

I test genomici

nella scelta del
trattamento del
tumore della
mammella





L'oncologia di precisione

Negli ultimi decenni si è assistito ad una enorme rivoluzione in ambito oncologico. Grazie ai progressi della ricerca sono stati chiariti numerosi aspetti della biologia e della genetica dei tumori. Tali informazioni hanno permesso di utilizzare alcune caratteristiche molecolari del paziente e della sua malattia come un bersaglio di specifiche terapie antitumorali. **Oggi sappiamo, infatti, che non esiste “il” tumore ma “i” tumori**, e che la malattia si sviluppa e progredisce diversamente in ogni individuo. Sappiamo inoltre che il patrimonio genetico, che è unico per ogni individuo, interagisce con l’ambiente in maniera altrettanto unica.

Nasce, così, l’oncologia di precisione, ovvero l’opportunità di individuare la terapia più adeguata per il singolo paziente, sfruttando specifiche alterazioni dei geni o proteine riscontrate in uno specifico tumore, che diventano il bersaglio (definito “target”) di una terapia individualizzata.

Terapie mirate sono oggi disponibili per il trattamento di diversi tumori, quali per esempio il tumore della mammella, il melanoma e il tumore del polmone, “quando” esprimono specifiche alterazioni molecolari.

I test genomici

I test genomici valutano gruppi di geni espressi in uno specifico tessuto, studiando le funzioni e le modalità con cui questi geni interagiscono tra loro. L'indagine genomica è utilizzata con sempre maggior frequenza per meglio comprendere la biologia del singolo tumore e identificare il miglior approccio terapeutico. La genomica applicata al tumore della mammella permette di caratterizzare ancor meglio il tessuto tumorale mammario e prevedere la probabilità di recidiva dopo l'intervento chirurgico e la risposta alle terapie.

Il tumore della mammella

Il tumore della mammella è la neoplasia più diagnosticata nelle donne. La mortalità per tumore della mammella è attualmente in calo, soprattutto nelle donne con meno di 50 anni, grazie alla diffusione dei programmi di screening mammografico e ai notevoli progressi terapeutici. Questi ultimi due elementi fanno sì che, molto più spesso rispetto al passato, il tumore della mammella venga diagnosticato in fase iniziale, quando il trattamento chirurgico può essere più spesso conservativo e la terapia adottata più efficace.



Il trattamento del tumore della mammella in stadio iniziale

Il trattamento loco-regionale standard delle forme iniziali è costituito dalla chirurgia conservativa associata alla radioterapia o dalla mastectomia. Nelle pazienti operate di carcinoma mammario, **il trattamento sistemico adiuvante deve essere preso in considerazione in funzione della significativa riduzione del rischio di recidiva** e di morte ottenuta con la poli-chemioterapia, con la terapia endocrina e con la terapia biologica, in seguito a una attenta valutazione di precisi fattori prognostici, fattori predittivi di risposta a specifici trattamenti, benefici assoluti attesi e, non ultime, comorbidità e preferenza delle pazienti.

Mentre per i carcinomi HER2-positivi e triplo-negativi la chemioterapia è spesso indispensabile e il beneficio è evidente, nei carcinomi con recettori ormonali positivi (ER e/o PgR positivi) e HER2-negativo il beneficio dell'aggiunta della chemioterapia alla terapia endocrina adiuvante è controverso nelle pazienti non ad alto rischio di ripresa.

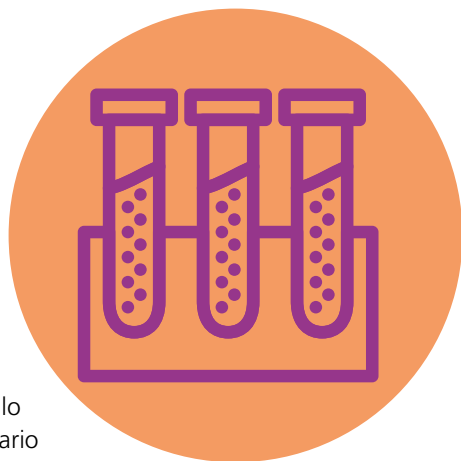
I profili di espressione genica

Per definire con maggiore precisione la prognosi e selezionare il miglior trattamento per la singola paziente sono stati elaborati test di analisi dei profili di espressione genica. Questi test genici analizzano una serie di geni diversi all'interno delle cellule tumorali per prevedere il rischio di recidiva del tumore. I risultati sono utili per valutare nelle donne con carcinoma mammario operato, in fase iniziale, con recettori ormonali positivi e HER2-negativo, la prognosi e la probabilità di trarre beneficio dall'aggiunta della chemioterapia adiuvante all'ormonoterapia.

Sono oggi disponibili in commercio principalmente cinque test di analisi dei profili di espressione genica nel carcinoma mammario: Oncotype DX, MammaPrint, Prosigna (PAM-50), Breast Cancer Index ed Endopredict, tutti eseguibili a partire da tessuto paraffinato.

I test di espressione genica e gli studi di validazione clinica

Oncotype DX Breast Recurrence Score®



È uno dei primi test genomici messi a punto per valutare il profilo molecolare del carcinoma mammario ER-positivo e HER2-negativo. Oncotype DX è stato sviluppato per identificare le pazienti che hanno una prognosi talmente buona da poter evitare la chemioterapia e prevedere i reali benefici della chemioterapia adiuvante in aggiunta alla terapia endocrina.

Il test Oncotype DX analizza, mediante qRT-PCR, l'espressione di 21 geni su tessuto paraffinato. Di questi 21 geni, 16 sono correlati al carcinoma mammario (inclusi quelli coinvolti nella segnalazione e proliferazione degli estrogeni) e 5 sono geni di controllo. Tale test classifica i tumori con recettori ormonali positivi ed HER2-negativo in base ad un "recurrence score" (RS) che varia da 0 a 100. Oncotype DX è stato testato in diversi studi retrospettivi, ma sono disponibili anche i risultati definitivi dello studio prospettico di validazione clinica TAILORx [Trial Assigning Individualized Options for Treatment (Rx)]. Questo studio ha consentito ad Oncotype DX di raggiungere il livello di evidenza I ed un grado di raccomandazione A [I, A] almeno per le pazienti pN0.

Nelle pazienti reseccate con carcinoma invasivo duttale, lobulare o misto, pT1 e pT2, ER+/HER2-negativo, pN0, un RS compreso tra 0-10 equivale ad un rischio di ricorrenza da metastasi a distanza inferiore al 4% a 10 anni dall'intervento chirurgico. In pazienti con RS compreso tra 11-25 lo studio TAILORx ha dimostrato che la terapia endocrina offre un beneficio non inferiore a quello dell'aggiunta della chemioterapia. In donne ≤ 50 anni con RS compreso tra 16-25, l'aggiunta di chemioterapia alla terapia endocrina ha mostrato invece di essere associata ad un più basso tasso di recidiva a distanza della malattia comparato con la sola terapia endocrina. Infine, è opportuno specificare che il TAILORx non randomizzava le pazienti con RS compreso tra 26-30, pertanto in assenza di dati sulle conseguenze dell'omissione della chemioterapia, il clinico dovrebbe orientarsi per la



scelta della terapia per queste pazienti in base alle sole variabili clinico-patologiche. Per quanto riguarda i valori di $RS \geq 31$, è stato dimostrato il beneficio della chemioterapia in aggiunta alla terapia endocrina.

Per quanto riguarda le pazienti con metastasi linfonodali locoregionali (pN+), da 1 a 3 linfonodi coinvolti, i primi risultati dello studio randomizzato prospettico RxPONDER, presentati a dicembre 2020, hanno riportato che le pazienti in post-menopausa con $RS < 25$ non mostrano alcun beneficio della chemioterapia adiuvante in aggiunta alla terapia endocrina, indipendentemente dai parametri clinico patologici. Per le pazienti in pre-menopausa con coinvolgimento linfonodale e $RS < 25$, è stato riscontrato un beneficio della chemioterapia pari al 2,9% sulla recidiva a distanza, pertanto andrebbe presa in considerazione la chemioterapia adiuvante in aggiunta all'ormonoterapia.

MammaPrint®

È un test in microarray che può essere eseguito sia su campione congelato che paraffinato. È un test genomico in grado di predire il rischio di recidiva a distanza entro 5 anni dalla diagnosi in pazienti con carcinoma mammario ER/PgR-positivo/HER2-negativo, senza metastasi linfonodali ascellari o con un numero massimo di 3 linfonodi metastatici ascellari. Il test analizza l'espressione di 70 geni e fornisce un risultato dicotomico che suddivide le pazienti in un gruppo a basso rischio di ricaduta a distanza e un gruppo ad alto rischio di ricaduta a distanza.

L'utilizzo di MammaPrint® è supportato da un alto livello di evidenza clinica (livello IA), che è stato ottenuto attraverso una robusta validazione retrospettiva su numerosi trial clinici randomizzati, a cui ha fatto seguito la validazione prospettica in un trial clinico dedicato. Lo studio "Microarray In Node-negative Disease may Avoid ChemoTherapy" (MINDACT) è uno studio controllato randomizzato che valuta l'impatto di MammaPrint® nella pratica clinica. Secondo i risultati di questo studio per le 1.550 pazienti ad alto rischio clinico e basso rischio genomico secondo MammaPrint non randomizzate a ricevere la chemioterapia, la sopravvivenza libera da metastasi a 5 anni è stata del 94,7% con una differenza assoluta rispetto alle pazienti che hanno ricevuto chemioterapia dell'1,5%, permettendo

agli autori di poter concludere che circa il 46% delle pazienti ad alto rischio clinico potrebbero risparmiare chemioterapia adiuvante in aggiunta all'ormonoterapia.

I risultati dello studio MINDACT hanno fornito l'evidenza per l'uso di MammaPrint® in pazienti con tumore mammario ER positivo e HER2-negativo con linfonodi negativi (NO) o con un massimo di 3 linfonodi positivi.

PROSIGNA®

È un test di "seconda generazione" poiché, differentemente dai test di prima generazione (es. Oncotype Dx® e MammaPrint®), l'algoritmo di calcolo mette insieme i dati del profilo di espressione genica con variabili clinico-patologiche come la dimensione della neoplasia (espressa come minore o maggiore di 2 cm) e la presenza o assenza di metastasi linfonodali, per generare una categoria di rischio e uno score numerico che permette di valutare il rischio di ripresa di malattia a distanza.

Prosigna® (PAM50) negli studi clinici ha evidenziato il suo ruolo prognostico, pur con il limite di essere stato valutato solo retrospettivamente senza validazioni prospettiche.

Pertanto, sebbene il test PAM50 permetta di effettuare una valutazione prognostica, in assenza di studi interventistici prospettici ad oggi non può essere considerato predittivo di beneficio clinico da un trattamento chemioterapico adiuvante.



Endopredict®

In pazienti con tumore mammario in stadio iniziale, ER-positivi e HER2-negativo in terapia ormonale adiuvante, il test Endopredict® offre informazioni prognostiche, valutando la probabilità di recidiva a distanza. In questa popolazione di pazienti, un elevato score (EPclin) è correlato ad un aumento delle recidive a distanza e può essere utilizzato per valutare l'aggiunta della chemioterapia all'ormonoterapia.

Il test può essere effettuato sia nelle pazienti con linfonodi negativi, sia nelle pazienti con 1-3 linfonodi positivi. Poiché il valore prognostico è particolarmente evidente nelle recidive tardive, risulta utile nella scelta della terapia ormonale oltre i 5 anni di trattamento.

Breast Cancer Index® (BCI)

È un test molecolare che si basa sulla determinazione di 7 geni, di cui 5 sono correlati al ciclo cellulare e fanno parte del cosiddetto *Molecular Grade Index* (MGI) e 2 (HOXB13/IL17BR) forniscono un valore di ratio che tanto è maggiore, quanto più è alta la probabilità della paziente di recidivare/non rispondere all'ormonoterapia adiuvante. I risultati degli studi clinici supportano il valore prognostico del BCI sia sulla recidiva precoce che tardiva e il valore predittivo sul beneficio della terapia ormonale in *extended*. Non esistono tuttavia evidenze prospettiche che validino l'utilizzo di BCI.

Come si effettua il test genomico

I profili di espressione genica possono essere ottenuti attraverso vari tipi di analisi tra cui le più diffuse sono:

- a) DNA Microarrays
- b) RNA-seq
- c) qPCR

Ognuna di queste tecniche ha specifiche peculiarità, ma tutte partono da due tappe fondamentali:

- a) l'estrazione di RNA totale dal materiale biologico di interesse;



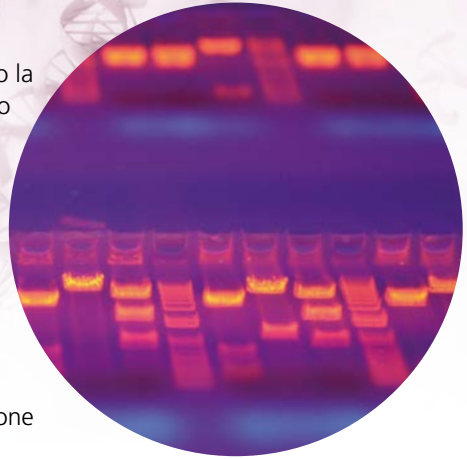
b) la conversione di RNA in complementary DNA (cDNA), ovvero la molecola di DNA a filamento singolo che viene prodotta sullo stampo di RNA a opera dell'enzima trascrittasi inversa.

La creazione di una libreria di cDNA è un passo fondamentale nel profilo di espressione genica. Lo sviluppo di High-Throughput Next Generation Sequencing (sequenziamento di nuova generazione – NGS – ad alto rendimento) ha rivoluzionato il profilo dell'espressione genica.

NGS offre la capacità di sequenziare gli acidi ribonucleici attraverso il sequenziamento del cDNA (RNA-seq) in modalità alto rendimento. Al termine dell'analisi, il livello di espressione di ciascun gene viene stimato contando il numero di letture che si allineano a ciascuna trascrizione integrale dello specifico RNA (cDNA).

La tecnica di qPCR è utilizzata per quantificare l'espressione genica: in tal modo, uno specifico target o biomarcatore può essere valutato sia in fase diagnostica o in seguito, durante il follow-up, per verificare l'efficacia della terapia.

I test che profilano l'espressione genica analizzano una serie di geni diversi all'interno delle cellule tumorali per prevedere il rischio di recidiva del tumore. I risultati aiutano gli specialisti, in particolare gli oncologi, a valutare nelle donne con carcinoma mammario operato, in fase iniziale, con recettori ormonali positivi e HER2-negativo, la prognosi e la probabilità di trarre beneficio dall'aggiunta della chemioterapia adiuvante all'ormonoterapia.



Il rimborso dei test in Italia

Dal 2019 i test genomici sono stati resi disponibili nella Provincia Autonoma di Bolzano e in Regione Lombardia. A luglio 2019 la Regione Lombardia (Delibera N. 11/1986 seduta del 23/07/2019) ha deliberato i seguenti criteri di accesso al test: "Pazienti con carcinoma della mammella endocrino-responsivo in stadio precoce considerate a rischio intermedio

per le quali il clinico potrebbe porre una indicazione a chemioterapia adiuvante”.

La stima delle pazienti lombarde che usufruiranno del test è pari a circa 1.500 pazienti/anno, con possibile riduzione in circa il 50-75% dei casi del ricorso a chemioterapia.

Erogabilità del test e compartecipazione alla spesa

Alle pazienti residenti in Lombardia con le caratteristiche sopra declinate, è garantito l'accesso al test seguendo le regole della compartecipazione alla spesa vigenti (ticket). Alle pazienti non residenti in Lombardia, la prestazione può essere erogata a carico del Servizio Sanitario della Regione di appartenenza qualora l'Azienda Sanitaria di residenza accetti preventivamente l'addebito, ovvero previa accettazione della paziente che l'onere sia posto a suo totale carico.

A dicembre 2020, la Giunta regionale della Toscana ha approvato la delibera che stabilisce la rimborsabilità dei test genomici nel tumore della mammella in Toscana. La rimborsabilità è stabilita per le pazienti con tumori della mammella in stadio iniziale, che esprimono i recettori estrogenici (ER) ma non la proteina HER2, quando il clinico, sulla base di criteri clinico-patologici classici, ritenga che il beneficio di una chemioterapia adiuvante (cioè dopo l'intervento chirurgico) in aggiunta alla terapia ormonale sia incerto. Altre Regioni stanno valutando questa possibilità. Esistono poi alcune realtà, come la ASL di Chieti, ove viene fornito il test gratuitamente, facendosi carico dei costi, sin dal 2014.

A dicembre 2020, la Commissione Bilancio della Camera dei Deputati ha approvato un emendamento al Disegno di Legge di Bilancio, istituendo un Fondo di 20 milioni di euro per il rimborso nazionale diretto delle spese sostenute dagli ospedali per l'acquisto dei test genomici nelle donne con carcinoma mammario ormonoresponsivo in stadio precoce. Il provvedimento è stato inserito nella Legge di Bilancio 2021.





Conclusioni

La personalizzazione dell'iter terapeutico e la possibilità di selezionare le pazienti che necessitano e beneficiano del trattamento chemioterapico è un obiettivo condiviso e perseguito come razionale da tutti i test di profilazione genica qui riportati.

Pur non essendone dimostrata in maniera inconfutabile la *clinical utility* e con le sostanziali differenze fra i test stessi, i test di espressione genica sono sicuramente un ausilio valido nel decision making per la pianificazione terapeutica nelle condizioni indicate dalla Conferenza di San Gallen 2019.

Pertanto sarebbe auspicabile che i test genomici, pur rientrando a discrezione del clinico nel processo decisionale, fossero accessibili sull'intero territorio nazionale alle pazienti che ne possano trarre un beneficio clinico.



Associazione Italiana di Oncologia Medica

Via Nöe 23, 20133 Milano
tel. +39 02 70630279
fax +39 02 2360018
aiom@aiom.it
www.aiom.it

Consiglio Direttivo Nazionale AIOM

Presidente Nazionale
Giordano Beretta

Presidente Eletto
Saverio Cinieri

Segretario Nazionale
Massimo Di Maio

Tesoriere Nazionale
Antonio Russo

Consiglieri Nazionali

Rita Chiari
Ugo De Giorgi
Lucia Del Mastro
Dario Giuffrida
Nicla La Verde
Francesco Perrone
Nicola Silvestris
Marcello Tucci
Antonio Russo



Realizzazione



via Malta 12/b, 25124 Brescia
intermedia@intermedianews.it
www.medinews.it
www.intermedianews.it

*Realizzato grazie al supporto
non condizionato di*

**EXACT
SCIENCES**