

# ONDA MEDICA

2020



Fondazione  
**onda**

Osservatorio nazionale sulla salute  
della donna e di genere

## Oncologi e personalizzazione delle terapie nel tumore polmonare

Stato dell'arte  
e scenari futuri





# INDICE

<b>Prefazione</b>	<b>pag. 5</b>
<b>1. L'indagine di Onda "Oncologi e personalizzazione delle terapie"</b>	<b>pag. 6</b>
1.1. <i>Obiettivi</i>	
1.2. <i>Metodologia e campione</i>	
1.3. <i>Analisi dei risultati</i>	
1.4. <i>Key finding</i>	
<b>2. Il punto di vista dell'esperto</b>	<b>pag. 13</b>
2.1 <i>Introduzione</i>	
2.2 <i>La situazione in Italia</i>	
2.3 <i>Esperienze passate e in corso con NGS</i>	
2.4 <i>Requisiti tecnici per utilizzare nella pratica clinica un pannello NGS</i>	
2.5 <i>Conclusione e direzioni future</i>	
<b>Bibliografia</b>	<b>pag. 20</b>

*Il punto di vista dell'esperto a cura di Vanesa Gregorc e Chiara Lazzari  
Dipartimento di Oncologia, Ospedale San Raffaele, Milano*



# Prefazione

*a cura di Onda*

**L**a personalizzazione delle terapie attraverso la diagnostica molecolare e la progressiva disponibilità dei test di profilazione genomica ha aperto nuovi orizzonti di cura e i più recenti dati prodotti in letteratura documentano, grazie all'impiego in particolare dell'immunoterapia, un aumento della sopravvivenza dei pazienti affetti da tumore. Al modello tradizionale istologico si è così affiancato quello mutazionale che richiede anzitutto, per un'adeguata governance dei processi clinici e decisionali di appropriatezza, l'attivazione di gruppi multidisciplinari in cui siano integrate tutte le competenze specialistiche necessarie e lo sviluppo di piattaforme di supporto e collegamento informatico.

In questo scenario, al fine di esplorare il grado di conoscenza e utilizzo di queste nuove opportunità diagnostiche e terapeutiche da parte degli oncologi che si occupano in particolare di tumore polmonare localmente avanzato o metastatico, Onda in collaborazione con l'Istituto partner di ricerca Elma Research ha condotto una survey a livello nazionale. La ricerca ha coinvolto novanta specialisti afferenti a diverse tipologie di

struttura (ospedali di piccole dimensioni, ospedali di grandi dimensioni, ospedali universitari/IRCCS) in modo da comparare prassi ed esperienze. I risultati emersi sono presentati nella prima parte di questa pubblicazione e commentati nella seconda, a cura delle Dottoresse Vanesa Gregorc e Chiara Lazzati del Dipartimento di Oncologia presso l'Ospedale San Raffaele (Milano). Il contributo delle specialiste offre un aggiornamento sul tema rispetto alla situazione italiana e alle esperienze maturate e attualmente in corso nell'utilizzo di ampi pannelli di profilazione genica, evidenziandone benefici, limiti e criticità.

# L'indagine di Onda "Oncologi e personalizzazione delle terapie"

a cura di Onda

## 1.1 Obiettivi

La ricerca è stata condotta dall'Istituto partner Elma Research nel 2019 (ottobre-novembre) con l'obiettivo di indagare il tema della personalizzazione della terapia in pazienti con tumore al polmone localmente avanzato o metastatico, esplorando lo stato dell'arte dell'impiego dei **test genetici** nei diversi centri ospedalieri e analizzando la conoscenza e l'utilizzo delle nuove **piattaforme per la profilatura genomica**.

## 1.2 Metodologia e campione

Nella ricerca sono stati coinvolti **90 oncologi** intervistati con metodologia quantitativa web CAWI della durata di 10 minuti. Il campione è stato selezionato in base a questi **target**:

→ oncologi che hanno visitato e trattato almeno 15 pazienti con tumore al polmone localmente avanzato negli ultimi 3 mesi;  
→ oncologi che si occupano di impostare il trattamento farmacologico antitumorale per il tumore al polmone localmente

avanzato;

→ oncologi distribuiti in modo rappresentativo sul territorio nazionale, secondo i dati ISTAT.

Dall'analisi delle **caratteristiche socio-demografiche del campione** sono emersi questi dati:

→ Anni (medi) di attività: 18

→ Numero (medio) pazienti oncologici negli ultimi 3 mesi: 230

→ Numero (medio) pazienti con tumore polmonare localmente avanzato negli ultimi tre mesi: 64

→ Distribuzione degli oncologi rispetto alla tipologia di struttura di afferenza:

→ Ospedale di piccole dimensioni: 37 oncologi

→ Ospedale di grandi dimensioni: 32 oncologi

→ Ospedale universitario/IRCCS: 21 oncologi

→ Numero (medio) di pazienti con tumore al polmone localmente avanzato negli ultimi tre mesi per ciascuna tipologia di struttura:

→ Ospedale di piccole dimensioni:

- 55 pazienti
- Ospedale di grandi dimensioni: 74 pazienti
- Ospedale universitario/IRCCS: 76 pazienti

### 1.3 Analisi dei risultati

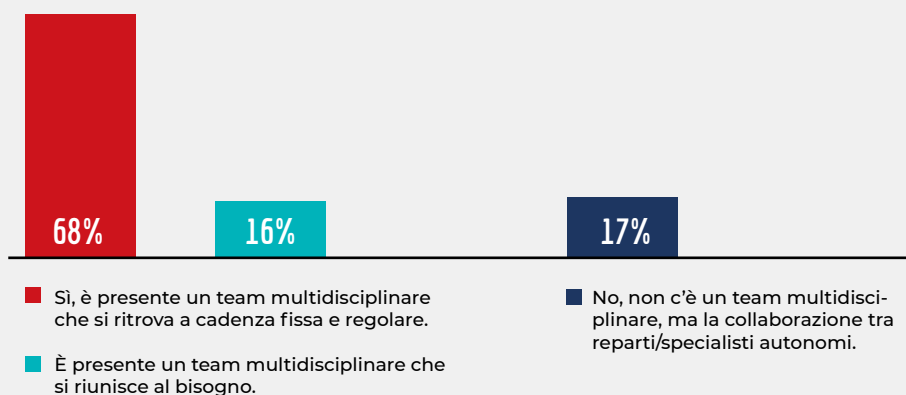
Dalla survey è emerso che in quasi 7 centri su 10 è presente un **team multidisciplinare** che si riunisce con ricorrenza regolare e che è composto principalmente, oltre che dall'oncologo, dall'anatomopa-

tologo, dal radiologo e dal chirurgo. (Figura 1)

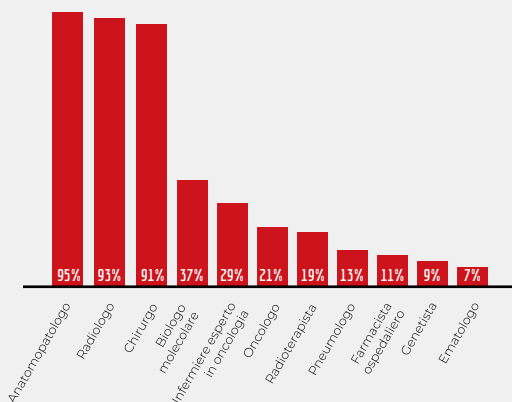
Il lavoro in team multidisciplinare rappresenta lo standard negli IRCCS e negli ospedali universitari (95%), è presente nella maggior parte degli ospedali di grandi dimensioni (69%) ma solo nella metà dei casi degli ospedali di piccole dimensioni (51%).

I **test per le mutazioni** EGFR, PD-L1 e ALK sono richiesti in modo routinario e sono quelli maggiormente eseguiti internamente, a cui si affianca il riarrangiamento

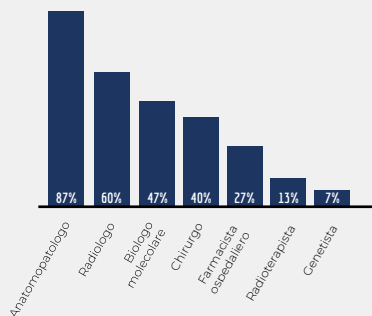
Figura 1  
Presenza del team multidisciplinare nel centro



#### Specialisti del team multidisciplinare



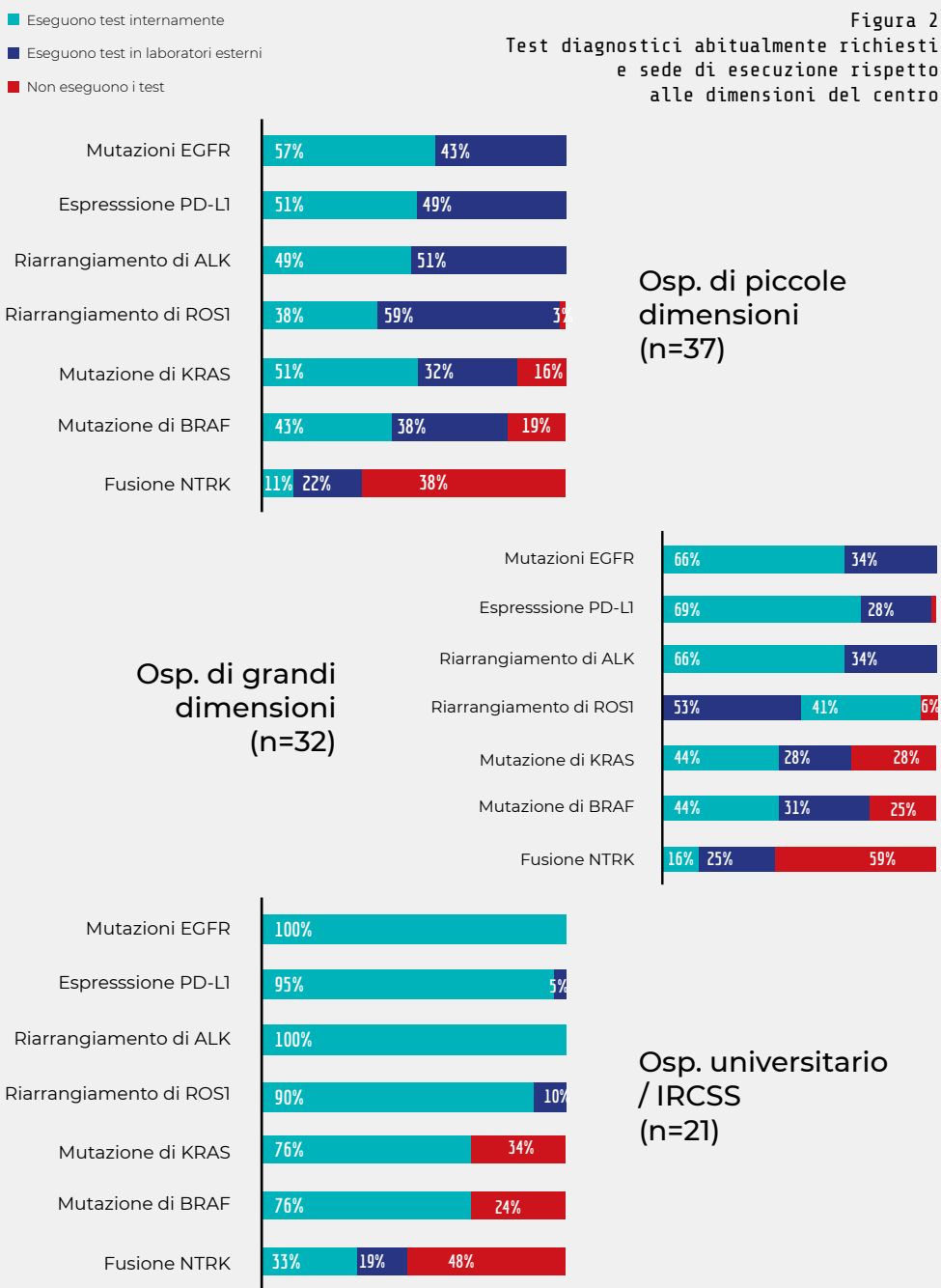
#### Specialisti consultati



di ROS1 (non richiesto solo nel 3% dei casi). Meno frequentemente richieste risultano la mutazione di KRAS (77%) e quella di BRAF (78%). In coda e con un marcato distac-

Figura 2

Test diagnostici abitualmente richiesti e sede di esecuzione rispetto alle dimensioni del centro





co risulta il test per la fusione NTRK (40%). (Figura 2)

Negli IRCCS, dove i test sono eseguiti prevalentemente nel laboratorio interno, i tempi necessari per ottenere l'esito sono significativamente inferiori rispetto agli altri centri (9 giorni lavorativi vs 12).

Nella maggioranza dei pazienti con tumore localmente avanzato o metastatico viene effettuato un prelievo istologico per effettuare i test diagnostici molecolari (67%). Seguono esame citologico (25%) e biopsia liquida (8%).

In 3 casi su 5 viene eseguito un panel di test che necessita di circa 12 giorni lavorativi per ottenere l'esito.

Rispetto all'**informazione**, la maggior parte degli oncologi dichiara di conoscere "molto bene" la **medicina personalizzata**; tale percentuale correla con le dimensioni della struttura: 76% negli ospedali universitari/IRCCS; 69% negli ospedali di

grandi dimensioni e 59% negli ospedali di piccole dimensioni.

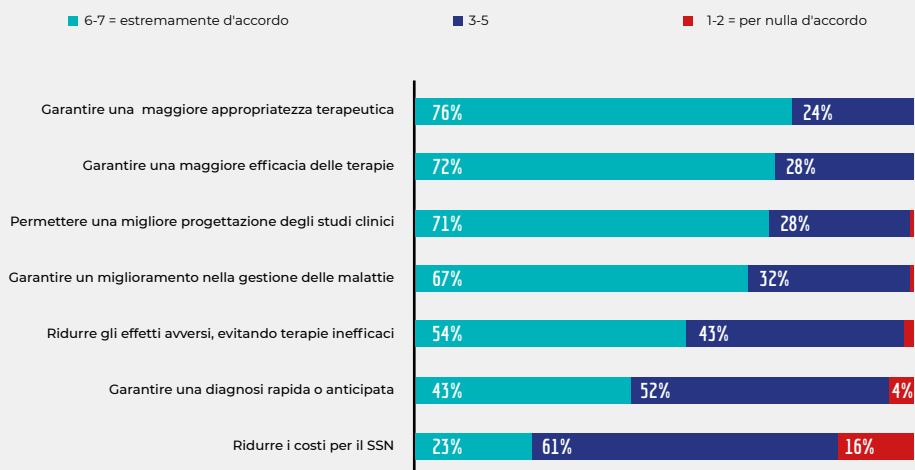
La **conoscenza delle piattaforme** per la profilazione genomica è invece molto limitata, risultando "molto ben" conosciuta dal 43% degli oncologi ospedali universitari/IRCCS, dal 44% di quelli che lavorano nei grandi ospedali e solo dal 19% di quelli che afferiscono a strutture ospedaliere di piccole dimensioni.

Le informazioni possedute dagli specialisti provengono principalmente da congressi internazionali e nazionali.

I principali vantaggi attribuiti all'utilizzo di sistemi NGS sono la possibilità di avere target therapy e una miglior profilazione del tumore. L'aspetto più critico per gli oncologi è il costo, identificato da 2 medici su 5 il principale limite all'utilizzo di tali sistemi.

Su questo fronte non emergono differenze significative tra oncologi appartenenti

Figura 3  
Vantaggi futuri dell'utilizzo delle tecniche di profilazione genomica



a centri di grandezza diversa.

(Figura 3)

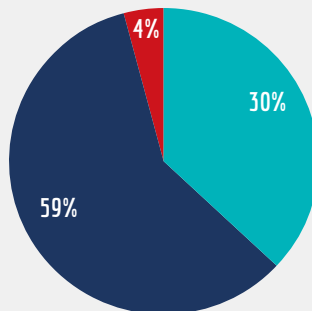
Circa 2 oncologi su 5 ritengono che il proprio centro sia pronto per le nuove tecniche di profilatura genomica. Tale percezione è significativamente più alta per gli oncologi degli ospedali universitari/IRCCS che prevedono l'internalizzazione di tali tecniche nella maggior parte dei casi (76%).

(Figura 4) - (Figura 5)

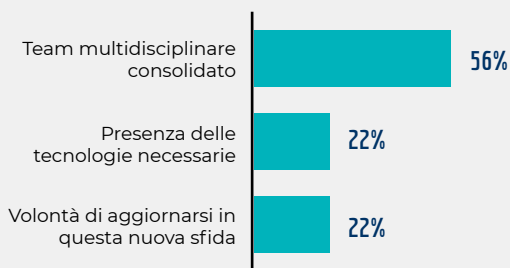
**Figura 4**  
Livello di preparazione del centro per la gestione delle nuove tecniche e motivazioni

- 6-7
- 3-5
- 1-2

**Livello di preparazione del centro**



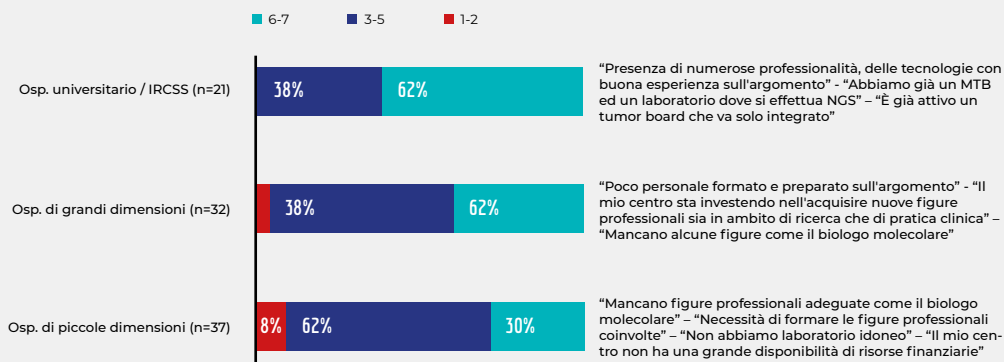
Base rispondenti 6-7



Base rispondenti 1-2-3-4-5



**Figura 5**  
**Livello di preparazione del centro per la gestione delle nuove tecniche**  
**rispetto alle dimensioni della struttura**



## 1.4 Key finding

→ Nella maggioranza dei casi è presente un team multidisciplinare che si ritrova regolarmente per analizzare i casi dei pazienti con tumore al polmone localmente avanzato/metastatico. Nei centri IRCSS questa è la routine.

→ Nel complesso la metà degli oncologi fa eseguire internamente i test genetici per il tumore al polmone localmente avanzato/metastatico. I test eseguiti prevalentemente nel laboratorio di analisi interno al centro sono quelli per la mutazione EGFR, l'espressione del PD-L1 e il riarrangiamento ALK. Il test per la fusione NTRK è invece quello meno richiesto. Per ottenere i risultati dei test sono necessari in media 12 giorni lavorativi, dato che si riduce notevolmente per gli IRCSS (9 giorni) perché i test vengono svolti prevalentemente nel laboratorio interno al centro.

→ La medicina personalizzata è un tema molto ben presente nella mente degli oncologi e viene considerata da tutti molto importante per la pratica clinica futura.

→ Le piattaforme per la profilazione genomica, invece, sono conosciute più superficialmente, ma considerate comunque importanti per il futuro. I vantaggi futuri sono chiari: miglior gestione della malattia, maggiori terapie personalizzate ed efficaci. L'aspetto più critico è identificato nella ricaduta sul costo per il SSN oltre all'assenza di figure professionali specifiche e alle difficoltà a livello organizzativo. Solo una minoranza degli oncologi ritiene che il proprio centro sia pronto per le nuove tecniche di profilatura genomica, principalmente per la presenza di un team multidisciplinare.

Il maggior livello di preparazione e l'organizzazione più strutturata permettono ai centri di grandi dimensioni, in particolare gli IRCSS, di eseguire le tecniche di profilazione genomica future all'interno del centro, in modo significativamente maggiore rispetto agli altri centri.

# Il punto di vista dell'esperto

A cura di Vanesa Gregorc e Chiara Lazzari

Dipartimento di Oncologia, Ospedale San Raffaele, Milano

## 2.1 Introduzione

Negli ultimi dieci anni il miglioramento delle conoscenze sulla biologia dei tumori polmonari ha permesso di identificare alterazioni molecolari driver, responsabili della crescita del tumore stesso [1]. Oggi il tumore polmonare non a piccole cellule (NSCLC) non è più considerato una malattia omogenea, ma un complesso di malattie rare, classificate sulla base delle alterazioni molecolari presenti, alcune delle quali bersaglio di farmaci biologici altamente efficaci.

Con l'introduzione della medicina di precisione, la **classificazione molecolare** dei pazienti con NSCLC è diventata parte integrante dell'algoritmo diagnostico-terapeutico. Questi sforzi di personalizzare il trattamento sulla base del profilo molecolare del tumore si sono associati ad un miglioramento significativo della sopravvivenza. Negli ultimi anni è stato identificato un numero crescente di alterazioni molecolari, incrementando la complessità della biologia e dell'approccio farmacologico dei pazienti con NSCLC.

Nonostante questi miglioramenti, l'organizzazione della diagnostica molecolare in Italia resta eterogenea. Dai risultati di due studi osservazionali, uno presentato nel 2017 e l'altro nel 2018, è emerso che in Italia solo il 50% dei pazienti riceve una diagnostica molecolare adeguata [2]. Le

ragioni sono da ricercare principalmente in motivi di natura organizzativa.

Esperienze in altri Paesi (Stati Uniti e Francia) hanno dimostrato la fattibilità di programmi di screening molecolare su base nazionale. Nello studio americano sono stati coinvolti 14 centri ed è stata valutata la presenza di alterazioni molecolari in 14 geni in 1102 pazienti con NSCLC in stadio avanzato. Nel 64% dei casi è stata identificata un'alterazione molecolare in un gene driver e il 44% di questi pazienti ha ricevuto una terapia farmacologica mirata [3]. Per la prima volta uno studio prospettico ha dimostrato che quando i pazienti, classificati sulla base di specifiche alterazioni molecolari driver, ricevono un **trattamento target** hanno una sopravvivenza nettamente superiore rispetto ai pazienti con le stesse caratteristiche molecolari ma che non ricevono una terapia mirata, o coloro nei quali non viene identificato un bersaglio molecolare. Se poi analizziamo i risultati dello studio francese e confrontiamo i dati di Francia e Italia, due nazioni in cui l'incidenza del NSCLC è paragonabile (con circa 40.000 nuove diagnosi ogni anno) emerge che in Francia più di **7.000** pazienti ottengono una classificazione molecolare contro i **1.700** che la ricevono in Italia [2, 4].

Questi dati confermano l'importanza di organizzare, strutturare e pianificare lo **screening molecolare** su base nazionale.

La creazione di consorzi tra Istituzioni diverse è una strategia di successo per aumentare il numero di pazienti che ottengono una classificazione molecolare [3, 4]. Considerando, inoltre, che nella maggior parte dei casi le alterazioni molecolari sono a bassa prevalenza, quando lo screening molecolare viene attuato all'interno di consorzi, la probabilità di identificare pazienti con alterazioni molecolari aumenta. Questo si associa ad un incremento del numero di pazienti potenzialmente arruolabili in studi clinici che testano nuovi farmaci, con conseguente accelerazione dello sviluppo di terapie innovative.

## 2.2 La situazione in Italia

Dalla survey eseguita, che aveva l'obiettivo di esplorare lo stato dell'arte dei test genetici nei centri ospedalieri italiani e analizzare la conoscenza e l'utilizzo delle nuove piattaforme per la profilazione genomica, emerge che tutti gli intervistati valutano la presenza di alterazioni molecolari in **EGFR** e **ALK**, ma circa 1% non ricerca l'iperespressione di **PD-L1**, il 3% il riarrangiamento di **ROS-1** e il 22% la mutazione di **BRAF**. Dal 28 maggio 2018 è disponibile in Italia crizotinib per il trattamento di prima linea dei pazienti che presentano un riarrangiamento del gene ROS-1. Non consentire ai pazienti di ricevere il crizotinib in prima linea significa sottoporli ad una terapia meno efficace, potenzialmente con più effetti collaterali e che può impattare negativamente sulla loro sopravvivenza. Inoltre, pur non essendo ancora registrato con il Servizio sanitario nazionale il trattamento di combinazione con dabrafenib e trametinib nei pazienti portatori di mutazione del gene BRAF, essendoci evidenze di efficacia di questa combinazione in uno studio di fase II, è possibile usufruire di questo trattamento richiedendolo al fondo na-

zionale AIFA del 5%. Ecco, quindi, che diventa importante prevedere nel percorso diagnostico dei pazienti anche la ricerca di ROS-1 e di BRAF. Questo deve essere fatto al momento della diagnosi al fine di definire meglio la biologia del tumore che si sta trattando, la prognosi e il percorso terapeutico dei pazienti.

Una diagnosi molecolare accurata richiede un **team multidisciplinare** per definire la sede dove effettuare la biopsia e ottenere una quantità sufficiente di materiale istologico. Negli anni il ruolo del team multidisciplinare è cambiato: se prima era fondamentale per scegliere la terapia nei pazienti con malattia in stadio localizzato, oggi la sua funzione è anche quella di definire il percorso diagnostico dei pazienti con malattia metastatica. Ottenere una quantità di **materiale sufficiente per effettuare una profilazione molecolare** ad ampio spettro è un dovere del team multidisciplinare e non pianificare il percorso diagnostico può avere delle implicazioni medico-legali. Dati pubblicati dimostrano che in circa il 23% dei pazienti con sospetta diagnosi di NSCLC, il tessuto prelevato non è adeguato per effettuare le analisi molecolari [5]. In alcuni casi la presenza di necrosi diminuisce la densità cellulare, risultando in un sequenziamento di bassa qualità con il rischio di ottenere dei risultati falsi negativi.

Dalla survey effettuata emerge che solo 7 ospedali su 10 hanno un team multidisciplinare. Talvolta gli incontri non avvengono a cadenza fissa, ma solo in caso di necessità. Questo accade più frequentemente nei piccoli centri, mentre è più raro negli ospedali universitari o nei centri di ricerca a carattere scientifico (IRCCS).

Negli ultimi anni metodiche di **next generation sequencing** (NGS) sono entrate nella pratica clinica. Dalla survey emerge

che, pur riconoscendo il ruolo della medicina personalizzata, la conoscenza delle piattaforme per la profilazione genomica è molto limitata ed il suo valore nella pratica clinica fatica ad essere riconosciuto. A differenza del sequenziamento tradizionale, limitato alla analisi di singoli geni, NGS è in grado di analizzare contemporaneamente DNA, RNA e, quindi, la presenza di inserzioni, delezioni, mutazioni puntiformi, amplificazioni geniche, fusioni o riarrangiamenti cromosomici [6]. Pertanto, l'utilizzo di metodiche di NGS consente di ridurre la quantità di materiale tissutale richiesto, il tempo e i costi necessari per effettuare la profilazione genica. Tuttavia l'applicazione di NGS nella pratica clinica si accompagna a problemi di natura etica, amministrativa, tecnologica, scientifica e organizzativa, in parte non ancora risolti [7]. Quando viene disegnato un pannello di NGS, è necessario che abbia una elevata sensibilità e specificità, dal momento che la sua efficacia nell'identificare le alterazioni molecolari non deve essere inferiore a quella delle metodiche standard e possibilmente in grado di aggiungere ulteriori informazioni clinicamente utili. Inoltre, l'interpretazione dei risultati è un processo complesso, così come complessa è la gestione etica delle informazioni ottenute dal sequenziamento ad ampio spettro molecolare, soprattutto quando l'analisi include la valutazione di varianti germinali o quando è disponibile un numero limitato di farmaci registrati dagli Enti regolatori.

### 2.3 Esperienze passate e in corso con NGS

Diversi studi di fase II hanno testato l'utilità dell'applicazione di ampi pannelli di profilazione genica in pazienti con neoplasie. In alcuni casi, gli studi sono stati sviluppati con un disegno "ad ombrello",

che prevedeva la valutazione di target molecolari diversi in pazienti affetti dalla stessa neoplasia. In altri casi, invece, è stato adottato un disegno "basket", che prevedeva la valutazione della stessa alterazione molecolare e, quindi, l'utilizzo di una stessa terapia target in pazienti con neoplasie differenti.

Lo **studio SHIVA** ha dimostrato per la prima volta la fattibilità dell'applicazione della medicina di precisione in pazienti affetti da neoplasie solide. Era uno studio di fase II, multicentrico, disegnato per confrontare in 741 pazienti con neoplasie solide, in progressione a terapia standard, la sopravvivenza libera da progressione (PFS) osservata in corso di trattamento con terapie a bersaglio molecolare, selezionate sulla base del profilo biologico del tumore, rispetto alla PFS misurata in corso di terapia standard [8]. Il tessuto veniva analizzato per la ricerca di alterazioni molecolari in 46 geni. La terapia includeva l'utilizzo di farmaci approvati, ma fuori dalla loro indicazione di prescrivibilità ed era scelta sulla base di un algoritmo informatico predefinito. Tra i pazienti arruolati, nel 67% dei casi è stato possibile effettuare la caratterizzazione molecolare del tessuto e nel 40% di questi è stata identificata un'alterazione molecolare targettabile. Lo studio non ha, però, dimostrato un incremento significativo della PFS quando i pazienti sono stati sottoposti a trattamento a bersaglio molecolare. Le ragioni di questo fallimento sono molteplici e includono l'impiego di un algoritmo informatico non ottimizzato per definire l'impatto biologico delle alterazioni molecolari driver (soprattutto in presenza di alterazioni molecolari concomitanti) e l'utilizzo, in alcuni casi, di terapie a bersaglio molecolare con scarsa attività di efficacia nei confronti delle alterazioni molecolari identificate.

A differenza dello studio SHIVA, lo **studio MOSCATO-01** ha dimostrato, per la prima volta, l'utilità dell'impiego di pannelli di ampia profilazione genica come criterio per la selezione del trattamento in pazienti con neoplasie solide. Simile allo studio SHIVA, obiettivo principale era dimostrare un incremento della PFS nei pazienti sottoposti a terapia a bersaglio molecolare rispetto alla PFS osservata durante la linea terapeutica precedente. Nello studio sono stati arruolati 1.035 pazienti in progressione ad almeno una prima linea terapeutica [9]. Per i pazienti arruolati tra maggio e novembre 2012, il tessuto è stato analizzato per la ricerca di alterazioni molecolari in 40 geni. Per quelli arruolati tra dicembre 2012 e settembre 2013, sono stati analizzati 50 geni, mentre per quelli inclusi dopo settembre 2013, il pannello prevedeva l'analisi di alterazioni molecolari in 75 oncogeni o oncosoppressori. Lo studio ha dimostrato che la terapia a bersaglio molecolare determina un incremento significativo della PFS.

Lo **studio** di fase II, **BATTLE-2**, disegnato per valutare l'efficacia di farmaci a bersaglio molecolare in pazienti con NSCLC e mutazione del gene KRAS, in progressione a chemioterapia di prima linea con il platino, è stato un altro studio negativo [10]. Sono stati arruolati pazienti wild type per la mutazione di EGFR e negativi per il riarrangiamento EML4-ALK, il cui tessuto è stato analizzato con il pannello NGS di Foundation Medicine. Globalmente sono stati identificati 54 pazienti con mutazione di KRAS, randomizzati tra erlotinib, erlotinib in combinazione con MK-2206 (inibitore di AKT), selumetinib (inibitore di MEK) in associazione a MK-2206 o sorafenib. Non è stato osservato alcun beneficio nei diversi bracci di trattamento. Anche in questo caso la scelta dei farmaci ha influito negativamente sui risultati dello studio.

Inoltre, oggi sappiamo che i pazienti con mutazione di KRAS hanno una biologia eterogenea. Infatti, i dati di NGS dimostrano che i pazienti con NSCLC e mutazione di KRAS esprimono alterazioni molecolari concomitanti, come le mutazioni in TP53, quelle in STK11 o quelle in CDKN2A e CDKN2B [11]. La presenza di tali alterazioni può promuovere la proliferazione cellulare e, quindi, favorire lo sviluppo di meccanismi di resistenza. Inoltre, l'eterogeneità biologica ha anche un impatto prognostico. Dati di letteratura dimostrano che i pazienti con NSCLC, mutazione di KRAS e mutazioni di TP53 presentano un elevato tumor mutational burden, rispetto agli altri sottotipi e una maggiore espressione di geni coinvolti nell'immunità e nell'attivazione dei pathway di JAK/STAT e MEK/ERK. Al contrario, invece, pazienti con mutazioni inattivanti di STK11 presentano la mancata attivazione del sistema immunitario, l'attivazione dei pathway di AKT e SRC [12] e una prognosi peggiore [13], mentre quelli con mutazioni in CDKN2A o CDKN2B hanno una bassa espressione di TTF1 e una maggior espressione di marcatori di differenziazione mucinosa. Tutto questo suggerisce che la profilazione molecolare con NGS aiuta a definire meglio la prognosi e la biologia dei pazienti affetti da neoplasie ed è utile per la scelta di terapie di combinazione volte a superare o ritardare l'insorgenza di meccanismi di resistenza [14].

I risultati negativi degli studi SHIVA e BATTLE-2 ci hanno insegnato che, per ottenere il massimo beneficio dall'applicazione della medicina di precisione, è di grande rilievo definire da quali pathway le cellule tumorali sono dipendenti o indipendenti per la proliferazione cellulare, oltre che utilizzare farmaci in grado di inibire la funzione delle alterazioni driver.

Sono numerosi gli studi in corso che stanno valutando il ruolo di NGS nella pratica clinica. Molti includono anche pazienti con diagnosi di NSCLC in stadio avanzato. Nella maggior parte dei casi si tratta di studi che arruolano una popolazione pretrattata.

Lo **studio TAPUR** (NCT02693535) è uno studio di fase II che ha l'obiettivo di valutare l'efficacia di farmaci disponibili in commercio, ma al di fuori della loro indicazione, in pazienti con neoplasie solide, linfoma non-hodgkin, o mielina multiplo, in progressione a trattamenti standard [15]. I pazienti sono arruolati in coorti definite sulla base del tipo di tumore, dell'alterazione molecolare e del trattamento farmacologico. L'obiettivo è quello di valutare la percentuale di risposte obiettive (ORR) o di stabilità di malattia di almeno 16 settimane in ogni coorte. Solo in caso di risposte in almeno 2 pazienti, l'arruolamento viene esteso ad altri 18 casi. In presenza di risposte in almeno 7 pazienti su 28 arruolati in ogni coorte, viene definito un segnale di attività per quel farmaco.

Lo **studio S1400 Lung-MAP** (NCT02154490) è un altro studio prospettico di fase II, "a ombrello", inizialmente disegnato per arruolare pazienti con NSCLC a istologia squamosa, in progressione a una prima linea di trattamento [16]. L'arruolamento è iniziato a giugno 2014 e si è completato a gennaio 2019, quando un nuovo protocollo è stato aperto per includere tutti i pazienti con NSCLC. L'obiettivo è quello di identificare nuovi target e testare nuovi trattamenti farmacologici per accelerare lo sviluppo di nuovi farmaci. Al momento sono attivi 11 sotto-studi. Tra questi, solo in 3 l'arruolamento dei pazienti continua ad essere attivo. Il tessuto viene analizzato con il pannello NGS di Foundation Medicine. Nonostante al momento siano state identificate poche alterazioni molecolari

targettabili [17-19], grazie allo studio Lung-Map stanno emergendo nuovi target. Tra questi, le mutazioni in NFE2L2 e KEAP1. Questo ha consentito di testare nuovi farmaci che stanno dimostrando una promettente attività farmacologica. Grazie al disegno "a ombrello", lo studio Lung-Map sta consentendo di valutare l'efficacia preliminare di trattamenti nuovi, riducendo i costi e il tempo.

Lo **studio National Lung Matrix** (NCT02-664935) è uno studio di fase II, disegnato in pazienti con NSCLC in progressione a terapie standard, stratificati sulla base di alterazioni molecolari, e sottoposti a terapie sperimentali, con l'obiettivo di valutare l'efficacia di farmaci nuovi [20].

Nella tabella 1 sono riassunti gli studi che stanno testando una strategia di ampia profilazione molecolare in pazienti con diagnosi di NSCLC.

Quando l'arruolamento sarà completato, è auspicabile lo sviluppo di un database globale, che includa i dati genomici e clinici dei pazienti e l'effetto delle terapie testate. Questo consentirà l'identificazione di piccoli sottogruppi di pazienti, classificati dal punto di vista molecolare, ed eventualmente lo sviluppo accelerato di nuovi farmaci.



Tabella 1  
Studi condotti con NGS in pazienti con NSCLC

STUDIO (ref)	PAZIENTI	BIOMARKERS	ARRUOLAMENTO FARMACI
BATTLE 2 (10)	200 pazienti con NSCLC, EGFR WT, EML4-ALK-, <u>in progressione</u> a terapia standard, 154 KRAS mut+	mRNA GeneChip Human Gene 1.0 ST Array from Affymetrix + NGS Foundation Medicine	<u>chiuso</u> Erlotinib Erlotinib + MK-2206 Selumetinib + MK-2206 Sorafenib
S1400 Lung-MAP (16) (NCT02154490)	10000 pazienti con ca squamoso, in <u>progressione alla prima linea</u>	NGS (200 geni)	<u>ongoing</u> Docetaxel Durvalumab Erlotinib AZD4547 Ipilimumab Nivolumab Palbociclib Rilotumumab Talazoparib Taselisib Tremelimumab
SAFIRO2_Lung (NCT02117167)	650 pazienti con NSCLC, EGFR WT, EML4-ALK-, con SD o PR <u>dopo 4 cicli di chemioterapia con platino</u>	DNA microarrays e NGS (50 geni, ampli-Seq, ion torrent)	<u>ongoing</u> AZD2014 AZD4547 AZD5363 AZD8931 Selumetinib Vandetanib Pemetrexed Durvalumab savolitinib Olaparib
National Lung Matrix (NCT02664935)	620 pazienti con NSCLC <u>in progressione</u> a terapia standard	NGS (143 geni)	<u>ongoing</u> AZD4547 Vistusertib Palbociclib Crizotinib Selumetinib Docetaxel AZD5363 Osimertinib Durvalumab Sitravatinib

## 2.4 Requisiti tecnici per utilizzare nella pratica clinica un pannello NGS

Al fine di garantire un sequenziamento genico appropriato, l'intero processo (dalla raccolta del campione alla stesura del report genetico) richiede un'organizzazione strutturata che assicuri la qualità del test.

### L'adeguatezza del campione istologico

rappresenta uno dei requisiti essenziali per procedere alla profilazione genica. Il ruolo del patologo è fondamentale e deve considerare le seguenti caratteristiche al fine di definire l'adeguatezza del campione tumorale:

- densità cellulare;
  - presenza di necrosi e fibrosi;
  - percentuale di cellule tumorali presenti.
- Dati di letteratura suggeriscono che la quantità di cellule tumorali ideale dovrebbe essere di almeno il 40% per garantire l'appropriatezza del risultato del test. Tuttavia, ci sono esperienze che suggeriscono che anche campioni con cellularità del 10% possono essere analizzati.

L'**analisi dei dati genetici**, dopo sequenziamento NGS, rappresenta uno degli step più critici. La complessità di questo processo richiede la costituzione di un molecular tumor board, dove esperti in genetica, oncologia, bioinformatica, biologia molecolare e anatomia patologica analizzano i dati di NGS per tradurli in informazioni cliniche che possono avere una ricaduta terapeutica (figura 1). L'articolo 22 del GDPR prevede, infatti, che la decisione terapeutica derivata dai dati di profilazione molecolare non sia basata su un processo automatizzato. Ecco perché è richiesta una discussione all'interno del molecular tumor board al fine di definire se le alterazioni identificate hanno una

funzione biologica, valutare i pathway di segnale attivi, il loro livello di "actionability" e ricercare la presenza di trial clinici in caso di varianti genetiche per cui non sono presenti trattamenti approvati con il Servizio sanitario nazionale. Ad oggi sono ancora pochi i centri in Italia in cui il molecular tumor board è presente. Inoltre, da una recente survey è emerso che nella maggior parte dei centri manca la figura del bioinformatico.

## 2.5 Conclusione direzioni future

Vista la complessità della gestione dei dati di NGS (figura 2), fino a quando le metodiche di NGS non diventeranno uno standard è necessario che siano applicate all'interno di studi clinici controllati.

Alleanza Contro il Cancro (ACC) ha recentemente sviluppato un pannello di geni, che consente di analizzare contemporaneamente le sequenze di 182 geni, 139 traslocazioni geniche e 141 varianti germinali in 86 geni.

L'obiettivo dello studio che ACC e Ministero della Salute stanno promuovendo è quello di validare l'oncochip in 1.000 nuovi casi di pazienti con NSCLC in stadio localmente avanzato o metastatico afferenti ai 20 Istituti appartenenti ad ACC. Si tratta del primo studio prospettico italiano che valuta l'uso di NGS per classificare i pazienti con tumore polmonare non a piccole cellule. L'obiettivo dello studio è quello di migliorare la performance della diagnostica molecolare negli Istituti italiani, per sviluppare competenze e costruire infrastrutture per rendere l'Italia indipendente per i servizi di profilazione genica e offrire migliori e nuove opportunità terapeutiche ai pazienti. Dal momento che il pannello NGS è stato sviluppato dall'accademia, lo studio prospettico in corso ha anche l'obiettivo di dimostrare la

sostenibilità di questo approccio su larga scala. Attraverso questo studio, ACC offre un'opportunità per costruire un deposito a livello nazionale di dati genetici e clinici. Tuttavia, i test commerciali restano una possibilità nei centri che non sono autonomi per effettuare un'ampia profilazione genica.

Figura 1  
Definizione del molecular tumor board

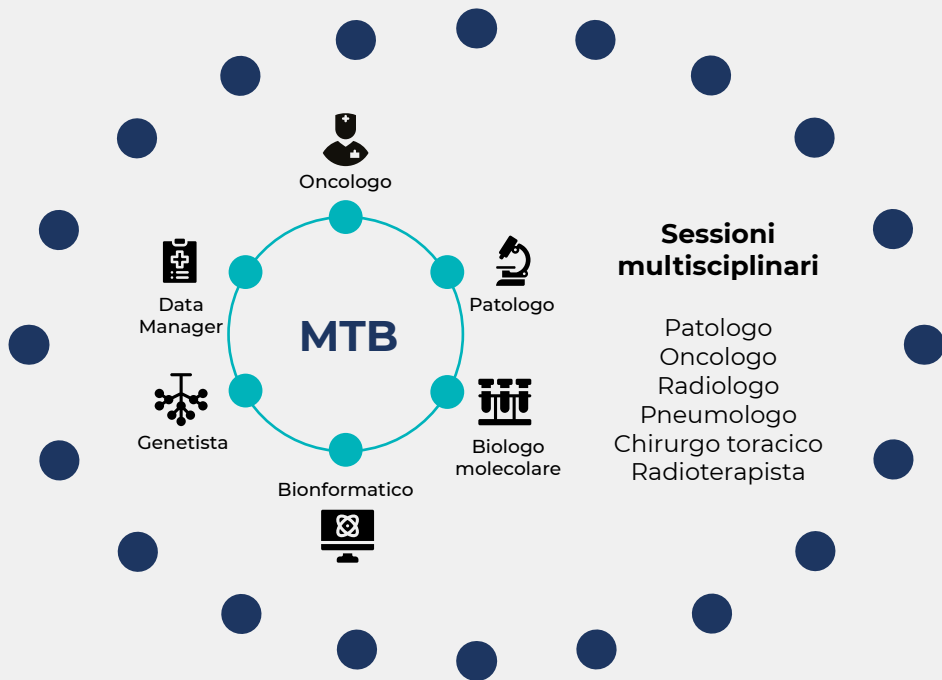
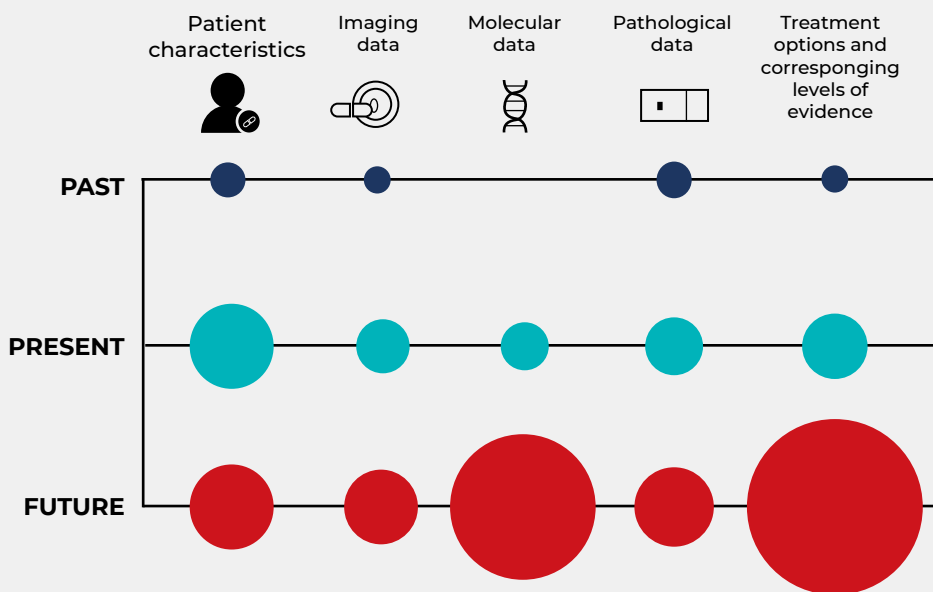


Figura 2  
Complessità delle informazioni disponibili per la scelta terapeutica



## Bibliografia

1. Rosell, R. and N. Karachaliou, Large-scale screening for somatic mutations in lung cancer. *Lancet*, 2016. 387(10026): p. 1354-6.
2. Gobbi, E., et al., Molecular profiling in Italian patients with advanced non-small-cell lung cancer: An observational prospective study. *Lung Cancer*, 2017. 111: p. 30-37.
3. Kris, M.G., et al., Using multiplexed assays of oncogenic drivers in lung cancers to select targeted drugs. *JAMA*, 2014. 311(19): p. 1998-2006.
4. Barlesi, F., et al., Routine molecular profiling of patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a 1-year nationwide programme of the French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT). *Lancet*, 2016. 387(10026): p. 14-15-26.
5. Sundaresan, T.K., et al., Detection of T790M, the Acquired Resistance EGFR Mutation, by Tumor Biopsy versus Noninvasive Blood-Based Analyses. *Clin Cancer Res*, 2016. 22(5): p. 1103-10.
6. Gagan, J. and E.M. Van Allen, Next-generation sequencing to guide cancer therapy. *Genome Med*, 2015. 7(1): p. 80.
7. Mazzarella, L., Are we ready for routine precision medicine? Highlights from the Milan Summit on Precision Medicine, Milan, Italy, 8-9 February 2018. *Ecancermedicascience*, 2018. 12: p. 817.
8. Le Tourneau, C., et al., Molecularly targeted therapy based on tumour molecular profiling versus conventional therapy for advanced cancer (SHIVA): a multicentre, open-label, proof-of-concept, randomised, controlled phase 2 trial. *Lancet Oncol*, 2015. 16(13): p. 1324-34.
9. Massard, C., et al., High-Throughput Genomics and Clinical Outcome in Hard-to-Treat Advanced Cancers: Results of the MOSCATO 01 Trial. *Cancer Discov*, 2017. 7(6): p. 586-595.
10. Papadimitrakopoulou, V., et al., The BATTLE-2 Study: A Biomarker-Integrated Targeted Therapy Study in Previously Treated Patients With Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*, 2016. 34(30): p. 3638-3647.
11. Skoulidis, F., et al., Co-occurring genomic alterations define major subsets of KRAS-mutant lung adenocarcinoma with distinct biology, immune profiles, and therapeutic vulnerabilities. *Cancer Discov*, 2015. 5(8): p. 860-77.
12. Mahoney, C.L., et al., LKB1/KRAS mutant lung cancers constitute a genetic subset of NSCLC with increased sensitivity to MAPK and mTOR signalling inhibition. *Br J Cancer*, 2009. 100(2): p. 370-5.
13. Calles, A., et al., Immunohistochemical Loss of LKB1 Is a Biomarker for More Aggressive Biology in KRAS-Mutant Lung Adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*, 2015. 21(12): p. 2851-60.
14. Chen, Z., et al., A murine lung cancer co-clinical trial identifies genetic modifiers of therapeutic response. *Nature*, 2012. 483(7391): p. 613-7.
15. Mangat, P.K., et al., Rationale and Design of the Targeted Agent and Profiling Utilization Registry (TAPUR) Study. *JCO Precis Oncol*, 2018. 2018.
16. Herbst, R.S., et al., Lung Master Protocol (Lung-MAP)-A Biomarker-Driven Protocol for Accelerating Development of Therapies for Squamous Cell Lung Cancer: SWOG S1400. *Clin Cancer Res*, 2015. 21(7): p. 1514-24.
17. Aggarwal, C., et al., SWOG S1400D (NCT02965378), a Phase II Study of the Fibroblast Growth Factor Receptor Inhibitor AZD4547 in Previously Treated Patients With Fibroblast Growth Factor Pathway-Activated Stage IV Squamous Cell Lung Cancer (Lung-MAP Substudy). *J Thorac Oncol*, 2019.
18. Edelman, M.J., et al., Brief Report: SWOG S1400C (NCT02154490)-A Phase II Study of Palbociclib for Previously Treated Cell Cycle Gene Alteration Positive Patients with Stage IV Squamous Cell Lung Cancer (Lung-MAP Sub-study). *J Thorac Oncol*, 2019.
19. Langer, C.J., et al., Brief Report: SWOG S1400B (NCT02785913), A Phase II Study of GDC-0032 (Taselisib) for Previously Treated PI3K-Positive Patients with Stage IV Squamous Cell Lung Cancer (Lung-MAP Sub-Study). *J Thorac Oncol*, 2019.
20. Middleton, G., et al., The National Lung Matrix Trial: translating the biology of stratification in advanced non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*, 2015. 26(12): p. 2464-9.

Onda medica è la collana di monografie scientifiche di approfondimento e aggiornamento dedicata ai medici promossa dall'Osservatorio nazionale sulla salute della donna e di genere.

Dal 2006 Onda promuove la medicina di genere a livello istituzionale, scientifico, sanitario-assistenziale e sociale con l'obiettivo di sostenere, tutelare e migliorare la salute delle donne secondo un approccio life-course, declinando attività e progetti sulla base delle specifiche esigenze dei diversi cicli vitali femminili.

**[www.ondaosservatorio.it](http://www.ondaosservatorio.it)**

**[www.bollinirosa.it](http://www.bollinirosa.it)**

**[www.bollinirosargento.it](http://www.bollinirosargento.it)**



Realizzato grazie al contributo  
non condizionante di

