



REGIONE DEL VENETO

Azienda
Ospedale
Università
Padova

UOC *Chirurgia Pediatrica*

TITOLO: Pediatric cancer and lung malformations: development of lung organoids as model of disease.

Le malformazioni polmonari cistiche congenite (CPAM) sono un gruppo di alterazioni dello sviluppo del polmone in cui una parte di tessuto polmonare è sostituito da cisti. La diagnosi è quasi sempre evidente prima della nascita attraverso l'ecografia fetale.

I meccanismi che portano alla formazione delle malformazioni cistiche polmonari non sono conosciuti, sebbene queste possano mantenersi spesso asintomatiche, sono descritte complicanze come distress respiratorio acuto, sovrainfezione delle cisti e tumori polmonari, sia epiteliali, ovvero del rivestimento delle cisti, sia mesenchimali, ovvero dei tessuti di sostegno che separano le cisti tra loro. Alla luce del rischio di queste complicanze e dell'assenza di marcatori che permettano di quantificare o anticipare questo rischio, la gestione standard per le malformazioni cistiche polmonari è la conferma diagnostica, con un esame di secondo livello come la TAC del torace eseguita nei primi mesi di vita, e la chirurgia profilattica entro il primo anno di vita.

Mutazioni genetiche dei geni DICER1 e K-RAS sono state descritte a livello sia del tessuto cistico delle CPAM che dei tumori associati a cisti polmonari congenite, ovvero il blastoma pleuropolmonare e il carcinoma bronchiolo-alveolare. Entrambi i geni prendono parte al controllo della proliferazione e differenziazione cellulare, DICER1 è coinvolto nella produzione di miRNA, K-RAS ne è regolato.

Lo studio ha come finalità quella di ricercare e validare il miRNA come marcatore in grado di descrivere il comportamento delle malformazioni polmonari ed il rischio associato di complicanze, in particolare lo sviluppo di tumori polmonari pediatrici. Per fare questo analizzeremo il tessuto cistico malformativo che viene asportato in occasione della chirurgia e due prelievi di sangue periferico effettuati rispettivamente 48 ore dopo la nascita e prima dell'intervento chirurgico nei primi mesi di vita.

Lo studio in vitro è prospettico e avrà la seguente struttura:

1. Arruolamento dei pazienti: nuovi nati con diagnosi prenatale ecografica di malformazione polmonare.
2. Prelievo di sangue capillare da tallone a 48 ore di vita in occasione dei test di screening metabolico neonatale. In occasione di questo prelievo routinario verranno prelevati 200-300 uL di sangue per profilazione miRNA. Il campione verrà inviato presso l'Istituto di Ricerca Pediatrica del Dipartimento della Salute della Donna e del Bambino. Se per presenza di sintomi o comorbidità il test metabolico dovesse essere posticipato, il prelievo verrà fatto da un diverso prelievo routinario a partire dalle 48 ore di vita.

3. Programmazione dell'imaging diagnostico (TC torace con MDC), questo viene programmato ai sei mesi di vita in pazienti asintomatici, in acuto per quelli che presentano sintomi.
4. Conferma della diagnosi di malformazione polmonare sulla base della TC e programmazione della chirurgia, che viene programmata entro l'anno di vita nei pazienti asintomatici, in urgenza in quelli con sintomi.
5. Per i pazienti operati in elezione, prelievo di sangue periferico in occasione degli esami ematici pre-operatori routinari. In occasione di questo prelievo routinario verranno prelevati 200-300 uL di sangue per profilazione miRNA. Il campione verrà inviato presso l'Istituto di Ricerca Pediatrica del Dipartimento della Salute della Donna e del Bambino
6. Ricovero presso la Chirurgia Pediatrica per intervento chirurgico di lobectomia del lobo contenente la malformazione o di resezione atipica in caso di lesioni piccole e periferiche. Più resezioni possono essere necessarie in caso di malformazioni complesse con cisti in più lobi o in malformazioni estese, al fine di conservare quanto più tessuto polmonare possibile.
7. Invio presso l'Anatomia Patologica del materiale asportato, selezione di un campione rappresentativo del tessuto cistico per le analisi di biologia molecolare e un campione di tessuto sano, con controllo estemporaneo dell'adeguatezza. Invio dei campioni presso l'Istituto di Ricerca Pediatrica Città della Speranza. Il campione deve avere un volume minimo di 1cm³.
8. Raccolta del dato istologico definitivo per la successiva correlazione clinica.
9. Presso l'Istituto di Ricerca Pediatrica Il campione verrà inviato presso l'Istituto di Ricerca Pediatrica del Dipartimento della Salute della Donna e del Bambino, verranno eseguite le seguenti analisi:

Su tessuto polmonare

- single cell transcriptome
- coltura di organoidi polmonari con popolazioni selezionate di cellule epiteliali e mesenchimali appartenenti a tessuto cistico e sano isolato dal campione operatorio
- estrazione di vescicole extracellulari da organoidi polmonari

Su sangue periferico

- miRNA profiling