



BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

Per biopsia liquida (BL) in generale si intende l'analisi genetica di DNA e RNA tumorale libero (ctDNA e ctRNA) rilasciato dal tumore e circolante nel sangue periferico o in altri liquidi corporei come, il liquido cerebrospinale, versamenti e urina. In realtà, nel plasma dei pazienti oncologici è possibile identificare non solo la sequenza specifica del tumore e le variazioni del numero di copie, ma anche le fusioni geniche e guidare potenzialmente i pazienti verso trattamenti personalizzati¹.

Attualmente la BL è impiegata soprattutto per l'analisi delle varianti target di *PIK3CA* in pazienti con cancro della mammella metastatico positivo per recettori ormonali (HR), nonché per l'identificazione di mutazioni di resistenza nei pazienti con cancro del polmone *EGFR*-mutato, trattato con inibitori delle tirosin-chinasi. Se non è disponibile un tessuto adeguato fissato in formalina e incluso in paraffina (FFPE), la genotipizzazione sulla BL può identificare potenziali alterazioni target e quindi guidare il trattamento. Il National Comprehensive Cancer Network (NCCN) ora raccomanda test molecolari basati sul plasma in tutti i pazienti con cancro del polmone-non a piccole cellule-non squamoso al momento della diagnosi, se per la genotipizzazione non è disponibile un tessuto adeguato. Data la perdita di acidi nucleici liberi da diverse aree di un tumore e/o da diversi siti metastatici, è dimostrato che la genotipizzazione su BL rispecchia l'eterogeneità genomica di un tumore meglio di una biopsia da un singolo sito. L'uso clinico della genotipizzazione su BL potrebbe diffondersi presto, visto che le sperimentazioni cliniche ne hanno dimostrato il potenziale nel rilevare la malattia minima residua, nel guidare le decisioni su trattamenti adiuvanti, riconoscere precocemente le recidive tumorali e monitorare la risposta al trattamento².

La riuscita della genotipizzazione su BL dipende dalla quantità di ctDNA presente nel plasma, che è influenzata dal carico tumorale, dalla sede del tumore dal e tipo di tumore. Non si conosce la proporzione di ctDNA in rapporto al DNA libero totale derivato da cellule non tumorali, quindi la mancata rilevazione di un'alterazione in un gene driver potrebbe essere dovuta a un risultato falso negativo dipendente da un basso contenuto di ctDNA. In questi casi si raccomanda di ripetere la genotipizzazione sul tessuto FFPE.

Metodo e risultati

Il sangue periferico deve essere fornito in provette Cell-Free DNA BCT[®] CE (Streck) che stabilizzano il DNA libero e bloccano il rilascio di DNA genomico per diversi giorni, impedendo la diluizione del ctDNA nel DNA genomico. Dopo l'estrazione di acidi nucleici liberi, si effettua il sequenziamento di nuova generazione (NGS) utilizzando l'Oncomine[™] Precision Assay sulla piattaforma di sequenziamento Genexus[™] (Thermo Fisher).

L'Oncomine Precision Assay indaga le mutazioni hot-spot in 45 geni, le alterazioni del numero di copie in 14 geni e le fusioni di geni di 19 geni driver tumorali potenzialmente rilevanti (l'elenco completo dei geni è riportato sotto). Per esempio, una BL effettuata in pazienti con cancro della mammella metastatico HR-positivo può rivelare varianti di sequenze bersagliabili di *PIK3CA*, *ERBB2* e/o *ESR1*, fornire informazioni sull'amplificazione di *ERBB2/HER2* o sulle fusioni del gene *NTRK*, e infine rilevare varianti in geni che potrebbero consentire l'inclusione di pazienti in sperimentazioni cliniche. Inoltre, se applicabile, nel report sono forniti una dettagliata descrizione delle varianti, il loro significato clinico, le potenziali opzioni di trattamento mirato e un elenco delle sperimentazioni cliniche pertinenti.

Punti chiave

- Campione: due prelievi di sangue in provette Cell-Free DNA BCT CE (Streck), spedite a temperatura ambiente a MEDISYN Bioggio.
 - Le provette Streck si possono ordinare direttamente da MEDISYN
 - F-CH: commandes.ch@medisyn.ch
 - D-CH: customerservice.ch@medisyn.ch
 - I-CH: info.ticino@medisyn.ch
- Metodo analitico: NGS mediante Oncomine Precision Assay (Thermo Fisher).

Promemoria

- Tempi di esecuzione: 5-10 giorni.
- Fatturazione in base a TARMED: posizione TARMED 37.0570 (6x).
- Costi coperti dall'assicurazione di base.
- Il test non può essere usato per valutare l'idoneità alla terapia con PARP-inibitori in pazienti con cancro della prostata metastatico resistente alla castrazione. Nel pannello non sono inclusi i geni coinvolti nella riparazione del DNA mediata da ricombinazione omologa (per es. *BRCA1*, *BRCA2*).

Applicazioni

- Analisi di varianti del *PIK3CA* bersagliabili in pazienti con cancro della mammella metastatico HR-positivo
- Analisi di mutazioni di resistenza di *EGFR* in pazienti con cancro del polmone *EGFR*-mutato
- Genotipizzazione su BL in pazienti con tumori solidi (carcinomi di colon e retto, NSCLC, carcinomi della mammella) per scoprire potenziali target farmacologici se non è disponibile un tessuto FFPE adeguato.

Alterazioni genetiche rilevate tramite biopsia liquida che potrebbero influire sul trattamento

Tipo di tumore	Alterazione genetica	Trattamento mirato
Tutti i tumori solidi	Fusioni di <i>NTRK</i>	Larotrectinib
Cancro della mammella	Mutazione di <i>PIK3CA</i> Amplificazione di <i>ERBB2/HER2</i>	Alpelisib Terapia mirata HER2
Cancro di colon e retto	Tutte le mutazioni <i>RAS</i> Amplificazione di <i>ERBB2/HER2</i>	Resistenza alla terapia anti-EGFR Terapia mirata HER2
Cancro del polmone non a piccole cellule (NSCLC)	Mutazioni di <i>BRAF V600</i> Mutazioni di <i>EGFR</i> Mutazioni di <i>ERBB2</i> Mutazione p.G12C di <i>KRAS</i> Mutazioni skipping dell'esone 14 di <i>MET</i> Fusioni di <i>ALK</i> Fusioni di <i>NTRK</i> Fusioni di <i>RET</i> Fusioni di <i>ROS1</i>	Dabrafenib + trametinib Osimertinib e altri TK-inibitori Coniugati farmaco-anticorpo Sotorasib Capmatinib, tepotinib Alectinib e altri ALK-inibitori Larotrectinib Selpercatinib e altri RET-inibitori Entrectinib, crizotinib

Letteratura:

- 1: Rodriguez J et al. *Oncol Ther* (2021) 9:89-110. doi.org/10.1007/s40487-021-00144-6.
- 2: Pascual J et al. *Annals of Oncology* (2022) 33(8):750-768. doi.org/10.1016/j.annonc.2022.05.520.

Elenco dei geni analizzati

Hotspot					CNV		Fusioni inter/intrageniche	
AKT1	CHEK2	FGFR3	KIT	NTRK3	ALK	FGFR1	ALK	ROS1
AKT2	CTNNB1	FGFR4	KRAS	PDGFRA	AR	FGFR2	NTRK2	RSPO2
AKT3	EGFR	FLT3	MAP2K1	PIK3CA	CD274	FGFR3	BRAF	MET
ALK	ERBB2	GNA11	MAP2K2	PTEN	CDKN2A	KRAS	NTRK3	RSPO3
AR	ERBB3	GNAQ	MET	RAF1	EGFR	MET	ESR1	NRG1
ARAF	ERBB4	GNAS	MTOR	RET	ERBB2	PIK3CA	NUTM1	NTRK1
BRAF	ESR1	HRAS	NRAS	ROS1	ERBB3	PTEN	FGFR1	AR
CDK4	FGFR1	IDH1	NTRK1	SMO			RET	EGFR
CDKN2A	FGFR2	IDH2	NTRK2	TP53			FGFR2	MET
							FGFR3	

Possibile esempio di risultato
Varianti di rilevanza diagnostica, prognostica e terapeutica secondo ESMO/NCCN

Gene	Variante	Classificazione ACMG, AMP/ASCO/CAP	Classificazione ESCAT	Target farmacologico
PIK3CA	p.E545K (patogenetica) NM_006218.4 : c.1633G>A MAF : 24.1%	IA	IA	Terapia mirata con PIK3-inibitori
ESR1	Negativo per varianti patogenetiche/ probabilmente patogenetiche			

Lucerna, Gennaio 2023

Persone incaricate presso MEDISYN SA

Dr. med. Ines Raineri

FMH in patologia, responsabile della patologia molecolare

Dr. sc.nat. Giuditta Filippini

FAMH in genetica medica, responsabile della genetica Ticino

Dr. phil. Nadia Fiandanese, PhD

Dr. D. phil. Michael Morris

FAMH in genetica medica, direttore del dipartimento di Genetica