo 12 cicli verranno randomizzati in ulteriori due bracci di trattamento e precisamente:

### 8.1.2 Braccio C

**I pazienti continueranno a ricevere la fluoro pirimidina utilizzata nel precedente trattamento chemioterapico. Pertanto i pazienti inizialmente trattati con Folfox riceveranno:**

#### C-A

**Acido Folinico** 100 mg/mq e.v.diluito in 500 ml soluzione glucosata durata 120 min giorni 1-2

**5Fluorouracile** 400 mg/mq e.v. push giorni 1-2

**5Fluorouracile** 600 mg/mq in soluzione fisiologica 500 ml in infusione continua oppure giorni 1-2 oppure in pompa elastomerica two days

**Bevacizumab** 5 mg/kg e.v.in soluzione fisiologica 500 ml durata da 30 a 90 minuti giorno 1.

Cicli ripetuti ogni 2 settimane.

**I pazienti inizialmente trattati con Xelox2 riceveranno:**

#### C-B

**Capecitabina** 2000 mg/mq per os in due somministrazioni giornaliere, dal giorno 1 al giorno7;

**Bevacizumab** 5 mg/kg e.v.in soluzione fisiologica 500 ml durata da 30 a 90 minuti giorno 1.

Cicli ripetuti ogni 2 settimane.

### 8.1.3 Braccio D

**Bevacizumab** 5 mg/kg e.v.in soluzione fisiologica 500 ml durata da 30 a 90 minuti giorno 1.

Cicli ripetuti ogni 2 settimane.

## 9.0 Terapia di supporto

9.1.1 E' previsto l'impiego di antiemetici della categoria degli anti HT3 per la prevenzione dell'emesi in prima giornata eventualmente in associazione a desametasone, tranne nei casi in cui l'uso dei cortisonici sia controindicato;

9.1.2 L'utilizzo di fattori di crescita midollare e' lasciato alla discrezionalità dello sperimentatore. Il loro impiego e' controindicato in caso di somministrazione contemporanea alla capecitabina.

## 10.0 Piano di trattamento

10.1.1 I pazienti riceveranno 4 cicli di terapia prima della iniziale rivalutazione;

10.1.2 I pazienti in progressione usciranno dallo studio;

10.1.3 I pazienti responsivi o in stazionarietà di malattia proseguiranno il trattamento e rivaluteranno la malattia dopo altri 4 cicli; successivamente se in remissione completa effettueranno altri 2-4 cicli di consolidamento, se in remissione parziale o in stazionarietà di malattia proseguiranno fino a 12 cicli, se persiste la risposta si effettuerà una randomizzazione 1:1 per proseguire con solo bevacizumab o con bevacizumab+fluoropirimidina come terapia di mantenimento in entrambi i bracci fino a tolleranza e/o progressione

10.1.4 I pazienti con malattia localmente avanzata o metastatici, se responsivi, saranno sempre valutati per la reseccabilità chirurgica, in tal caso il bevacizumab deve essere sospeso almeno 6-8 settimane prima dell'intervento

## 11.0 Valutazione della risposta

### 11.1.1 Popolazione valutabile

Tutti i pazienti che abbiano ricevuto almeno 4 cicli di trattamento ed una rivalutazione di malattia oltre a quella basale sono considerati valutabili per la risposta. I pazienti che sviluppano una progressione clinica entro i primi 4 cicli di trattamento sono considerati come pazienti in progressione precoce.

## 12.0 Codifica della risposta

12.1 Per la codifica della risposta saranno impiegati i criteri RECIST (28).

Le lesioni saranno definite come segue:

Tutte le lesioni misurabili fino ad un massimo di 5 per organo e 10 in totale vengono definite **target**. Le lesioni target devono essere selezionate in base alle dimensioni (diametro maggiore) e alla possibilità di ottenerne ripetute misurazioni con la diagnostica per immagini. La somma dei diametri maggiori basali di tutte le lesioni target viene utilizzata come riferimento per definire la risposta obiettiva.

Tutte le altre lesioni vengono definite come **non-target** e devono comunque essere registrate alla valutazione basale.

## 12.2 Definizione della risposta

12.2.1 *Risposta completa (RC)*: Scomparsa di tutte le lesioni target e non target;

12.2.2 *Risposta parziale (RP)*: Riduzione di almeno il 30% della somma dei diametri maggiori delle lesioni target, rispetto alla valutazione basale;

12.2.3 *Progressione (P)*: Incremento di almeno il 20% della somma dei diametri maggiori delle lesioni target rispetto alla più bassa somma dei diametri maggiori registrata dall'inizio del trattamento in poi, o la comparsa di una o più nuove lesioni;

12.2.4 *Malattia stazionaria (MS)*: Riduzione non sufficiente a definire una RP o incremento non sufficiente a definire una P, rispetto alla più bassa somma dei diametri maggiori registrata dall'inizio del trattamento in poi.

12.2.5 La determinazione della risposta avverrà considerando le lesioni target e non target secondo il seguente schema:

Lesioni target	Lesioni non target	Nuove lesioni	Risposta
RC	RC	No	RC
RC	non RC/non P	No	RP
RP	non P	No	RP
MS	non P	No	MS
P	qualunque	Si/No	P
Qualunque	P	Si/No	P
Qualunque	qualunque	Si	P

### **12.3 Valutazione della durata della risposta, tempo alla progressione e sopravvivenza**

- 12.3.1 La durata della risposta sarà valutata dall'inizio del trattamento alla data di progressione o di ripresa di malattia in caso di RC;
- 12.3.2 Il tempo alla progressione sarà calcolato per tutti i pazienti dalla data di inizio del trattamento alla data in cui si evidenzia la progressione della malattia;
- 12.3.3 La sopravvivenza sarà calcolata dalla data di inizio del trattamento alla data di morte.
- 12.3.4 Il decesso che intercorre entro le prime 8 settimane sarà considerato morte precoce.

## **13.0 Valutazione basale**

### **13.1 Esami pretrattamento**

- 13.1.1 Consenso informato scritto;
- 13.1.2 Anamnesi del paziente;
- 13.1.3 Esame fisico (peso, altezza, superficie corporea, performance status);
- 13.1.4 Esami di laboratorio non antecedenti alle 48 ore l'inizio del trattamento e comprenderanno: emocromo, piastrine, azotemia, creatinemia, uricemia, transaminasi, gamma-gt, LDH, fosfatasi alcalina, proteine totali, glicemia, elettroliti sierici, assetto emocoagulativo, proteinuria CEA, Ca 19-9.
- 13.1.5 In caso di donne in età fertile test di gravidanza entro 72 ore dall'inizio del trattamento;
- 13.1.6 Valutazione cardiologica
- 13.1.7 Rx torace (Tac spirale in caso di lesioni misurabili, non antecedente le 4 settimane l'inizio della terapia);
- 13.1.8 Tac spirale addomino-pelvica in caso di lesioni misurabili (non antecedente le 4 settimane l'inizio della terapia);
- 13.1.9 Qualunque altra metodica ritenuta utile dallo sperimentatore.

## **14.0 Valutazione della tossicità e riduzioni di dose**

- 14.1.1 La tossicità verrà valutata e graduata in accordo alla scala NCI CTCG sulla base dei seguenti parametri:
- anamnesi ed esame obiettivo
  - emocromo completo al nadir ed entro le 48 ore precedenti il ciclo successivo;
  - profilo biochimico sierico ad ogni ciclo.
- 14.1.2 Prima della somministrazione di ogni farmaco i neutrofili dovranno essere  $\geq 1.500/\text{mm}^3$  e le piastrine  $\geq 100.000/\text{mm}^3$  ed ogni tossicità non ematologica dovrà essere  $\leq$  grado 1 secondo i criteri NCI CTC.

## **15.0 Criteri di rilievo della tossicità**

- 15.1.1 La tossicità sarà valutata secondo i criteri NCI-CCTG (Allegato 1), tranne per la neuropatia periferica;

15.1.2 La neuropatia periferica sarà valutata secondo la scala di Levi et al. (28) (Allegato 2).

15.1.3 La riduzione di dose durante tale fase avverrà considerando la tossicità presente al momento del riciclo, come segue:

Diarrea	grado 1	conservare lo stesso livello di dose;
	grado 2	rinvviare la terapia di una settimana;
	grado 3	rinvviare la terapia di una settimana e ridurre la dose di OXA a 85 mg/mq e di Xeloda a 1500 mg/mq;
	grado 4	il paziente esce dallo studio.
Neutropenia	grado 1	conservare lo stesso livello di dose;
	grado 2	rinvviare la terapia di una settimana;
	grado 3	rinvviare il trattamento fino a risoluzione (uso G-CSF) e riprendere con il livello di dose inferiore;
	grado 4	il paziente esce dallo studio.

Altra Toss. Ematol. Per i gradi 1-2 applicare gli stessi criteri usati in caso di neutropenia di grado equivalente; in caso di tossicità di grado 3 rinvviare il trattamento, impiegare emotrasfusioni e ridurre i successivi livelli di dose per OXA e Xeloda. In caso di persistenza di valori bassi o di tossicità di grado 4 sospendere il trattamento.

Altra Toss. Non Em.: Applicare gli stessi criteri usati in caso di comparsa di diarrea per i gradi 1-2; in caso di grado 3 ridurre la dose di OXA e/o Xeloda di un livello dopo aver rinvviato di una settimana; in caso di tossicità di grado 4 sospendere il trattamento.

## 16.0 Tossicità di Bevacizumab: considerazioni generali

Le tossicità più severe riscontrate durante l'uso del bevacizumab sono state l'emorragia. La trombosi e la perforazione gastrointestinale. Tossicità meno severe sono state proteinuria, ipertensione, febbre, brividi, cefalea, infezioni, epistassi e ulcerazioni della bocca.

### 16.1.1 Modifica schedula e dose di Bevacizumab

La schedula di somministrazione del bevacizumab va modificata in caso di tossicità di grado 3-4 come da tabella seguente:

<p><b>Tromboembolia</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Trombosi di Grado 3 o di grado 4 asintomatico</li> </ul>	<p>Mantenere il trattamento con bevacizumab. Se la durata prevista della terapia anticoagulante a dose terapeutica è <math>\leq 2</math> settimane, bevacizumab deve essere sospeso fino al termine della terapia anticoagulante. Se la durata prevista della terapia anticoagulante a dose terapeutica è <math>&gt;2</math> settimane, bevacizumab deve essere sospeso per 2 settimane. Riprendere la somministrazione di bevacizumab se vengono soddisfatti i seguenti criteri:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>→ assunzione di una dose stabile di anticoagulante e, in caso si anticoagulante orale, i valori di INR devono essere nel range terapeutico (di solito tra 2 e 3).</li> <li>→ assenza di emorragia di grado 3 o 4 successivamente all'ingresso</li> </ul>
---	---

<ul style="list-style-type: none"> <li>● Trombosi di grado 4 sintomatico</li> <li>● Eventi tromboembolici arteriosi</li> </ul>	<p>nello studio. → assenza di segni TAC di invasione del tumore o comunque di vicinanza a vasi sanguigni importanti.</p> <p>Interrompere il Bevacizumab Interrompere il Bevacizumab</p>
<p><b>Emorragie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Grado 1 e 2</li> <li>● Grado 3 o 4 al primo episodio</li> </ul>	<p>Nessuna modifica di dose</p> <p>Interrompere lo studio</p>
<p><b>Proteinuria</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● &gt;2 gr. di proteine nelle urine delle 24 ore</li> <li>● Proteinuria di grado 4 (sindrome nefrosica)</li> </ul>	<p>Non somministrare bevacizumab ed eseguire la raccolta delle urine delle 24 ore per la determinazione delle proteine totali entro 3 giorni prima del ciclo successivo previsto. Rinviare il trattamento con bevacizumab fino a che la proteinuria non scende a &lt;2 gr</p> <p>Interrompere lo studio</p>
<p><b>Reazione di ipersensibilità<sup>a</sup></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Reazione di ipersensibilità di grado 3-4 attribuibile al bevacizumab</li> </ul>	<p>Interrompere lo studio</p>
<p><b>Perforazione gastrointestinale</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Perforazione gastrointestinale o deiscenza</li> </ul>	<p>Interrompere lo studio</p>
<p><b>Ipertensione</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Grado 3</li> <li>● Grado 4</li> </ul>	<p>Se non controllata con i farmaci, sospendere il bevacizumab</p> <p>Interrompere lo studio</p>
<p><b>Tossicità epatica<sup>b</sup></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Grado 3 o 4 al primo episodio</li> <li>● Grado 3 o 4 al secondo episodio</li> </ul>	<p>Sospendere il bevacizumab fino a quando il grado di tossicità è sceso a ≤1 e poi riprendere il trattamento</p> <p>Interrompere lo studio</p>
<p><sup>a</sup>Reazioni di ipersensibilità non sono state osservate in 1032 pazienti trattati con bevacizumab nei trials clinici</p> <p><sup>b</sup>Applicabile solo se la tossicità epatica è attribuibile al bevacizumab</p>	

## 17.0 Follow-up

17.1.1I pazienti che termineranno il trattamento in risposta o in stabilità di malattia, compresi quelli che terminano il trattamento anticipatamente per tossicità, rifiuto o altro, dovranno effettuare periodiche valutazioni clinico-strumentali per definire il momento della progressione di malattia.

Il tempo alla progressione sarà calcolato dall'inizio del trattamento alla data dell'eventuale progressione.

17.1.2La sopravvivenza globale verrà calcolata dall'inizio del trattamento fino alla morte.

17.1.3L'analisi dei risultati, secondo i criteri "intent to treat", sarà effettuata sull'intero campione dei pazienti entrati nello studio; parallelamente sarà effettuata anche un'analisi sui pazienti valutabili.

## 18.0 Registrazione dei dati

18.1.1Il Centro Coordinatore fornirà le seguenti "schede di raccolta dati":



- 18.1.2 Scheda generale di randomizzazione (da inviare al momento dell'inserimento in studio della paziente) Allegato 4
- 18.1.3 Scheda trattamento (da inviare al termine della chemioterapia)
- 18.1.4 Scheda di valutazione della risposta (da inviare ad ogni valutazione)
- 18.1.5 Scheda tossicità (da inviare al termine della chemioterapia)
- 18.1.6 Scheda fine trattamento (da inviare al termine della chemioterapia)
- 18.1.7 Scheda follow-up (da inviare ogni 3 mesi dopo il termine del trattamento)
- 18.1.8 Tali schede dovranno essere accuratamente compilate a cura dello sperimentatore ed inviate alle scadenze prefissate.

## **19.0 Consenso informato**

- 19.1.1 Lo sperimentatore è responsabile dell'ottenimento del consenso informato scritto da parte della paziente dopo aver esaurientemente descritto alla paziente (oralmente e con l'ausilio del foglio informativo, vedi allegato 5 e 6) gli scopi e le procedure dello studio, nonché i rischi eventuali connessi alle procedure stesse ed al trattamento; alla paziente verrà assicurato l'anonimato e la confidenzialità dei suoi dati clinici.
- 19.1.2 La paziente potrà inoltre ritirarsi dallo studio in ogni momento senza alcun pregiudizio per i suoi diritti di paziente. In tal caso, la paziente dovrà essere curata col miglior trattamento alternativo disponibile.
- 19.1.3 Lo sperimentatore assicurerà che tutte le procedure di verifica dei dati clinici vengano effettuate solo da personale autorizzato e nel rispetto dei diritti del malato; in particolare, l'identità del malato sarà mantenuta riservata.

## **20.0 Determinazioni Molecolari**

### **20.1.1 Analisi di espressione dei geni coinvolti nei pathway angiogenetici del VEGF e di NOTCH in campioni tissutali**

La misurazione dell'espressione dei geni VEGF, VEGF2, HIF-1 alpha, MMP-9 e di altri geni correlati al processo angiogenetico, quali Notch e Delta-like 4 (Dll4) verrà effettuata in tutti i campioni tissutali raccolti attraverso metodica di PCR quantitative in real-time.

A tal scopo dai campioni verrà estratto l'RNA totale che, in seguito a trattamento con DNAsi sarà soggetto a trascrizione inversa come indicato da procedure standard. Le amplificazioni in real-time PCR saranno realizzate in triplicato utilizzando l'ABI 7900HT Detection System (Applied Biosystems). Verrà anche misurata l'espressione di due geni *housekeeping* di riferimento per la normalizzazione dei livelli di espressione. L'analisi dei dati molecolari verrà effettuata mediante un approccio di quantificazione assoluta utilizzando diluizioni seriali di plasmidi ingegnerizzati contenenti i frammenti genici relativi ai geni di interesse. Infine, i dati molecolari ottenuti saranno correlati alle caratteristiche cliniche dei pazienti arruolati nello studio allo scopo di verificare eventuali associazioni con l'efficacia del trattamento in termini di ripresa di malattia e sopravvivenza. Ancora si realizzeranno correlazioni statistiche fra i livelli degli mRNA dei geni target ed i parametri caratteristici della patologia.

### **20.1.2 Analisi di espressione dei geni coinvolti nei pathway angiogenetici del VEGF e NOTCH nelle cellule tumorali circolanti**

Lo scopo di questa attività è di verificare se la determinazione quantitativa dell'mRNA di alcuni geni coinvolti nei pathway angiogenetici del VEGF e di Notch nel siero può rappresentare un indice delle cellule tumorali disseminate circolanti nel sangue periferico, e quindi costituire un indicatore utile per la prognosi dei pazienti metastatici affetti da carcinoma colo-rettale. A tale scopo dal sangue periferico di ciascun campione verrà estratto l'RNA totale che, in seguito a trattamento con DNasi, verrà sottoposto a trascrizione inversa secondo procedure standard. Le amplificazioni in PCR quantitativa saranno realizzate in triplicato essenzialmente come descritto nella sezione 20.1.1

### **20.1.3 Procedura di raccolta materiale biologico.**

Per ogni paziente arruolato nello studio si raccoglieranno due distinte tipologie di materiale biologico (sangue periferico e tessuto) da pazienti affetti da carcinoma colo-rettale sottoposti a trattamento con bevacizumab. Per la componente tissutale si raccoglieranno sia prelievi biotici di carcinomi colo-rettali, sia espianti successivi a resezione chirurgica, sia tessuti tumorali inclusi in paraffina, oltre a tessuto sano corrispondente, ove possibile. La raccolta del materiale avverrà in provette per criogenia contenenti 5 ml di *RNAlater* e conservate a -20°C fino a processamento del materiale biologico. I campioni di tessuto così stoccati potranno essere spediti nelle stesse provette di raccolta in ghiaccio secco all'IRCCS "Casa Sollievo della Sofferenza" per il processamento e le determinazioni molecolari.

La raccolta di sangue periferico da ciascun paziente avverrà prima dell'inizio del primo trattamento e ad ogni rivalutazione della malattia (ogni 4 cicli). Ciascun prelievo consisterà in 10 ml di sangue periferico in provette contenenti EDTA, dopo aver eliminato i primi 5ml prelevati per evitare eventuali contaminazioni da cellule epiteliali. Le cellule mononucleari del sangue periferico (PBMC) verranno isolate in Ficoll-Hypaque density gradient ( $d=1,077$  g/mol), tramite centrifugazione a 1800 rpm per 30 min. Il PBMC verrà poi sottoposto a tre lavaggi con PBS e centrifugato a 1500 rpm per 10 min. Il cytospin così ottenuto verrà fatto essiccare e conservato a -80°C fino all'utilizzo. I campioni di cytospin così stoccati potranno essere spediti nelle stesse provette di stoccaggio in ghiaccio secco all'IRCCS "Casa Sollievo della Sofferenza" per il processamento e le determinazioni molecolari.

## 20.0 Analisi statistica

### 20.1.1 Disegno Sperimentale

Lo studio è un trial randomizzato controllato di fase II per la valutazione dell'efficacia e della tollerabilità di del trattamento con BEVACIZUMAB+XELOX2 in pazienti affetti da carcinoma colo-rettale.

### 20.1.2 Stima della dimensione del campione

Un campione di 80 pazienti permette una valutazione adeguata, con potenza statistica pari a 0.90, dell'endpoint primario inteso come tasso di risposta al trattamento del 48% fissato un errore di I specie  $\alpha=0.05$ . Il trattamento verrà dichiarato efficace quando almeno 32 pazienti risponderanno (completamente o parzialmente) al trattamento. Si è adottato un disegno a due stadi seguendo l'approccio di Simon(30). Il primo stadio richiede almeno 15 risposte al trattamento nei primi 46 pazienti affinché lo studio possa proseguire avendo raggiunto un effetto minimo clinicamente accettabile del 32% come tasso di risposta. Il secondo stadio prevede l'arruolamento dei restanti 34 pazienti.

Sebbene l'obiettivo dello studio non consista nel confronto tra le due linee farmacologiche, una randomizzazione 1:2 sarà utilizzata per allocare i pazienti tra i due bracci al fine di ridurre il bias di selezione. Al tal fine, 120 pazienti che rispetteranno i criteri di inclusione verranno arruolati e randomizzati.

Al fine di mantenere la stessa potenza statistica per l'analisi dei sottogruppi secondo la mutazione del gene K-RAS (obiettivo secondario), la dimensione campionaria sarà elevata del 10% e rispettivamente ad 88 pazienti per il braccio sperimentale ed a 132 pazienti quella totale. Seguendo l'approccio di Brookes et al. (2004, 31), ipotizzando una risposta al trattamento pari al 44% e al 56% rispettivamente nei pazienti KRAS mutati e nei pazienti KRAS non mutati, l'effetto di interazione sarà stimabile con una potenza del 90% fissato l'errore di I specie al 5%.

Al termine dei 12 cicli di terapia previsti, i pazienti di ciascun braccio verranno randomizzati con uno schema 1:1 tra le due terapie di mantenimento.

### 20.1.3 Metodi Statistici

Le caratteristiche di base dei pazienti reclutati verranno riportate come numerosità totale, media  $\pm$ deviazione standard, mediana e range interquartile o frequenze e percentuali a seconda della natura della variabile. Eventuali differenze al baseline tra gruppi saranno statisticamente verificate con l'utilizzo del test Chi-quadrato o del test esatto di Fisher per variabili categoriche e con l'utilizzo del Mann-Whitney U-test, del Kruskal-Wallis test, del t-test e dell'ANOVA per quelle continue.

La scelta di applicare test parametrici o non-parametrici sarà conseguente ai risultati dei test di normalità di Shapiro-Wilk e di Kolmogorov-Smirnov, oltreché dall'analisi grafica dell'istogramma e della densità stimata con un

kernel non-parametrico. Saranno possibili trasformazioni affini dei dati con lo scopo di catturare una possibile normalità nella distribuzione degli stessi. La sopravvivenza totale verrà misurata dalla data di randomizzazione alla data di morte per qualsiasi causa.

Il tempo alla progressione di malattia verrà misurato dalla data di randomizzazione alla prima evidenza di progressione di malattia o alla data di morte se non nessuna progressione verrà documentata prima.

I modelli statistici di sopravvivenza verranno stimati usando il metodo di Kaplan-Meier e la diversità tra gruppi attraverso il log-rank test. Il modello a rischi proporzionali di Cox verrà utilizzato per stimare modelli multivariati: i rischi verranno presentati in termini di hazard ratio con relativi intervalli di confidenza al 95%.

Differenziali di risposta al trattamento verranno stimati attraverso opportuni utilizzi del modello lineare generalizzato.

I risultati saranno considerati statisticamente significativi per valori di p-value minori di 0.05. Le analisi verranno condotte mediante l'utilizzo del software SAS (Versione 9.1, SAS Institute, Cary, NC, USA) e il software R - Language and environment for statistical computing (Versione 2.8.1).

### **21.0 Basi molecolari della risposta al trattamento con Bevacizumab in pazienti affetti da colon retto.**

L'angiogenesi rappresenta uno dei fenomeni chiave nella progressione del carcinoma del colon retto e si realizza attraverso la modulazione di numerosi pathway molecolari implicati nella formazione e sviluppo dei vasi sanguigni (Folkman et al., 2007) e costituisce ad oggi uno dei target terapeutici più validi in oncologia. Il VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) riveste in questo contesto un ruolo chiave, costituendo il target principale di alcuni agenti anti-angiogenetici introdotti nella pratica clinica, quali il Bevacizumab (Avastin), (Zheng et al., 2003; Des Guetz et al., 2006). Nonostante la chiara efficacia antitumorale che le terapie anti-VEGF hanno mostrato nel trattamento di diversi tumori solidi (Collins et al., 2005; Carmeliet, 2005), in particolare in combinazione con terapie citotossiche convenzionali, gli eventi molecolari alla base del loro meccanismo di azione restano ancora poco chiari.

Lo studio si propone di condurre un'approfondita indagine molecolare atta a chiarire il ruolo del VEGF e dei suoi principali interattori nell'ambito della risposta al trattamento con Bevacizumab in pazienti metastatici affetti da carcinoma del colon retto.

A tal scopo verrà indagata l'espressione del VEGF, VEGF2, HIF-1alpha, MMP-9 e di altri geni appartenenti ad altri pathway correlati al processo angiogenetico, quali Notch and Delta-like 4 (Dll4) in tessuti tumorali e di VEGF, HIF1-alpha e Notch nelle cellule tumorali circolanti di pazienti affetti da carcinoma del colon retto e sottoposti a trattamento con bevacizumab. Lo studio di espressione sarà condotto in real-time PCR e l'analisi dei dati molecolari verrà effettuata mediante un approccio di quantificazione assoluta utilizzando diluizioni seriali di plasmidi ingegnerizzati contenenti i frammenti genici relativi ai geni di interesse. Infine, i dati molecolari ottenuti saranno correlati alle caratteristiche cliniche dei pazienti arruolati nello studio allo scopo di verificare eventuali associazioni con l'efficacia del trattamento in termini di ripresa di malattia e sopravvivenza.

**ALLEGATO 1**  
**CRITERI COMUNI (NCIC-CTC) DI VALUTAZIONE DELLA TOSSICITA'**

Tossicità	0	1	Grado 2	3	4
<b>Ematologia</b>					
<b>GB</b>	≥ 4.0	3.0-3.9	2.0-2.9	1.0-1.9	< 1.0
<b>PLT</b>	Nei limiti	75.0-normale	50.0-74.9	25.0-49.9	< 25.0
<b>Hb</b>	WNL	10.0-normale	8.0-10.0	6.5-7.9	< 6.5
<b>Granulociti</b>	≥ 2.0	1.5-1.9	1.0-1.4	0.5-0.9	< 0.5
<b>Linfociti</b>	≥ 2.0	1.5-1.9	1.0-1.4	0.5-0.9	< 0.5
<b>Emorragia (clinica)</b>					
	Assente	Lieve, non necessita trasfusione	Abbondante, 1-2 unità per episodio	Abbondante, 3-4 unità per episodio	Massiva, > 4 unità per episodio
<b>Infezione</b>					
	Assente	Lieve	Moderata	Severa	Pericolo di vita
<b>Gastrointestinale</b>					
<b>Nausea</b>	Assente	Alimentazione sufficiente	Alimentazione molto diminuita	Alimentazione non significativa	-
<b>Vomito</b>	Assente	1 episodio in 24 ore	2-5 episodi in 24 ore	6-10 episodi in 24 ore	> 10 episodi in 24 ore o necessità di supporto parenterale
<b>Diarrea</b>	Assente	Più di 2-3 evacuazioni/die rispetto a pre-CT	Più di 4-6 evacuazioni/die, o scariche notturne, o crampi moderati	Più di 7-9 evacuazioni/die, o incontinenza, o crampi severi	Più di 10 evacuazioni/die, o diarrea sanguinolenta o necessità di supporto parenterale
<b>Stomatite</b>	Assente	Ulcere non dolenti, eritema o lieve dolenzia	Eritema, edema o ulcere dolenti, può alimentarsi	Eritema, edema o ulcere dolenti, non può alimentarsi	Necessità di supporto parenterale o enterale
<b>Fegato</b>					
<b>Bilirubina</b>	Nei limiti	-	< 1.5 x N	1.5-3.0 x N	> 3.0 x N
<b>Transaminasi (SGOT, SGPT)</b>	Nei limiti	≤ 2.5 x N	2.6-5.0 x N	5.1-20.0 x N	> 20.0 x N
<b>Fosfatasi alcalina o 5' nucleotidasi</b>	Nei limiti	≤ 2.5 x N	2.6-5.0 x N	5.1-20.0 x N	> 20.0 x N
<b>Clinica</b>	Nessuna variazione	-	-	Precoma	Coma epatico
<b>Rene, vescica</b>					
<b>Creatinina</b>	Nei limiti	< 1.5 x N	1.5-3.0 x N	3.1-6.0 x N	> 6.0 x N

<b>Proteinuria</b>	Nessuna variazione	1+ or < 0.3 g% or < 3 g/l	2 - 3 + or 0.3-1.0 g% or 3 - 10 g/l	4+ or >1.0 g% or > 10 g/l	Sindrome Nefrosica
<b>Ematuria</b>	Assente	Microematuria	Macroematuria, coaguli assenti	Macroematuria + coaguli	Necessarie trasfusioni

Tossicità	Grado				
	0	1	2	3	4
<b>Alopecia</b>	Nessuna variazione	Minima perdita di capelli	Alopecia notevole o Completa	-	-

<b>Polmonare</b>	Assente o nessuna variazione	Asintomatica, prove di funzionalità resp. Normali	Dispnea dopo sforzo notevole	Dispnea durante le normali attività	Dispnea a riposo
------------------	------------------------------	---	------------------------------	-------------------------------------	------------------

<b>Cardiologica</b>					
Aritmie cardiache	Assenti	Asintomatiche, transitorie, non richiedono terapia	Ricorrenti o persistenti, non richiedono trattamento	Richiedono trattamento	Richiedono monitoraggio; o ipotensione o tachicardia ventricolare o fibrillazione
Funzione cardiaca	Nessuna alterazione	Diminuzione asintomatica della LVEF a riposo < 20% del valore basale	Diminuzione asintomatica della LVEF a riposo > 20% del valore basale	Lieve insufficienza cardiaca responsiva alla terapia	Insufficienza cardiaca grave o refrattaria
Ischemia cardiaca	Assente	Appiattimento aspecifico delle onde T	Asintomatica, modificazioni della onda T e del tratto ST suggestivi di ischemia	Angina senza evidenza di infarto	Infarto acuto del miocardio
Cardio-pericardica	Assente	Versamento asintomatico, non richiede trattamento	Pericardite (sfregamenti, dolore precordiale, modificazioni ECG)	Versamento sintomatico; necessario drenaggio	Tamponamento; necessità urgente di drenaggio

<b>App. Circolatorio</b>					
Ipertensione	Assente o nessuna variazione	Asintomatica, incremento transitorio > 20 mmHg (D) o fino a > 150/100 se prima nei limiti. Non richiede trattamento	Incremento ricorrente o persistente > 20 mmHg (D) o fino a > 150/100 se prima nei limiti. Non richiede trattamento	Richiede trattamento	Crisi ipertensiva
Ipotensione	Assente o nessuna variazione	Non richiede trattamento (inclusa ipotensione transitoria ortostatica)	Necessità di fluidoterapia o altra terapia, ma non di ospedalizzazione	Necessità di terapia e ospedalizzazione; risoluzione entro 48 ore dalla sospensione dell'agente causale	Necessità di terapia e ospedalizzazione per più di 48 ore dalla sospensione dell'agente causale

Tossicità	Grado				
	0	1	2	3	4

<b>Neurologica</b>					
Neurosensoriale	Assente o nessuna variazione	Lievi parestesie, perdita dei riflessi tendinei profondi	Perdita lieve o moderata della sensibilità; parestesie moderate	Perdita grave della sensibilità o parestesie che interferiscono con le funzioni motorie	-
Neuromotoria	Assente o nessuna variazione	Debolezza soggettiva; nessun riscontro obiettivo	Lieve debolezza oggettiva senza deficit funzionale	Debolezza obiettiva con ridotta funzione	Paralisi
Neurocorticale	Assente	Lieve sonnolenza o agitazione	Moderata sonnolenza o agitazione	Grave sonnolenza, agitazione, confusione, disorientamento, allucinazioni	Coma, convulsioni, psicosi tossica
Neurocerebellare	Assente	Lieve incoordinazione adiadococinesia	Tremori intenzionali, dismetria, dislalia, nistagmo	Atassia locomotoria	Necrosi cerebellare
Tono dell'umore	Nessuna variazione	Ansietà o depressione lieve	Ansietà o depressione moderata	Ansietà o depressione Grave	Idee di suicidio
Cefalea	Assente	Lieve	Moderata o grave ma transitoria	Grave e continua	-
Stipsi	Assente o nessuna variazione	Lieve	Moderata	Grave	Ileo paralitico > 96 ore
Udito	Assente o nessuna variazione	Asintomatica, deficit uditivo solo all'audiometria	Tinnito	Deficit uditivo che interferisce con le normali funzioni, ma correggibile con apparecchio acustico	Sordità non correggibile
Visus	Assente o nessuna variazione	-	-	Deficit visivo subtotale sintomatico	Cecità

<b>Dermatologica</b>					
Cutanea	Assente o nessuna variazione	Eruzione maculare o papulare sparsa o eritema asintomatico	Eruzione maculare o papulare sparsa o eritema con prurito o con altri sintomi associati	Eruzione maculare, papulare o vescicolare sintomatica e generalizzata	Dermatite esfoliativa e ulcerativa
Locale	Assente	Dolore	Dolore con gonfiore con infiammazione o flebite	Ulcerazione	Indicata chirurgia plastica

<b>Allergia</b>	Assente	Rash transitorio, febbre da farmaci < 38° C, 100.4 F	Orticaria, febbre da farmaci=38°C, 100.4°F lieve broncospasmo	Malattia da siero, broncospasmo, necessità di terapia parenterale	Anafilassi
<b>Febbre senza infezione</b>	Assente	37.1-38.0°C 98.7-100.4°F	38.1-40.0°C 100.5-104.0°F	>40.0°C >104.0°F per più di 24 ore	>40.0°C (104.0°F) per più di 24 ore o febbre con ipotensione

<b>Tossicità</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>Grado 2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
------------------	----------	----------	--------------------	----------	----------

<b>Aumento/perdita di peso</b>	< 5.0%	5.0-9.9%	10.0-19.9%	≥ 20.0%	-
------------------------------------	--------	----------	------------	---------	---

<b>Metabolica</b>					
Iperglicemia	< 116	116-160	161-250	251-500	> 500 o cheto acidosi
Ipoglicemia	> 64	55-64	40-54	30-39	< 30
Amilasi	Nei limiti	< 1.5 x N	1.5-2.0 x N	2.1-5.0 x N	≥ 5.1 x N
Ipercalcemia	< 10.6	10.6-11.5	11.6-12.5	12.6-13.5	≥ 13.5
Ipocalcemia	> 8.4	8.4-7.8	7.7-7.0	6.9-6.1	≤ 6.0
Ipomagnesemia	> 1.4	1.4-1.2	1.1-0.9	0.8-0.6	≤ 0.5

<b>Coagulazione</b>					
Fibrinogeno	Nei limiti	0.99-0.75 x N	0.74-0.50 x N	0.49-0.25 x N	≤ 0.24 x N
Tempo di protrombina	Nei limiti	1.01-1.25 x N	1.26-1.50 x N	1.51-2.00 x N	>2.00 x N
Tempo di tromboplastina parziale	Nei limiti	1.01-1.66 x N	1.67-2.33 x N	2.34-3.00 x N	> 3.00 x N

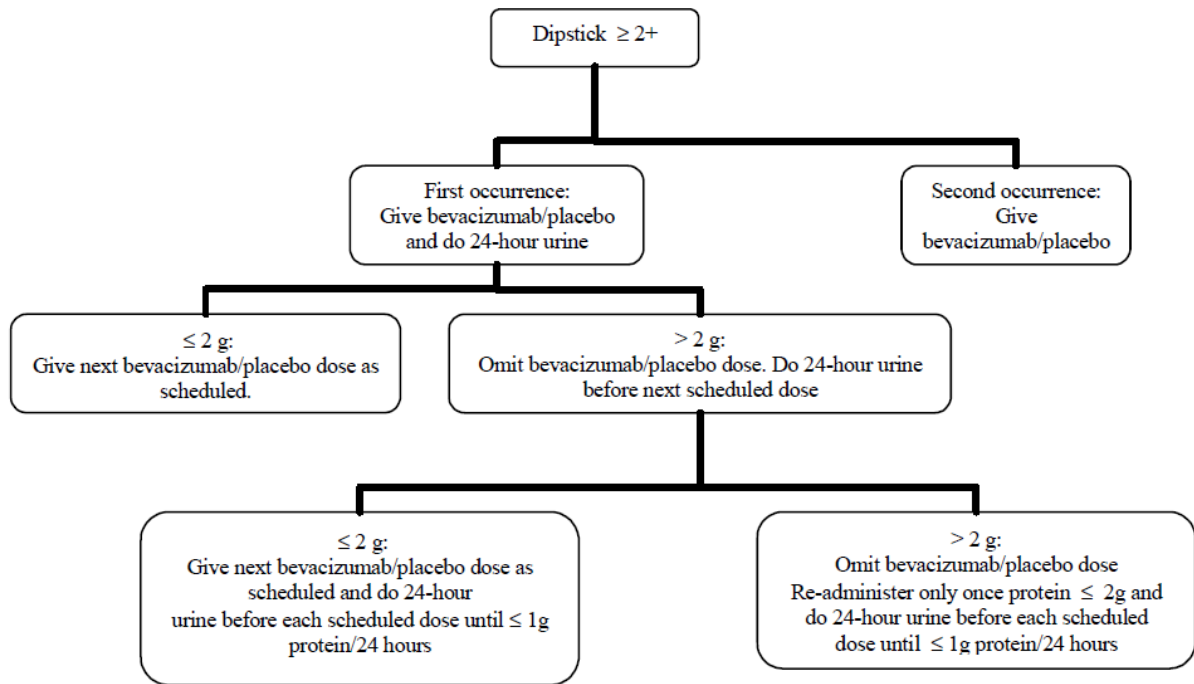


**Allegato 2****THE SPECIFIC GRADING SYSTEM OF LEVI' FOR  
NEUROSENSORY TOXICITY**

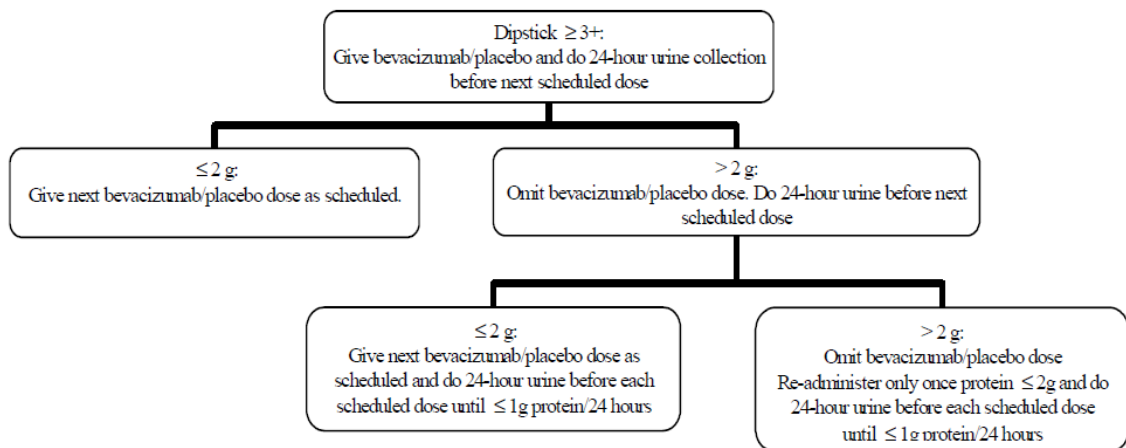
<i>GRADO</i>	<i>DESCRIZIONE</i>
<i>0</i>	assenza di parestesia e/o disestesia
<i>1</i>	Parestesia e/o disestesia indotta dal contatto con il freddo che si risolve entro 1 settimana
<i>2</i>	Parestesia e/o disestesia che si risolve entro 21 giorni
<i>3</i>	Parestesia e/o disestesia che non si risolve entro i 21 giorni
<i>4</i>	Parestesia e/o disestesia con compromissione funzionale

## ALLEGATO 3

### Algorithm for Proteinuria (dipstick) $\geq 2+$



### Algorithm for Proteinuria (dipstick) $\geq 3+$



**ALLEGATO 4****TRATTAMENTO DI I LINEA CON BEVACIZUMAB + XELOX2 O FOLFOX4 NEL CARCINOMA COLORETTALE.****STUDIO DI FASE II RANDOMIZZATO****SCHEMA DI RANDOMIZZAZIONE**

Paziente: \_\_\_\_\_

Codice \_\_\_\_\_

Centro: \_\_\_\_\_

Data nascita: \_\_/\_\_/\_\_\_\_

Responsabile: \_\_\_\_\_

PS(WHO): \_\_\_\_\_

CRITERI DI INCLUSIONE			CRITERI DI ESCLUSIONE		
	SI	NO		SI	NO
Carcinoma colo-rettale istologicamente accertato			Precedente chemioterapia per malattia metastatica		
Eta 18-75 anni			Metastasi cerebrali sintomatiche		
PS(WHO) ≤2			Neuropatie preesistenti		
Malattia al IV stadio – Almeno una lesione misurabile			Concomitanti malattie gravi (cardiovascolari, renali, epatiche, etc.)		
Eventuale precedente chemioterapia adiuvante e/o neoadiuvante terminata da almeno 6 mesi			Altre neoplasie in fase attiva (eccetto carcinoma cutaneo baso- spinocellulare e carcinoma in situ della cervice adeguatamente trattati		
Aspettativa di vita ≥ 3 mesi;			Anamnesi di infarto acuto del miocardio negli ultimi 12 mesi o segni clinici rilevanti di coronaropatia;		
Adeguata funzionalità midollare (GB ≥ 4.000/mm <sup>3</sup> , neutrofilo ≥ 2.000/mm <sup>3</sup> ; piastrine ≥ 100.000/mm <sup>3</sup> ), epatica (bilirubina ≤ 1.5mg%), renale (creatinemia ≤1.2mg%)			Presenza di infarto in fase attiva, scompenso cardiaco o grave aritmia non controllata farmacologicamente;		
Proteinuria con stick urinario <2+, se ≥2+ occorre eseguire dosaggio della proteinuria delle 24 ore ed essere <1 gr di proteine nelle urine delle 24 ore.			Occlusione intestinale acuta o subacuta o anamnesi di malattia infiammatoria del colon;		
Test di gravidanza negativo			Pazienti con neuropatia periferica (NCI CTC ≥ 1);		
			Evidenza di diatesi emorragica o coagulopatia		
			Iperensione arteriosa non controllata		
			Assunzione a scopo terapeutico da meno di 10 giorni di anticoagulanti		
			Assunzione cronica giornaliera di aspirina a dosi elevate (>325 mg/day)		
			Procedure chirurgiche, biopsia a cielo aperto o significativi traumi entro i 28 giorni dall'inizio dello studio		

CONSENSO INFORMATO firmato in data: \_\_/\_\_/\_\_\_\_

RANDOMIZZAZIONE

DATA

\_\_/\_\_/\_\_\_\_

TRATTAMENTO ASSEGNATO

 **BRACCIO A: FOLFOX4+BEVACIZUMAB** **BRACCIO B: XELOX2+BEVACIZUMAB**

## **ALLEGATO 5**

### **CONSENSO INFORMATO (PROT. GOIM 2802)**

#### **TRATTAMENTO DI I LINEA CON BEVACIZUMAB + XELOX2 O FOLFOX4 NEL CARCINOMA COLORETTALE. STUDIO DI FASE II RANDOMIZZATO**

##### Informazioni per il/la paziente

Gentile Sig./sig.ra,  
presso questa Divisione ed in collaborazione con altri centri è in corso un programma di ricerca clinica che ha come obiettivo la verifica dell'efficacia e della tollerabilità di due differenti associazioni di farmaci, considerati attivi nella Sua malattia. La durata prevista dello studio è di 2 anni.

Tale protocollo sperimentale è stato redatto in conformità alle indicazioni delle "Raccomandazioni a guida dei medici nelle ricerche biomediche che coinvolgono soggetti umani", Dichiarazione di Helsinki dell'Associazione Medica Mondiale e delle "Norme di Buona Pratica Clinica" della Comunità Economica Europea, ed è stato approvato dal Comitato Etico dell'Ospedale in cui è in trattamento.

Se Lei accetta di partecipare a questo studio sarà sottoposta ad una prima visita per verificare che le Sue condizioni soddisfino i criteri richiesti dallo studio, comprendente un esame clinico, un prelievo di sangue, un elettrocardiogramma, un ecocardiogramma, una radiografia o una TC del torace, una Tac addominale, una scintigrafia ossea e, solo se necessari, altri esami strumentali come Risonanza Magnetica o altri esami radiologici.

Il trattamento che Lei riceverà sarà determinato mediante un procedimento chiamato randomizzazione: ciò significa che il trattamento non sarà scelto né da Lei né dal suo medico curante, ma a caso. In ogni evenienza Lei riceverà un trattamento adeguato per la Sua malattia.

In particolare il trattamento potrebbe essere effettuato o con l'associazione di Capecitabina (2000mg/mq die per os dal giorno 1 al giorno 7) + Oxaliplatino (100 mg/mq e.v. il 1° giorno) + Bevacizumab (5 mg/kg e.v.) con cicli ripetuti ogni 2 settimane (Braccio A: Xelox2+Bevacizumab) oppure con l'associazione 5Fluorouracile (400 mg/mq push al giorno 1,2 e 600 mg/mq in infusione continua di 48 ore) + Calcio Levofolinato (100 mg/mq e.v. al giorno 1,2) + Oxaliplatino (85 mg/mq e.v. il 1° giorno) + Bevacizumab (5 mg/kg e.v.) con cicli ripetuti ogni 2 settimane (Braccio B: Fofox4+Bevacizumab). Sono tutti farmaci ritenuti attivi nel trattamento della Sua malattia, in grado di determinare un miglioramento obiettivo in più del 50% dei casi.

Lo schema FOLFOX+Bevacizumab (Oxaliplatino + Fluorouracile e Acido Folinico+Bevacizumab) e' considerato uno standard di trattamento nel carcinoma colorettale avanzato i cui risultati in termini di risposte obiettive e sopravvivenza sono ormai consolidati. Per questo trattamento è necessario posizionare un catetere venoso centrale.

Lo schema XELOX2+Bevacizumab utilizza, in sostituzione del fluorouracile + acido folinico, la Capecitabina, un farmaco che ha dimostrato in ampi studi di essere almeno equivalente a fluorouracile + acido folinico, con un migliore profilo di tossicità. La Capecitabina inoltre, somministrata insieme all'Oxaliplatino in alcune esperienze cliniche ha mostrato di essere attiva e ben tollerata. Per questo trattamento NON è necessario posizionare un catetere venoso centrale.

Al termine dei cicli di trattamento previsti (massimo 12 cicli), in caso di malattia responsiva o stabile, è prevista una seconda randomizzazione a ricevere una terapia di mantenimento con capecitabina + bevacizumab o con solo bevacizumab (se appartenente al Braccio A: Xelox2+Bevacizumab) e con 5 Fluorouracile + Calcio Levofolinato secondo schema De Gramont + bevacizumab o con solo bevacizumab (se appartenente al Braccio B: Fofox4+Bevacizumab) fino a progressione e/o tolleranza.

Lo studio si propone inoltre di valutare le possibili correlazioni tra le determinazioni molecolari dei livelli di espressione dei geni appartenenti ad alcune pathways molecolari e la risposta al trattamento con bevacizumab nei pazienti con carcinoma colo-rettale avanzato non pretrattato. A tal fine verranno effettuate misurazioni dell'espressione di alcuni geni (VEGF, VEGF2, HIF-1 alpha, MMP-9 e di altri geni correlati al processo angiogenetico, quali Notch e Delta-like 4 (Dll4) su campioni di tessuto tumorale (provenienti da prelievi biotici, o campioni di resezione chirurgica, o tessuti tumorali inclusi in paraffina) e su campioni di tessuto sano corrispondente.

Inoltre sarà effettuato un prelievo di sangue all'inizio del trattamento e ripetuto ogni 4 cicli, per l'analisi (su siero) dell'espressione di alcuni geni coinvolti nelle pathways angiogenetiche del VEGF e NOTCH nelle cellule tumorali circolanti per valutare la possibile correlazione prognostica in pazienti affetti da carcinoma colo-rettale metastatico.

Se in futuro si deciderà di eseguire ulteriori analisi su i suoi campioni, sarà richiesto, prima di eseguire qualsiasi altro esame, un consenso a Lei o al Comitato Etico dell'Istituzione in cui verrà trattato.

Tutte le suddette determinazioni verranno effettuate presso il Laboratorio di Ricerca dell'Unità Operativa di Oncologia dell'IRCCS Casa Sollievo della Sofferenza

Consideri comunque che qualsiasi informazione ed i risultati ottenuti dallo studio saranno, in futuro, utili anche a pazienti affette dalla Sua stessa malattia.

Per valutare gli effetti collaterali indotti dal trattamento e l'andamento della malattia, sarà necessario sottoporLa periodicamente ad alcuni esami di sangue ed accertamenti diagnostici (radiografie, TC, scintigrafie, consulenze specialistiche).

Questi farmaci di solito sono ben tollerati. I più comuni effetti collaterali legati all'utilizzo di Oxaliplatino in associazione a Capecitabina sono rappresentati dalla diarrea, dalla neutropenia (cosa che potrebbe renderla più suscettibile alle infezioni) e, specificatamente per l'Oxaliplatino (presente in entrambi i bracci di trattamento), dalla neuropatia periferica (il sintomo maggiore è rappresentato da una disestesia faringo-laringea, spesso scatenata dal contatto con il freddo). E' possibile osservare anche vomito, stomatite, caduta dei capelli nonché diminuzione delle piastrine e dei globuli rossi.

La Capecitabina può determinare la comparsa di una sindrome mano-piede nota come “hand-foot syndrome” o “eritrodismetesia palmo-plantare”, caratterizzata da arrossamento delle dita delle mani e dei piedi con possibile comparsa di prurito e desquamazione della cute.

Il bevacizumab, (presente in entrambi i bracci di trattamento), può essere responsabile di emorragia, trombosi perforazione gastrointestinale. Tossicità meno severe sono state proteinuria, ipertensione, febbre, brividi, cefalea, infezioni, epistassi e ulcerazioni della bocca.

Per tutti gli effetti collaterali che si manifestano Lei deve sapere che saranno messi in atto tutti i presidi terapeutici atti a controllare tali disturbi.

Gli effetti tossici dei trattamenti chemioterapici sono generalmente transitori e regrediscono con la sospensione del trattamento. In alcuni casi può essere necessaria una riduzione delle dosi dei farmaci nelle somministrazioni dei cicli successivi.

Comunque, per qualsiasi evenienza, Lei potrà contattare i medici della Divisione tenendo presente che la struttura è in grado di intervenire ed è a disposizione per qualsiasi manifestazione avversa.

Se lei è una donna in età fertile non deve iniziare una gravidanza durante il periodo di sperimentazione e per i 12 mesi successivi, in quanto sono accertati effetti pericolosi per il feto. A questo proposito, e qualora lo desiderasse, presso questo Istituto le potranno essere insegnati i metodi di regolamentazione naturale della fertilità. Se iniziasse una gravidanza, deve comunque darne immediata informazione al medico responsabile. Nel caso lei sia già in gravidanza o in allattamento non potrà partecipare a questo studio e dovrà comunicarlo al responsabile della sperimentazione affinché venga definito il trattamento migliore per lei e per il suo bambino.

I medici della Divisione sono comunque a disposizione per illustrare eventuali terapie alternative.

Tutte le informazioni relative al Suo caso saranno strettamente confidenziali, coperte dal segreto professionale e trattate secondo la legge 196/2003 sulla tutela della privacy. Tuttavia, i suoi dati personali potranno essere esaminati dalle autorità competenti e da persone appositamente autorizzate, fermo restando che non saranno resi pubblici, nel rispetto del diritto alla riservatezza tutelato dalla normativa vigente. La informiamo, inoltre del Suo diritto ad avere libero accesso alla documentazione relativa alla sperimentazione cui parteciperà (assicurativa, clinico-scientifica, farmaco-terapeutica).

Lei sarà tempestivamente informata qualora divengano disponibili informazioni che possano influenzare la Sua volontà a continuare la partecipazione allo studio.

È Suo diritto rivolgersi direttamente al Comitato Etico dell'Ospedale in cui è in cura per segnalare ogni difformità tra il trattamento che Le viene somministrato e le informazioni ricevute prima di prestare il proprio consenso.

L'adesione a questo programma di ricerca è completamente volontaria e potrà da Lei essere ritirata in qualsiasi momento. Qualora decidesse di non prendervi parte, questo non influirà sulla assistenza che riceverà.

La terapia potrà essere interrotta se il medico constaterà che Lei non ha tratto alcun giovamento o che sono intervenuti eccessivi effetti collaterali. Lei sarà tempestivamente informata circa ulteriori trattamenti validi per la Sua malattia e potrà discuterne con il medico.

La partecipazione alla sperimentazione non comporta alcun onere finanziario e non prevede alcun compenso.

Nel caso Lei decidesse di partecipare allo studio, Lei sarà coperta da una polizza assicurativa per responsabilità civile a garanzia di eventuali danni derivanti dalla partecipazione allo studio stesso.

Per ulteriori informazioni e comunicazioni durante lo studio saranno a disposizione i seguenti medici:

---

**ALLEGATO 6****TRATTAMENTO DI I LINEA CON BEVACIZUMAB + XELOX2 O FOLFOX4 NEL CARCINOMA COLORETTALE. STUDIO DI FASE II RANDOMIZZATO****DICHIARAZIONE DEL CONSENSO**

Io, sottoscritto/a \_\_\_\_\_  
dichiaro quanto segue

-Di aver letto le informazioni sopra riportate e di avere ricevuto dal Dr. \_\_\_\_\_ esaurienti spiegazioni con l'opportunità di discutere, porre domande e capire completamente il significato della scheda informativa, copia della quale mi è stata consegnata in data \_\_\_\_\_ alle ore \_\_\_\_.

-Di essere stato/a informato/a, inoltre, del mio diritto ad avere libero accesso alla documentazione (farmaco-terapeutica, clinico-scientifica, assicurativa) relativa alla ricerca ed alla valutazione espressa dal Comitato Etico.

-Di acconsentire liberamente di partecipare, senza pregiudizio dei diritti legali ed etici, a questo studio, avendo compreso completamente il significato della richiesta ed i rischi ed i benefici che possono derivare da tale partecipazione.

-Di comprendere che questo consenso è valido anche in base al Decreto Legislativo Italiano n. 196/03 "Codice sulla protezione dei dati personali" per il trattamento e la comunicazione dei dati relativi ai pazienti che accettano di partecipare a degli studi clinici (ultimo aggiornamento Linee Guida del Garante Italiano della Privacy datate 24 luglio 2008 – Gazzetta Ufficiale 14 agosto 2008) come riportato nell'allegato 1 "Nota informativa per la tutela dei dati personali" e quindi accetto di lasciare che i miei dati personali siano verificati e inclusi nelle banche dati collegate allo studio sopra citato da parte di personale dedicato che tratterà i dati di cui sopra con una modalità strettamente confidenziale, senza fare alcun riferimento personale o violare la natura confidenziale dei dati. Se i risultati dello studio clinico saranno pubblicati, la mia identità non sarà mai rivelata.

-Di essere consapevole del fatto i miei dati dello studio potrebbero essere processati e/o comunicati a personale delegato dalla ditta Proprietaria del Trattamento dei Dati, alle Autorità Ministeriali e ai Comitati Etici, mantenendo i criteri di confidenzialità e di sicurezza descritti nelle normative, e unicamente per gli scopi per cui è stato rilasciato questo consenso.

-Di essere stato informato del fatto che possono mettermi in contatto in qualsiasi momento con la Persona incaricata del Trattamento dei Dati, indicata a seguire, per esercitare i miei diritti come indicato all'articolo 7 del Decreto Legislativo Italiano n. 196/03.

**Accetto di partecipare allo studio di cui sopra.**

Data.....

Firma del Paziente.....

Data..... Firma del Ricercatore .....



Inoltre, il/la sottoscritto/a \_\_\_\_\_  
dichiara di essere stato informato/a che nell'ambito dello studio sono previsti prelievi di materiale biologico per l'estrazione di materiale genetico da utilizzare, in forma anonima, per l'esecuzione di ricerche genetiche e precisamente:

- un prelievo di sangue all'inizio del trattamento e ripetuto ogni 4 cicli, per l'analisi (su siero) di espressione dei geni coinvolti nelle pathways angiogenetiche del VEGF e NOTCH nelle cellule tumorali circolanti.
- l'utilizzo di sezioni aggiuntive di tessuto tumorale sia di prelievi bioptici di carcinomi colo-rettali, sia di espianti successivi a resezione chirurgica, sia di tessuti tumorali inclusi in paraffina, oltre a tessuto sano corrispondente, per la misurazione dell'espressione dei geni VEGF, VEGF2, HIF-1 alpha, MMP-9 e di altri geni correlati al processo angiogenetico, quali Notch e Delta-like 4 (Dll4).

**Acconsento**    **Non acconsento**

Data.....

Firma del Paziente.....

Data.....   Firma del Ricercatore .....

**ALLEGATO 7****(PROT. GOIM 2802)****TRATTAMENTO DI I LINEA CON BEVACIZUMAB + XELOX2 O  
FOLFOX4 NEL CARCINOMA COLORETTALE.  
STUDIO DI FASE II RANDOMIZZATO**

## Informazioni per il medico curante

Gentile collega,

presso questa Divisione ed in collaborazione con altri centri è in corso un programma di ricerca clinica che ha come obiettivo la verifica dell'efficacia e della tollerabilità di due differenti associazioni di farmaci, considerati attivi nella Sua malattia. La durata prevista dello studio è di 2 anni.

Tale protocollo sperimentale è stato redatto in conformità alle indicazioni delle "Raccomandazioni a guida dei medici nelle ricerche biomediche che coinvolgono soggetti umani", Dichiarazione di Helsinki dell'Associazione Medica Mondiale e delle "Norme di Buona Pratica Clinica" della Comunità Economica Europea, ed è stato approvato dal Comitato Etico dell'Ospedale in cui è in trattamento.

Se il/la suo assistito/a accetta di partecipare a questo studio sarà sottoposto/a ad una prima visita per verificare che le sue condizioni soddisfino i criteri richiesti dallo studio, comprendente un esame clinico, un prelievo di sangue, un elettrocardiogramma, un ecocardiogramma, una radiografia o una TC del torace, una Tac addominale, una scintigrafia ossea e, solo se necessari, altri esami strumentali come Risonanza Magnetica o altri esami radiologici.

Il trattamento che il paziente riceverà sarà determinato mediante un procedimento chiamato randomizzazione: ciò significa che il trattamento non sarà scelto né dal paziente né dal suo medico curante, ma a caso. In ogni evenienza il/la paziente riceverà un trattamento adeguato per la sua malattia.

In particolare il trattamento potrebbe essere effettuato o con l'associazione 5Fluorouracile (400 mg/mq push al giorno 1,2 e 600 mg/mq in infusione continua di 48 ore) + Calcio Levofolinato (100 mg/mq e.v. al giorno 1,2) + Oxaliplatino (85 mg/mq e.v. il 1° giorno) + Bevacizumab (5 mg/kg e.v.) con cicli ripetuti ogni 2 settimane (Braccio A: Fofox4+Bevacizumab) oppure con l'associazione di Capecitabina (2000mg/mq die per os dal giorno 1 al giorno 7) + Oxaliplatino (100 mg/mq e.v. il 1° giorno) + Bevacizumab (5 mg/kg e.v.) con cicli ripetuti ogni 2 settimane (Braccio B: Xelox2+Bevacizumab) . Sono tutti farmaci ritenuti attivi nel trattamento della Sua malattia, in grado di determinare un miglioramento obiettivo in più del 50% dei casi.

Lo schema FOLFOX+Bevacizumab (Oxaliplatino + Fluorouracile e Acido Folinico+Bevacizumab) e' considerato uno standard di trattamento nel carcinoma coloretale avanzato i cui risultati in termini di risposte obiettive e sopravvivenza sono ormai consolidati. Per questo trattamento è necessario posizionare un catetere venoso centrale.

Lo schema XELOX2+Bevacizumab utilizza, in sostituzione del fluorouracile + acido folinico, la Capecitabina, un farmaco che ha dimostrato in ampi studi di essere almeno equivalente a fluorouracile + acido folinico, con un migliore profilo di tossicità. La Capecitabina inoltre, somministrata insieme all'Oxaliplatino in alcune esperienze cliniche ha mostrato di essere attiva e ben tollerata. Per questo trattamento NON è necessario posizionare un catetere venoso centrale.

Al termine dei cicli di trattamento previsti (massimo 12 cicli), in caso di malattia responsiva o stabile, è prevista una seconda randomizzazione a ricevere una terapia di mantenimento con 5 Fluorouracile + Calcio Levofolinato secondo schema De Gramont + bevacizumab o con solo bevacizumab ( se appartenente al Braccio A: Fofox4+Bevacizumab) e con capecitabina + bevacizumab o con solo bevacizumab (se appartenente al Braccio B: Xelox2+Bevacizumab) fino a progressione e/o tolleranza.

Lo studio si propone inoltre di valutare le possibili correlazioni tra le determinazioni molecolari dei livelli di espressione dei geni appartenenti ad alcune pathways molecolari e la risposta al trattamento con bevacizumab nei pazienti con carcinoma colo-rettale avanzato non pretrattato. A tal fine verranno effettuate misurazioni dell'espressione di alcuni geni (VEGF, VEGF2, HIF-1 alpha, MMP-9 e di altri geni correlati al processo angiogenetico, quali Notch e Delta-like 4 (Dl14) su campioni di tessuto tumorale (provenienti da prelievi biotici, o campioni di resezione chirurgica, o tessuti tumorali inclusi in paraffina) e su campioni di tessuto sano corrispondente.

Inoltre sarà effettuato un prelievo di sangue all'inizio del trattamento e ripetuto ogni 4 cicli, per l'analisi (su siero) dell'espressione di alcuni geni coinvolti nelle pathways angiogenetiche del VEGF e NOTCH nelle cellule tumorali circolanti per valutare la possibile correlazione prognostica in pazienti affetti da carcinoma colo-rettale metastatico.

Consideri comunque che qualsiasi informazione ed i risultati ottenuti dallo studio saranno, in futuro, utili anche a pazienti affette dalla stessa malattia.

Per valutare gli effetti collaterali indotti dal trattamento e l'andamento della malattia, sarà necessario sottoporre il/la paziente periodicamente ad alcuni esami di sangue ed accertamenti diagnostici (radiografie, TC, scintigrafie, consulenze specialistiche).

Questi farmaci di solito sono ben tollerati. I più comuni effetti collaterali legati all'utilizzo di Oxaliplatino in associazione a Capecitabina sono rappresentati dalla diarrea, dalla neutropenia (cosa che potrebbe renderla più suscettibile alle infezioni) e, specificatamente per l'Oxaliplatino (presente in entrambi i bracci di trattamento), dalla neuropatia periferica (il sintomo maggiore è rappresentato da una disestesia faringo-laringea, spesso scatenata dal contatto con il freddo). E' possibile osservare anche vomito, stomatite, caduta dei capelli nonché diminuzione delle piastrine e dei globuli rossi.

La Capecitabina può determinare la comparsa di una sindrome mano-piede nota come "hand-foot syndrome" o "eritrodiesestesia palmo-plantare", caratterizzata da arrossamento delle dita delle mani e dei piedi con possibile comparsa di prurito e desquamazione della cute.

Il bevacizumab, (presente in entrambi i bracci di trattamento), può essere responsabile di emorragia, trombosi perforazione gastrointestinale. Tossicità meno severe sono state proteinuria, ipertensione, febbre, brividi, cefalea, infezioni, epistassi e ulcerazioni della bocca.

Per tutti gli effetti collaterali che si manifestano Lei deve sapere che saranno messi in atto tutti i presidi terapeutici atti a controllare tali disturbi.

Gli effetti tossici dei trattamenti chemioterapici sono generalmente transitori e regrediscono con la sospensione del trattamento. In alcuni casi può essere necessaria una riduzione delle dosi dei farmaci nelle somministrazioni dei cicli successivi.

Comunque, per qualsiasi evenienza, Lei potrà contattare i medici della Divisione tenendo presente che la struttura è in grado di intervenire ed è a disposizione per qualsiasi manifestazione avversa.

Se il suo assistito è una donna in età fertile non deve iniziare una gravidanza durante il periodo di sperimentazione e per i 12 mesi successivi, in quanto sono accertati effetti pericolosi per il feto. A questo proposito, e qualora lo desiderasse, presso questo Istituto potranno essere insegnati alla sua assistita i metodi di regolamentazione naturale della fertilità. Se la sua paziente iniziasse una gravidanza, deve comunque darne immediata informazione al medico responsabile. Nel caso la sua assistita sia già in gravidanza o in allattamento non potrà partecipare a questo studio e dovrà comunicarlo al responsabile della sperimentazione affinché venga definito il trattamento migliore per lei e per il suo bambino.

I medici della Divisione sono comunque a disposizione per illustrare eventuali terapie alternative.

Tutte le informazioni relative al caso del/la suo assistito saranno strettamente confidenziali, coperte dal segreto professionale e trattate secondo la legge 196/2003 sulla tutela della privacy. Tuttavia, i dati personali potranno essere esaminati dalle autorità competenti e da persone appositamente autorizzate, fermo restando che non saranno resi pubblici, nel rispetto del diritto alla riservatezza tutelato dalla normativa vigente. La informiamo, inoltre del diritto del/la paziente ad avere libero accesso alla documentazione relativa alla sperimentazione cui parteciperà (assicurativa, clinico-scientifica, farmaco-terapeutica).

L'assistito/a sarà tempestivamente informata qualora divengano disponibili informazioni che possano influenzare la Sua volontà a continuare la partecipazione allo studio.

E' diritto del paziente rivolgersi direttamente al Comitato Etico dell'Ospedale in cui è in cura per segnalare ogni difformità tra il trattamento che Le viene somministrato e le informazioni ricevute prima di prestare il proprio consenso.

L'adesione a questo programma di ricerca è completamente volontaria e potrà dal/la paziente essere ritirata in qualsiasi momento. Qualora decidesse di non prendervi parte, questo non influirà sulla assistenza che riceverà.

La terapia potrà essere interrotta se il medico constaterà che il/la sua assistita non ha tratto alcun giovamento o che sono intervenuti eccessivi effetti collaterali. Il/la paziente sarà tempestivamente informata circa ulteriori trattamenti validi per la Sua malattia e potrà discuterne con il medico.

La partecipazione alla sperimentazione non comporta alcun onere finanziario e non prevede alcun compenso.

Nel caso il/la paziente decidesse di partecipare allo studio, sarà coperta da una polizza assicurativa per responsabilità civile a garanzia di eventuali danni derivanti dalla partecipazione allo studio stesso.

Per ulteriori informazioni e comunicazioni durante lo studio saranno a disposizione i seguenti medici:

---

**BIBLIOGRAFIA**

- 1 Greenlee RT, Hill-Harmon MB, Murray T, et al.: *Cancer Statistics 2001*. *CA Cancer J Clin* 2001; 51: 15-36.
- 2 Scheithauer W, Rosen H, Kornek G-V, et al.: *Randomised comparison of combination chemotherapy plus supportive care with supportive care alone in patients with metastatic colorectal cancer*. *BMJ* 1993; 306: 752-756.
- 3 Douillard JY, Cunningham D, Roth AD, et al.: *Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicentre randomised trial*. *Lancet* 2000; 355: 1041-1047.
- 4 Tournigand C, Louvet C, Quinaux E, et al.: *FOLFIRI followed by FOLFOX versus FOLFOX followed by FOLFIRI in metastatic colorectal cancer (MCRC): final results of a phase III study*. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2001; 20: 124a (abstr 494)
- 5 Folkman J: *Tumor angiogenesis*, In *The molecular basis of cancer*. Philadelphia: W.B.Saunders 2001
- 6 Folkman J: *Clinical implications of research on angiogenesis*. *N J Med*, 199; 333:1757-1763.
- 7 Dvorak HF, Brown LF et al: *Vascular permeability factor vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis*, *Am J Pathol* 1995;146:1029-39.
- 8 Ferrara N, Davis-Smyth et al: *The biology of VEGF*. *Endocr Rev* 1997;18:4-25
- 9 Radinsky R, Ellis LM: *Molecular determinants in the biology of liver metastasis*, *Surg Oncol Clin N Am* 1996;5:215-29,
- 10 Warren RS Yuan H et al: *Regulation by vascular endothelial growth factor of human colon cancer tumorigenesis in a mouse model of experimental liver metastasis*, *J Clin Invest* 1995;95:1789-97
- 11 Presta LG, Chen H et al: *Humanization of an anti vascular endothelial growth factor monoclonal antibody for the therapy of solid tumor and other disorders*; *Cancer Res* 1997; 57:4593-9
- 12 Ferrara N, Chen et al: *Vascular endothelial growth factor is essential for corpus luteum angiogenesis*; *Nat Med* 1998; 4:336-40
- 13 Reese DM et al: *Phase II trial of humanized anti-vascular endothelial growth factor antibody for the treatment of androgen-independent prostate cancer*; *Prostate J* 2001; 3:65-70
- 14 Cobleigh MA et al: *A phase I-II dose escalation trial of bevacizumab in previously treated metastatic breast cancer* *Semin Oncol* 2003; 30:117-124
- 15 Yang JC et al: *A randomized trial of bevacizumab, an anti VEGF antibody, for metastatic renal cancer*; *N Engl J Med* 2003; 349:427-434
- 16 Kabbinnavar E et al: *Phase II randomized trial comparing bevacizumab plus Fluorouracil(FU)/Leucovorin(LV) with FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer* *J Clin Oncol* 2003;21:60-65
- 17 DeVore R et al: *A randomized phase II trial comparing rhumab VEGF plus carboplatin/paclitaxel(CP) to CP alone in patients with stage IIIB/IV NSCLC*; *Proc Am Soc Clin Oncol* 2000; A1896
- 18 Hurwitz H et al: *Bevacizumab plus Irinotecan, fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer*; *N Engl J Med* 2004; 23:2335-2342.
- 19 Giantonio BJ et al: *High dose bevacizumab in combination with FOLFOX4 improves survival in patients with previously pretreated advanced colorectal cancer result from the ECOG study E3200* *Proc Am Soc Clin Oncol* 2005(abstr.2)
- 20 Diaz-Rubio E, Evans TRJ, Tabernero J et al.: *Capecitabine(Xeloda) in combination with oxaliplatin: a phase I, dose- escalation study in patients with advanced or metastatic solid tumor* *Annals of Oncolgy* 2002; 13: 558-565.
- 21 Cassidy J, Tabernero J, Twelves C et al.: *XELOX (capecitabine plus axaliplatin) : active first-line therapy for patients with metastatic colorectal cancer*. *J Clin Oncol* 2004; 22: 2084-2091.
- 23 Schmoll HJ et al.: *Initial safety findings from XELOXA: a randomised phase III trial of capecitabine plus oxaliplatin vs bolus 5-FU/LV as adjuvant therapy for patients (pts) with stage III colon cancer*. Abstract 617 presented at the 13th European Cancer Conference, Paris, 2005
- 24 Di Maggio G, Maiello E, Colucci G et al.: *Xelox-2 (bi-weekly administration of capecitabine + oxaliplatin) as first-line therapy of advanced colorectal cancer (acrc): a phase II study of the Gruppo Oncologico dell'Italia Meridionale (GOIM) presentato come poster al XI Congresso Nazionale AIOM* 2009.
- 25 Saltz LB, Clarke S, Diaz-Rubio E et al: *Bevacizumab in combination with XELOX or FOLFOX4:*

updated efficacy results from XELOX-1/NO16966, a randomized phase III trial in firstline metastatic colorectal cancer. *Proc ASCO 2007, abstr 4028.*

26 J. Randolph Hecht, Edith Mitchell et al: A Randomized Phase IIIB Trial of Chemotherapy, Bevacizumab, and Panitumumab Compared With Chemotherapy and Bevacizumab Alone for Metastatic

Colorectal Cancer. *J Clin Oncol 2008; 27:672-680.*

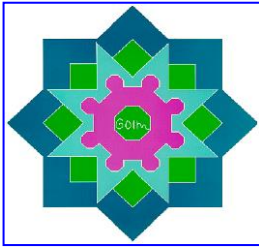
27 Cassidy J, Clarke S, Diaz-Rubio E et al: XELOX-1/NO16966, a randomized phase III trial in first line: updated survival and tolerability results. *Proc ASCO 2009, abstract 382.*  
metastatic colorectal cancer

28 Therasse P et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. *J Natl Cancer Inst 2000; 92: 205-216.*

29 Levi F, Misset JL, Brienza S et al.: A chronopharmacologic phase II clinical trial with 5-fluorouracil, folinic acid, and oxaliplatin using an ambulatory multichannel programmable pump. High antitumor effectiveness against metastatic colorectal cancer. *Cancer 1992; 69:893-900*

30 Simon R. Optimal Two-Stage Designs for Phase II Clinical Trials. *Controlled Clinical Trials 10, 1-10, 1989*

31Brookes ST, Whitely E, Egger M, et al: Subgroup analyses in randomized trials: Risks of subgroup-specific analyses; power and sample size for the interaction test. *J Clin Epidemiol 57:229-236, 2004*



# Prot.GOIM 2802



**Pazienti affetti da carcinoma coloretta in fase avanzata**

**Valutazione basale + Kras**

