



## INDICE

SOMMARIO ESECUTIVO.....	3
RACCOMANDAZIONI.....	4
<b>CAPITOLO 1</b>	
1.1 Definizione di test prognostico in oncologia.....	5
1.2 Definizione di test predittivo in oncologia.....	7
<b>CAPITOLO 2</b>	
2.1 TMP nel <b>carcinoma mammario</b> (metodi e tecnologie) .....	8
2.1.1 <i>Introduzione</i> .....	8
2.1.2 <i>Principali test genomici sviluppati e relativi studi di validazione</i> .....	8
2.2 Indicazioni di linee guida all’utilizzo.....	22
2.3 Appropriata prescrizione – popolazione target.....	24
<b>CAPITOLO 3</b>	
3.1 TMP nel <b>carcinoma prostatico</b> .....	27
<b>CAPITOLO 4</b>	
4.1 TMP nel <b>carcinoma del colon retto</b> .....	38
<b>CAPITOLO 5</b>	
5.1 TMP in <b>onco-ematologia</b> .....	41
GRUPPO DI LAVORO “TMMP” Consiglio Superiore di Sanità.....	47



tutela delle/dei pazienti, nonché un'analisi dei costi nell'ottica di una politica economico sanitaria efficace ed efficiente.

Il Gruppo di lavoro ritiene di porre in evidenza inoltre che i TMP sono diventati indispensabili strumento per la definizione del protocollo terapeutico più indicato in particolari subset di carcinoma della mammella e che la loro richiesta è in costante aumento. Il costo dei TMP può essere quindi bilanciato da un migliore inquadramento diagnostico e, di conseguenza, da **terapie più appropriate e mirate**. Il documento presterà particolare attenzione alla definizione dei criteri di **appropriatezza prescrittiva** dei test **nelle pazienti con carcinoma della mammella**.

Nelle Raccomandazioni sono riportati i principi rispetto all'introduzione dei TMP nei LEA nonché i criteri per le condizioni di erogabilità, l'appropriatezza prescrittiva e la sicurezza delle analisi genomiche, includendo la non rimborsabilità in assenza dei requisiti citati.

## **RACCOMANDAZIONI**

**R1. Prevedere l'inserimento nei Livelli Essenziali di Assistenza (LEA) dei Test Multigenici Prognostici (TMP), come approfondimento diagnostico e prognostico nell'oncologia della mammella.**

**R2. Definire le condizioni di erogabilità delle prestazioni di cui al punto R1 al fine di consentire il rispetto dei criteri di appropriatezza in relazione allo specifico quesito clinico ed evitare l'esecuzione di analisi inutili o addirittura dannose.**

**R3. Stabilire il costo rimborsabile dei TMP nei LEA**

## CAPITOLO 1

Una definizione di termini clinici efficace e inequivocabile è essenziale per una traduzione efficiente di promettenti prodotti medici in applicazione come standard diagnostico. Definizioni poco chiare e uso incoerente di termini chiave possono ostacolare la valutazione e l'interpretazione di prove scientifiche e possono costituire ostacoli significativi ai programmi di sviluppo e di utilizzo di tali prodotti. Per questo di seguito sono riportate in modo sintetico le definizioni di test prognostico e test predittivo e il loro fine applicativo, soprattutto in considerazione che per un test prognostico può essere dimostrato anche il valore predittivo e viceversa.

### 1.1. Definizione di Test Prognostico in Oncologia

I **fattori prognostici** in oncologia sono variabili associate all'evoluzione della malattia e si riferiscono a: i) caratteristiche cliniche del paziente (età, condizioni cliniche, sesso etc); ii) stadio del tumore (diametro, invasione, metastasi etc); iii) caratteristiche biologiche del tumore che ne definiscono l'aggressività intrinseca. I **"test prognostici"** sono le indagini che vengono eseguite per la identificazione di tali caratteristiche biologiche che rappresentano i biomarcatori prognostici della malattia.

Un biomarcatore prognostico in oncologia viene misurato prima del trattamento e identifica quindi le caratteristiche molecolari o istopatologiche specifiche del tumore che sono associate alla sopravvivenza del paziente o al decorso della malattia, indipendentemente dal tipo di terapia che viene somministrata. I parametri clinici che vengono comunemente utilizzati per valutare l'effetto prognostico di un marcatore sono la sopravvivenza globale, la sopravvivenza cancro-specifica e la sopravvivenza libera da malattia, in base alla fase della malattia.

Un marcatore prognostico non fornisce informazioni sulla possibilità di risposta del paziente ad una determinata terapia, ma può consentire, ad esempio, la selezione di pazienti che necessitano di una sorveglianza clinica più frequente o di terapia adiuvante o di un regime terapeutico più intensivo, a seconda dello stadio di malattia e del livello di rischio.

Alcune caratteristiche intrinseche biologiche di un tumore possono essere derivate dalle indagini istologiche classiche (e.g. atipie morfologiche, indice di proliferazione, presenza di invasione vascolare, presenza di metastasi linfonodali) o da indagini immunocitochimiche che valutano l'espressione di particolari proteine (ad esempio recettore per gli ormoni estrogeni nel carcinoma della mammella). Altri marcatori prognostici possono essere individuati solo con analisi di sequenziamento per identificare varianti geniche (ad esempio mutazioni associate alla maggiore/minore aggressività della malattia come la instabilità dei microsatelliti o le mutazioni di BRAF nel carcinoma del colon), oppure richiedono la valutazione dei livelli di espressione di molteplici geni che identificano le caratteristiche di aggressività del tumore (test prognostici multigenici).

Per valutare l'efficienza, l'efficacia e l'affidabilità di un test prognostico, occorre considerare la sua *validazione analitica* e l'*accuratezza prognostica*. La validità analitica stabilisce la performance del test stesso nel laboratorio e definisce l'abilità di misurare in modo accurato, affidabile e riproducibile ciò che il test si propone di analizzare<sup>1,2</sup>. La validità analitica è una funzione di molti fattori, come accuratezza analitica (grado di concordanza tra la stima ed il valore vero della grandezza), precisione (grado di concordanza tra misure replicate effettuate sul medesimo campione), sensibilità (minima concentrazione di analita che il metodo permette di identificare) e specificità analitica (capacità di un metodo di determinare solamente il costituente che si intende misurare senza risentire di interferenze). L'*accuratezza prognostica* è la capacità del test di predire quale soggetto ha una più alta o più bassa possibilità di raggiungere l'esito previsto e il grado di correlazione tra la probabilità di una certa prognosi nella popolazione predetta dal test e la probabilità reale ossia la "validità clinica". Quando l'esito clinico di interesse è una variabile continua come il tempo all'evento metodi di regressione possono essere usati per modellare la relazione tra i risultati del test (discreta o continua) e l'esito di interesse. Quando è applicato un cut-off di tempo all'evento variabile (5 anni, 10 anni, etc.) è importante ricordare che alcuni test possono essere più accurati a predire un evento precoce rispetto ad un evento tardivo e viceversa. Indispensabile è la valutazione della "utilità clinica" del test, che può concretizzarsi nel costo-beneficio economico ed umano, che comporta una valutazione della accessibilità, praticabilità, accettabilità e appropriatezza del test.<sup>3</sup> Occorre inoltre considerare le implicazioni etiche, legali e sociali ed economiche che derivano dall'utilizzo del test.<sup>4,5,6,7</sup>

---

<sup>1</sup> Moore HM et al. Biospecimen Reporting for Improved Study Quality (BRISQ). *Cancer Cytopathol.* 2011;119(2):92-101.

<sup>2</sup> Altman DG, et al. Reporting recommendations for tumor marker prognostic studies (REMARK): explanation and elaboration. *BMC Med.* 2012, 29;10:51.

<sup>3</sup> Smart A. A multi-dimensional model of clinical utility. *Int J Qual Health Care.* 2006;18(5):377-82.

<sup>4</sup> Reed SD, Lyman GH. Cost effectiveness of gene expression profiling for early stage breast cancer: a decision-analytic model. *Cancer.* 2012;118 (24):6298-9.

<sup>5</sup> Towse A, et al. Understanding the economic value of molecular diagnostic tests: case studies and lessons learned. *J Pers Med.* 2013;3 (4):288-305

<sup>6</sup> Sullivan SD, et al. Budget impact analysis-principles of good practice: report of the ISPOR 2012 Budget Impact Analysis Good Practice II Task Force. *Value Health* 17(1), 5-14 (2014).

<sup>7</sup> Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health. Guidelines for the Economic Evaluation of Health Technologies: Canada 3rd Edition, 2006. Disponibile al link: [https://www.cadth.ca/media/pdf/186\\_EconomicGuidelines\\_e.pdf](https://www.cadth.ca/media/pdf/186_EconomicGuidelines_e.pdf)



## CAPITOLO 2 – CARCINOMA MAMMARIO

### 2.1 Test Multigenici Prognostici (TMP) nel carcinoma mammario

#### 2.1.1 Introduzione

Nelle pazienti affette da tumore mammario operato, un 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, co-morbilità e preferenza delle pazienti. Mentre per i tumori HER2-positivi (HER2+) e triplo-negativi, ossia tumori che non esprimono i recettori per gli estrogeni (ER-) e il progesterone (PgR-) e sono HER2-negativi (HER2-), il beneficio della chemioterapia (CT) è evidente e spesso indispensabile, nei tumori ormono-positivi HER2-negativi (ER+/HER2-) il beneficio dell'aggiunta della CT all'ormonoterapia adiuvante è controverso in pazienti (soprattutto giovani, con tumori piccoli e metastasi linfonodali assenti) a non-alto rischio.

Per definire con maggiore precisione la prognosi e selezionare il miglior trattamento per la singola paziente sono stati elaborati test multigenici prognostici (TMP), basati sull'analisi dei profili di espressione genica tumorale. Sono oggi disponibili in commercio cinque TMP validati nel carcinoma della mammella.

Per lo scopo di questo documento verranno illustrati solo i test per i quali sono disponibili dati di validazione robusti, ovvero Oncotype Dx<sup>®</sup>, MammaPrint<sup>®</sup>, Endopredict<sup>®</sup> e Prosigna<sup>®</sup>.

Nonostante l'ampia validazione retrospettiva, dati di validazione su base prospettica sono disponibili unicamente per Oncotype DX<sup>®</sup> e MammaPrint<sup>®</sup>.

#### 2.1.2 Principali test genomici sviluppati e relativi studi di validazione

##### Oncotype DX<sup>®</sup>

Il test Oncotype Dx<sup>®</sup> analizza, mediante Quantitative Real-Time Reverse Transcription PCR (qRT-PCR), l'espressione di 21 geni su preparati istologici in paraffina. Di questi 21 geni, 16 sono correlati al cancro alla mammella (inclusi quelli coinvolti nella trasmissione del segnale degli estrogeni e proliferazione) e 5 sono geni di controllo. L'esito di tale test viene espresso in termini di "recurrence score" (RS), variabile da 0 a 100, e calcolato secondo un algoritmo matematico<sup>8</sup>. Il test Oncotype DX<sup>®</sup> è stato sviluppato a partire

da 250 geni inizialmente identificati in una coorte di training, rappresentata da 447 campioni tumorali raccolti da pazienti arruolati in 3 trial clinici.

L'iniziale suddivisione del rischio di recidiva sulla base del RS considerava 3 gruppi di pazienti:

- Rischio Basso (RS 0-17);
- Rischio Intermedio (RS 18-30);
- Rischio Alto (RS 31-100).

Il valore prognostico del test Oncotype DX® è stato inizialmente valutato retrospettivamente nel 2004 utilizzando i campioni tumorali di pazienti con tumore mammario ormono-positivo, con linfonodi negativi, trattati con Tamoxifene adiuvante nell'ambito dello studio NSABP-B14. Il primo obiettivo era verificare se la proporzione di pazienti liberi da recidive a distanza a 10 anni fosse maggiore nel gruppo a basso rischio rispetto a quello ad alto rischio. Il secondo obiettivo era definire se ci fosse una relazione statisticamente significativa tra lo score definito dall'Oncotype DX® e il rischio di recidiva a distanza. Le recidive a distanza a 10 anni, erano nel basso, intermedio e alto rischio, pari al 6.8%, 14.3% e 30.5%, rispettivamente ( $P < 0.001$  tra basso e alto rischio). Inoltre il *recurrence score*, in analisi multivariata, risultava avere un valore indipendente predittivo di recidiva a distanza rispetto all'età del paziente e alla dimensione del tumore<sup>8</sup>.

Uno studio successivo ha valutato il ruolo potenziale di Oncotype DX® nel predire il beneficio della chemioterapia adiuvante in una popolazione di 651 pazienti con tumore ormono-positivo e linfonodi negativi, arruolati nello studio NSABP-B20. Lo studio si prefiggeva di valutare il beneficio della chemioterapia (CMF o MF) in aggiunta alla terapia per 5 anni con Tamoxifene rispetto al solo Tamoxifene in termini di sopravvivenza libera da malattia a distanza (DDFS). Il test d'interazione tra chemioterapia e RS è risultato statisticamente significativo ( $p = .038$ ): i pazienti con alto RS ( $\geq 31$ ) avevano un grande vantaggio dall'aggiunta della chemioterapia (RR, 0.26; 95% CI, 0.13 to 0.53; riduzione assoluta del rischio di recidiva a distanza a 10 anni del 27.6%). I pazienti con rischio intermedio sembravano non derivare un grande vantaggio, mentre quelli a basso rischio potevano anche trarre uno svantaggio dall'aggiunta della chemioterapia<sup>9</sup>.

Risultati analoghi sono emersi da un terzo studio, che ha valutato il ruolo di Oncotype Dx® in pazienti in post-menopausa affette da tumore mammario ER+/HER2- e linfonodi positivi, sottoposte a chemioterapia adiuvante con regime CAF seguito da Tamoxifene o trattate con il solo Tamoxifene (studio S8814). Lo

---

<sup>8</sup> Paik S, Shak S, Tang G, et al (2004) A Multigene Assay to Predict Recurrence of Tamoxifen-Treated, Node-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med* 351:2817–2826

<sup>9</sup> Paik S, Tang G, Shak S, et al (2006) Gene Expression and Benefit of Chemotherapy in Women With Node-Negative, Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer. *J Clin Oncol* 24:3726–3734

studio ha dimostrato un vantaggio dalla somministrazione della chemioterapia, e la relazione tra RS e sopravvivenza libera da malattia (DFS) è stata valutata per i due gruppi di trattamento, aggiustando la regressione di COX per numero di linfonodi. Il valore di RS è risultato prognostico (DFS a 10 anni pari al 60%, 49% e 43% nei gruppi RS<18, RS 18-30 e RS>30; p 0.017). Non è emerso alcun vantaggio dall'aggiunta della chemioterapia nel basso rischio (p=0.97), mentre si è osservato un aumento della DFS a 10 anni (p=.03) e dell'OS (p=.027) per il gruppo ad alto rischio dopo correzione per numero di linfonodi. Nel gruppo a rischio intermedio non è stato evidenziato alcun vantaggio dall'aggiunta della chemioterapia<sup>10</sup>.

Lo studio prospettico TAILORx ha validato il ruolo di Oncotype Dx® nel processo decisionale terapeutico. Sono state arruolate 10253 pazienti affette da neoplasia mammaria ormono-positiva, HER2-negativa, con linfonodi negativi. Al fine di minimizzare il rischio di *undertreatment*, sono stati impiegati valori di cut-off diversi da quelli definiti inizialmente:

- Basso rischio: RS<11
- Rischio intermedio RS 11-25
- Alto rischio: RS>25

Il gruppo a basso rischio riceveva la sola terapia ormonale, il gruppo con RS alto riceveva chemioterapia e ormonoterapia, mentre quello intermedio veniva randomizzato a sola terapia ormonale oppure chemioterapia e terapia ormonale. L'analisi del gruppo di pazienti a basso rischio ha evidenziato un'ottima sopravvivenza libera da recidiva (iDFS a 5 anni 93.8%) e globale (OS a 5 anni 98%) ottenute con la sola ormonoterapia<sup>11</sup>. L'analisi del gruppo con RS intermedio ha invece dimostrato l'assenza di beneficio dalla somministrazione di chemioterapia nella popolazione globale (iDFS 92.8 vs 93%, p=.48), mentre un beneficio è stato osservato nella sottopopolazione delle donne in età ≤ 50 anni e con RS da 16 a 25 (p=.004)<sup>12</sup>. I dati relativi alla popolazione di pazienti con RS elevato, trattate con la combinazione di chemio- e ormono-terapia, hanno mostrato una sopravvivenza libera da malattia invasiva dell'87.6% e una sopravvivenza globale del 95.9% a 5 anni<sup>13</sup>. Tali risultati dimostrano una prognosi migliore con la chemioterapia rispetto alla sola ormonoterapia nel gruppo con RS alto, se si considerano i dati dello studio

---

<sup>10</sup> Albain KS, Barlow WE, Shak S, et al (2010) Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal women with node-positive, oestrogen-receptor-positive breast cancer on chemotherapy: a retrospective analysis of a randomised trial. *Lancet Oncol* 11:55–65

<sup>11</sup> Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, et al (2015) Prospective Validation of a 21-Gene Expression Assay in Breast Cancer. *N Engl J Med*. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1510764>

<sup>12</sup> Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, et al (2018) Adjuvant Chemotherapy Guided by a 21-Gene Expression Assay in Breast Cancer. *N Engl J Med* 379:111–121

<sup>13</sup> Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, et al (2020) Clinical Outcomes in Early Breast Cancer with a High 21-Gene Recurrence Score of 26 to 100 Assigned to Adjuvant Chemotherapy Plus Endocrine Therapy: A Secondary Analysis of the TAILORx Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol* 6:367–374









## Endopredict®

EndoPredict® è un test genomico prognostico in grado di valutare la probabilità di recidiva a distanza di pazienti affette da neoplasia mammaria ER+/HER2-. Il test analizza l'attività di 12 geni (8 target e 4 di controllo) mediante RT-PCR nelle cellule neoplastiche, fornendo uno score genomico prognostico (EP risk score) che predice il tasso di recidiva tumorale a 10 anni considerando 5 anni di trattamento con sola terapia endocrina. Tale score viene combinato con variabili cliniche quali la dimensione del tumore e lo stato linfonodale, individuando uno score finale clinico-genomico (EPclin), variabile da 1.1 a 6.2, in grado di distinguere le pazienti in basso ed alto rischio di recidiva:

- a) EPclin > 3.3287 (più del 10% del rischio di recidiva), interpretato come alto rischio di recidiva
- b) EPclin < 3.3287 (rischio di recidiva inferiore al 10%), interpretato come basso rischio di recidiva

Il ruolo prognostico dello score EPclin è stato valutato su più di 1500 pazienti arruolate negli studi ABCSG-6 e ABCSG-8, dimostrando di essere un fattore prognostico indipendente rispetto ai soli fattori clinico-patologici. I pazienti a basso rischio clinico avevano un rischio di recidiva a distanza del 4%, in entrambi gli studi, mentre i pazienti con rischio clinico alto avevano un 28% e 22% di recidiva negli studi ABCSG-6 ( $P < 0.001$ ) and ABCSG-8 ( $P < 0.001$ ), rispettivamente<sup>23</sup>.

Un'analisi successiva ha dimostrato come l'EPclin sia in grado di individuare un sottogruppo di pazienti ad ottima prognosi (rischio di recidiva a distanza del 5% a 10 anni) quando trattate con la sola terapia endocrina adiuvante. L'EPclin è in grado di predire una prognosi favorevole anche nella maggior parte dei pazienti attribuiti a rischio intermedio-alto secondo le linee guida NCCN, tedesche e di St Gallen<sup>24</sup>.

EPclin si è dimostrato in grado di fornire indicazioni anche sul rischio di recidive tardive a distanza. Sulle 1702 donne in post-menopausa ER+/HER2- provenienti dagli studi di fase III ABCSG6 e ABCSG8, trattate per 5 anni con Tamoxifene, l'EPclin stratificava il 64% delle pazienti a rischio dopo 5 anni in un ulteriore sottogruppo a basso rischio, con rischio assoluto pari all'1.8% di metastasi a distanza a 10 anni di follow-up. Pertanto, l'EP clinico era in grado di identificare un gruppo ad eccellente prognosi dopo 5 anni di terapia, evitando un trattamento ormonale prolungato ed i suoi relativi effetti collaterali<sup>25</sup>.

---

<sup>23</sup> Filipits M, Rudas M, Jakesz R, et al (2011) A new molecular predictor of distant recurrence in ER-positive, HER2-negative breast cancer adds independent information to conventional clinical risk factors. *Clin Cancer Res* 17:6012–6020

<sup>24</sup> Dubsky P, Filipits M, Jakesz R, et al (2013) EndoPredict improves the prognostic classification derived from common clinical guidelines in ER-positive, HER2-negative early breast cancer. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* 24:640–7

<sup>25</sup> Dubsky P, Brase JC, Jakesz R, et al (2013) The EndoPredict score provides prognostic information on late distant metastases in ER+/HER2-breast cancer patients. *Br J Cancer* 109:2959–2964







Il PROSIGNA® è stato approvato come test in base ai dati ottenuti da 6 data set relativi a trial prospettici randomizzati, (per i quali erano disponibili campioni di tessuto tumorale FFPE, e in cui è stata eseguita rivalutazione retrospettiva (TransATAC <sup>31</sup>, ABCSG8 <sup>32-33</sup>CALGB 9741 <sup>34</sup>, NCIC-MA.21 <sup>35</sup>, GEICAM-9906108 <sup>36</sup>, NCIC-MA.12<sup>37</sup>) e due coorti prospettiche rivalutate retrospettivamente (DBCG <sup>38</sup>British Columbia <sup>39-40</sup>).

Dowsett M e colleghi<sup>31</sup> hanno analizzato una parte di campioni di tessuto tumorale dello studio TransATAC con il PAM50. Sono state incluse 1.007 pazienti in post-menopausa, con carcinoma mammario in fase iniziale, ormonosensibili, operate e trattate con la sola terapia ormonale adiuvante (tamoxifene o anastrozolo) nell'ambito dello studio randomizzato di fase III ATAC. Le pazienti che non presentavano coinvolgimento linfonodale (N0) erano 739, di cui il 57,9% sono risultate ROR-basso rischio, il 26% ROR-rischio intermedio e il 16% ROR- alto rischio. Il ROR-score è risultato essere correlato in maniera statisticamente significativa al rischio di ripresa a 10 anni in tutte le pazienti testate indipendente dal coinvolgimento linfonodale e dallo stato di HER2.

Gnant M et al <sup>32</sup> hanno testato con il PAM50 1.478 pazienti post-menopausali con carcinoma mammario in fase iniziale, recettori ormonali positivi, operato, e trattate con sola ormonoterapia adiuvante nello

---

<sup>32</sup> Gnant M, Filipits M, Greil R, et al. Predicting distant recurrence in receptor-positive breast cancer patients with limited clinicopathological risk: using the PAM50 Risk of Recurrence score in 1478 postmenopausal patients of the ABCSG-8 trial treated with adjuvant endocrine therapy alone. *Ann Oncol* 2014;25:339–45.

<sup>33</sup> Filipits M, Nielsen TO, Rudas M, et al. The PAM50 risk-of-recurrence score predicts risk for late distant recurrence after endocrine therapy in postmenopausal women with endocrine-responsive early breast cancer. *Clin Cancer Res* 2014;20:1298–305

<sup>34</sup> Liu MC, Pitcher BN, Mardis ER, et al. PAM50 gene signatures and breast cancer prognosis with adjuvant anthracycline- and taxane-based chemotherapy: correlative analysis of C9741 (Alliance). *NPJ Breast Cancer* 2016;2:15023

<sup>35</sup> Liu S, Chapman JA, Burnell MJ, Levine MN, Pritchard KI, Whelan TJ, et al. Prognostic and predictive investigation of PAM50 intrinsic subtypes in the NCIC CTG MA.21 phase III chemotherapy trial. *Breast Cancer Res Treat* 2015;149:439–48.

<sup>36</sup> Martin M, Brase JC, Calvo L, Krappmann K, Ruiz-Borrego M, Fisch K, et al. Clinical validation of the EndoPredict test in node-positive, chemotherapy-treated ER+/HER2– breast cancer patients: results from the GEICAM 9906 trial. *Breast Cancer Res* 2014;16:R38

<sup>37</sup> Chia SK, Bramwell VH, Tu D, et al. (2012) A 50-gene intrinsic subtype classifier for prognosis and prediction of benefit from adjuvant tamoxifen. *Clin Cancer Res* 2012;18:4465–72.

<sup>38</sup> Laenkholm A, Jensen M, Eriksen J, et al. (2018) PAM50 risk of recurrence (DR) predicts 10 years distant recurrence in Comprehensive Danish cohort of postmenopausal women allocated to 5 years of endocrine therapy for hormone receptor-positive early breast cancer. *J Clin Oncol* 2018; 36:735-740

<sup>39</sup> Nielsen TO, Parker JS, Leung S, et al. (2010) A comparison of PAM50 intrinsic subtyping with immunohistochemistry and clinical prognostic factors in tamoxifen-treated estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin Cancer Res* 2010;16:5222–32.

<sup>40</sup> Wallden B, Storhoff J, Nielsen T, et al. (2015) Development and verification of the PAM50-based Prosigna breast cancer gene signature assay. *BMC Med Genomics*;8:54. <https://doi.org/10.1186/s12920-015-0129-6>

studio di fase III ABCSG8 <sup>32</sup>. Delle 1.478 pazienti, 502 (34%) sono risultate ROR-basso rischio, 478 (32%) ROR-rischio intermedio e 498 (34%) ROR-alto rischio. La sopravvivenza a 10 anni libera da recidiva a distanza è risultata essere del 96,7% nel gruppo ROR- basso rischio, del 91,3% nel ROR- rischio intermedio e del 79,9% nel ROR- alto rischio. Il ROR-score rispetto alle variabili cliniche standard è risultato essere predittivo di recidiva a distanza in maniera statisticamente significativa. Analogamente ai dati di Dowsett M <sup>31</sup> e colleghi, tale studio riporta un rischio di metastasi a distanza di circa il 3.5% nel gruppo ROR-basso rischio, suggerendo quindi la possibilità di evitare la chemioterapia in questo specifico sottogruppo di pazienti in ragione della prognosi eccellente.

Gli studi CALGB 9741 <sup>34</sup>, NCIC-MA.21 <sup>35</sup>, GEICAM-990610 <sup>36</sup>, NCIC-MA.12 <sup>37</sup> includevano una popolazione di pazienti con caratteristiche clinico-patologiche simili agli studi sopra riportati e che avevano ricevuto chemioterapia adiuvante.

Uno studio danese <sup>38</sup> ha invece analizzato con PROSIGNA® 2.558 campioni di carcinoma mammario con recettori ormonali positivi/HER2 negativi, di cui il 46% erano N0 e il 54% erano N1. I risultati hanno mostrato una ripresa a distanza a 10 anni del 5% nelle pazienti pN0 ROR-basso rischio e del 17,8% nelle pazienti pN0 ROR-alto rischio. Nelle pazienti con linfonodi positivi, il 26% sono risultate ROR-basso rischio con un tasso di ripresa a distanza a 10 anni del 3,5% versus 22,1% del gruppo ROR-alto rischio. Inoltre, il 58% delle pazienti sono risultate avere neoplasie con profilo Luminal A e il 37% Luminal B con un tasso di recidiva a distanza a 10 anni rispettivamente del 7,6% e 18,4% (p< 0.001). Questi dati hanno evidenziato la capacità del PROSIGNA di indentificare quella percentuale di pazienti con linfonodi positivi (N1-3) a buona prognosi con basso rischio di recidiva a distanza a 10 anni.

Anche nella coorte di pazienti con carcinoma mammario trattate al British Columbia <sup>39,40</sup> con chirurgia e ormonoterapia adiuvante, il PAM50 è risultato superiore alle sole variabili cliniche in termini di valore prognostico. L' OPTIMA trial <sup>41</sup> ha confrontato la stratificazione del rischio di recidiva e la classificazione in sottotipi molecolari tra vari test: Prosigna®, Mammaprint®, MammaTyper®, NexCourse Breast (IH4-AQUA)® e IHC4® eseguiti nella stessa popolazione. Sono state incluse 313 pazienti con carcinoma mammario ER+/HER2-negativo con linfonodi positivi (1-9) oppure con linfonodi negativi e con T uguale o superiore a 3cm, randomizzate a ricevere terapia standard (chemioterapia seguita da ormonoterapia

---

<sup>41</sup> Bartlett JMS, Bayani J, Marshall A, et al. (2016) Comparing breast cancer multiparameter tests in the OPTIMA prelim trial: no test is more equal than the others. JNCI 2016; 108:djw050

adiuvante) o terapia adiuvante in accordo al risultato dell'Oncotype DX®. La concordanza tra tutti i test è stata bassa sia nel gruppo a rischio basso/intermedio che nel gruppo ad alto rischio.

Il PROSIGNA® (PAM50) ha il vantaggio di integrare in un unico score le caratteristiche molecolari e clinico-patologiche per definire il rischio di recidiva a distanza, ma la sua utilità clinica è limitata dall'assenza di validazione con studi prospettici volti a stabilire il vantaggio aggiuntivo della chemioterapia adiuvante<sup>42</sup> nelle tre categorie di rischio. Nello studio di Ohnstad et al. sono stati valutati retrospettivamente i pazienti con carcinoma mammario in fase iniziale ad un follow-up di 17 anni: i sottotipi PAM50 e gli score ROR hanno migliorato la classificazione prognostica oltre gli attuali parametri clinico-patologici<sup>43</sup>. Al test PAM50 è riconosciuto quindi un valore prognostico, ma non predittivo del beneficio clinico del trattamento chemioterapico adiuvante in pazienti con carcinoma mammario ormonosensibile<sup>44</sup>.

Test	Definizione	Indicazioni attuali	Stato menopausale	Tipo di Evidenza
Prosigna®	Test prognostico per la valutazione del rischio di ripresa a distanza a 10 anni in donne sottoposte a chirurgia in combinazione con un trattamento loco-regionale standard.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Early BC (Stadio I o II)</li> <li>- Linfonodi Negativi o Positivi (1-3)</li> <li>- Recettori Ormonali Positivi</li> <li>- HER2-negativo</li> </ul> <p>in pazienti considerate eleggibili alla sola terapia ormonale adiuvante da sola, quando usato in combinazione con altri fattori clinico-patologici</p>	Post-menopausa	Retrospectiva. Non disponibili studi prospettici

<sup>42</sup> M.C. Chang, L.H. Souter, S. Kamel-Reid et al. (2017), and the Molecular Oncology Advisory Committee. Clinical utility of multigene profiling assays in early-stage breast cancer. *Curr Oncol.* 2017 Oct;24(5):e403-e422

<sup>43</sup> Ohnstad, HO, Borgen E, Falk RS, et al (2017). Prognostic value of PAM50 and risk of recurrence score in patients with early stage breast cancer with long-term follow-up. *Breast Cancer Research* (2017) 19:120

<sup>44</sup> Liu M, Pitcher BN, Mardis ER, et al. (2016) PAM50 gene signatures and breast cancer prognosis with adjuvant anthracycline- and taxane-based chemotherapy: correlative analysis of C9741 (Alliance). *NPJ Breast Cancer* 2016;2:15023

## 2.2 Indicazioni di linee guida all'utilizzo

Le linee guida elaborate in seguito alla **Consensus Conference di St Gallen 2019** raccomandano l'utilizzo dei test genomici prognostici per decidere in merito alla somministrazione della chemioterapia adiuvante nei tumori ER+/HER2- in stadio I-II (T1/T2 con linfonodi negativi, T3 con linfonodi negativi, e Tx N1)<sup>45</sup>.

Secondo le **linee guida ESMO** relative al tumore mammario in stadio precoce, i test di espressione genica validati possono essere impiegati al fine di aggiungere informazioni prognostiche e/o predittive complementari ai dati clinico-patologici ed utili nel processo decisionale relativo alla somministrazione della chemioterapia adiuvante (livello di evidenza IA)<sup>46</sup>.

Le **linee guida NCCN**<sup>47</sup> raccomandano di prendere in considerazione l'utilizzo dei TMP come test prognostici utili nel processo decisionale relativo alle pazienti ER+/HER2- candidate a ricevere una terapia sistemica adiuvante sulla base delle caratteristiche clinico-patologiche.

- Tumore  $\leq 0.5$ cm, linfonodi negativi (T1aNO): non indicazione a chemioterapia adiuvante, indicazione a trattamento adiuvante endocrino per ridurre il rischio di seconda neoplasia controlaterale e di recidiva locale/regionale e a distanza (categoria 2B).
- Tumore  $>0.5$  cm; linfonodi negativi: è raccomandato eseguire il test Oncotype Dx<sup>®</sup> per valutare il rischio di recidiva e il beneficio dalla chemioterapia (categoria 1). Sulla base dei dati di un'analisi esplorativa del TAILORx, la chemioterapia adiuvante potrebbe essere considerata nelle pazienti con età inferiore ai 50 anni con un RS di 16-25. Viceversa, i tumori T1b di basso grado andrebbero candidati a endocrinoterapia esclusiva, poiché non inclusi nello studio TAILORx.
- Linfonodi positivi in numero uguale o superiore a 4: indicazione a chemioterapia adiuvante seguita da terapia endocrina (categoria 1).
- Linfonodi positivi in numero inferiore a 4: l'indicazione relativa alla somministrazione di chemioterapia adiuvante deve essere individualizzata sulla base delle caratteristiche clinico-patologiche. Qualora le caratteristiche clinico-patologiche candidino la paziente alla somministrazione di chemioterapia, l'uso di TMP è raccomandato per identificare il sottogruppo di pazienti a basso rischio genomico in cui è possibile omettere la chemioterapia adiuvante sulla base

---

<sup>45</sup> Burstein HJ, Curigliano G, Loibl S, et al (2019) Estimating the benefits of therapy for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Consensus Guidelines for the primary therapy of early breast cancer 2019. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz235>

<sup>46</sup> Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rubio IT, Zackrisson S (2019) Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up †. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz173>

<sup>47</sup> Lurie RH, Anderson BO, Abraham J, et al NCCN Guidelines Version 4.2020 Breast Cancer NCCN Evidence Blocks TM

dei dati dello studio MINDACT. Se la paziente non è candidabile a chemioterapia per comorbidità o età, si raccomanda la somministrazione di terapia ormonale (categoria 2A).

Il test Oncotype Dx® è l'unico riconosciuto dalle linee guida NCCN come test validato per predire il beneficio derivante dall'aggiunta della chemioterapia. MammaPrint® è invece consigliato come opzione di categoria 1 nelle pazienti con alto rischio clinico, nelle quali il riscontro di un basso rischio genomico permette l'omissione della chemioterapia sulla base dei dati dello studio MINDACT.

Poiché tali test possono non essere concordi tra loro e non sono stati soggetti a una valutazione prospettica comparativa, si suggerisce l'impiego di un solo test per ogni specifico paziente e neoplasia.

Qualora i TMP non fossero disponibili, i *panelist* delle linee guida NCCN suggeriscono di somministrare il trattamento chemioterapico seguito da terapia endocrina nelle pazienti in cui i dati clinico-patologici ne pongono l'indicazione (categoria 1).

Le **linee guida ASCO 2019**<sup>48</sup> raccomandano l'utilizzo dei TMP nelle pazienti con neoplasia mammaria ER+/HER2- in stadio I-IIA (T1N0-1, T2N0, T2N1).

Nello specifico Oncotype Dx® è consigliato per le pazienti con linfonodi negativi, allo scopo di identificare le seguenti categorie di pazienti con le rispettive indicazioni:

- Pazienti con età > 50 anni e  $RS \leq 26$  e pazienti con età  $\leq 50$  anni e  $RS < 16$ : il beneficio derivante dalla somministrazione della chemioterapia è minimo o assente, per cui si suggerisce la somministrazione della sola terapia endocrina (raccomandazione forte).
- Pazienti con età  $\leq 50$  anni e  $RS 16-25$ : si suggerisce la somministrazione di chemioterapia adiuvante seguita da terapia endocrina (raccomandazione moderata).
- $RS \geq 30$ : indicazione a chemioterapia adiuvante, indipendentemente dall'età (raccomandazione forte)
- $RS 26-30$ : non vi sono evidenze sufficienti in questo specifico sottogruppo di pazienti, tuttavia il panel di esperti ASCO suggerisce la somministrazione di chemioterapia adiuvante in aggiunta alla terapia ormonale (raccomandazione moderata).

MammaPrint® può invece essere impiegato nelle pazienti con neoplasia mammaria ER+/HER2-, linfonodi negativi ed elevato rischio clinico, al fine di individuare la sottocategoria di pazienti a basso rischio

---

<sup>48</sup> Henry NL, Somerfield MR, Abramson VG, et al (2019) Role of patient and disease factors in adjuvant systemic therapy decision making for early-stage, operable breast cancer: Update of the ASCO endorsement of the cancer care Ontario guideline. J Clin Oncol 37:1965–1977

genomico a cui è possibile evitare la somministrazione di chemioterapia senza inficiare sull'outcome (raccomandazione forte). Non vi è invece indicazione all'esecuzione di MammaPrint® nelle pazienti a basso rischio clinico, le quali non sembrano beneficiare della chemioterapia nemmeno in caso di alto rischio genomico sull'outcome (raccomandazione forte).

Nella popolazione con neoplasia mammaria ER+/HER2- e 1-3 linfonodi positivi, MammaPrint® può essere analogamente utilizzato al fine di individuare il sottogruppo a basso rischio clinico a cui non somministrare la chemioterapia. In caso di linfonodi positivi però è opportuno informare le pazienti come non sia possibile escludere un beneficio dal trattamento chemioterapico anche in caso di basso rischio clinico, in particolare in caso di coinvolgimento di 2-3 linfonodi (raccomandazione moderata). Anche nella popolazione con linfonodi positivi non vi è indicazione all'impegno di MammaPrint® in caso di basso rischio clinico, in assenza di dati circa l'utilità clinica in questa specifica categoria di pazienti (raccomandazione moderata).

MammaPrint® infine non è indicato né nelle pazienti con neoplasia HER2-positiva (raccomandazione moderata), né in quelle con malattia triplo-negativa (raccomandazione forte).

### 2.3 Appropriately prescrittiva - popolazione target

In accordo alla classificazione di St Gallen 2019 i tumori luminali si definiscono a rischio basso, intermedio ed alto<sup>49</sup>.

Tumori luminali	Note
<i>Basso Rischio: Alta espressione di recettori per estrogeni, bassa proliferazione, basso grado ("luminal A-like")</i>	Multigene testing non necessario
<i>Rischio Intermedio</i>	Multigene testing raccomandato, se disponibile. Persiste incertezza circa il grado di rischio e la risposta alla terapia endocrine e alla chemioterapia.
<i>Alto Rischio: Bassa espressione di recettori per estrogeni, alto indice proliferativo, alto grado ("luminal B-like")</i>	Multigene testing non necessario

<sup>49</sup> Curigliano G, Burstein HJ, P Winer E, Gnant M, Dubsy P, Loibl S, Colleoni M, Regan MM, Piccart-Gebhart M, Senn HJ, Thürlimann B; Panel Members of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017. De-escalating and Escalating Treatments for Early-Stage Breast Cancer: The St. Gallen International Expert Consensus Conference on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017. Ann Oncol. 2019 Jul 1;30(7):1181.

Le variabili cliniche ed anatomo-patologiche che portano di frequente ad indicare o meno l'utilizzo della chemioterapia sono riassunte nella seguente tabella.

Indicazione a chemioterapia in aggiunta alla endocrinoterapia	Area di incertezza terapeutica	Indicazione a sola endocrinoterapia
Grado 3 istologico "Rischio genomico" alto, intermedio	Grado 2 istologico "Rischio genomico" intermedio	Grado 1 istologico "Rischio genomico" basso
Alta proliferazione <sup>a</sup>	Intermedia proliferazione <sup>a</sup>	Bassa proliferazione <sup>a</sup>
Espressione di ER and PgR bassa	Espressione di ER and PgR alta/intermedia	Espressione di ER and PgR alta
Linfonodi positivi (4 o più)	Linfonodi positivi (1-3)	Linfonodi negative
Presenza di estesa invasione vascolare peritumorale		Assenza di estesa invasione vascolare peritumorale
pT > 5 cm	pT 2.1 – 5 cm	pT ≤ 2cm

<sup>a</sup> I punteggi Ki-67 dovrebbero essere interpretati alla luce dei valori di laboratorio locali: ad esempio, se un laboratorio ha un punteggio Ki-67 mediano nella malattia recettoriale positiva del 20%, i valori del 30% o superiori potrebbero essere considerati chiaramente alti; quelli del 10% o meno chiaramente bassi.

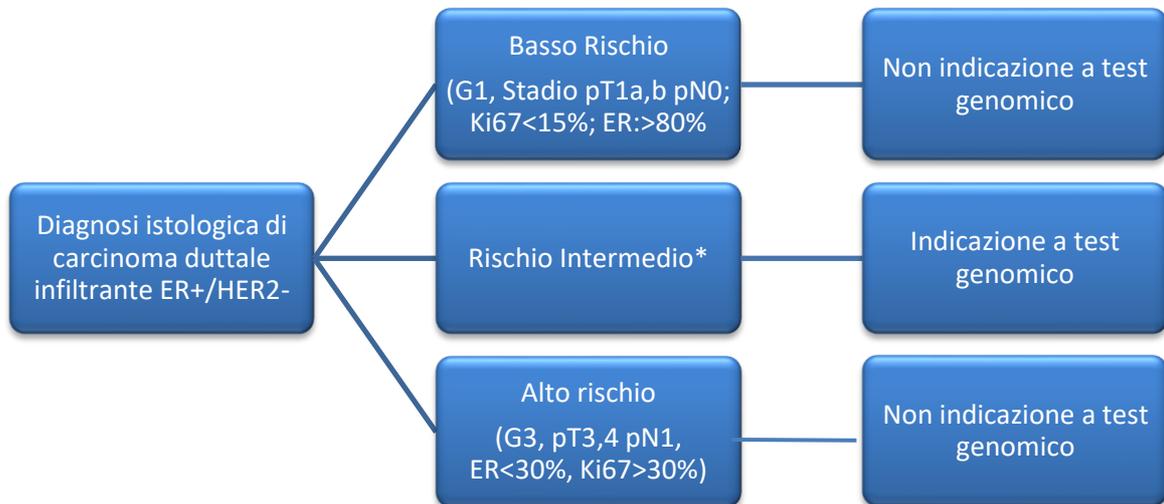
I **criteri di accesso al TEST** sono: pazienti con carcinoma della mammella endocrino responsivo in stadio precoce considerate a rischio intermedio per le quali il clinico potrebbe porre una indicazione a chemioterapia adiuvante. Vengono, **pertanto escluse dalla possibilità di effettuare il test gratuitamente tutte le pazienti a basso rischio, per le quali è indicata la sola ormonoterapia, e ad alto rischio per le quali è indicata l'associazione ormono-terapia-chemioterapia.** Le pazienti a basso rischio sono definite in base alle caratteristiche descritte nella tabella seguente:

Basso Rischio	Alto Rischio
Almeno 4 delle seguenti caratteristiche	Almeno 4 delle seguenti caratteristiche
G1	G3
T1 (a-b)	T3-T4
Ki67<15%	Ki67>30%
ER>80%	ER<30%
N negativo	N positivo

Sono escluse le pazienti:

- con tumore triplo negativo ed HER2-positivo;
- non candidabili a chemioterapia per altri fattori (età, comorbidità);

- con tumore ormono-positivo/HER2-negativo la cui scelta terapeutica (terapia ormonale +CT o solo terapia ormonale) è chiara sulla base dei fattori clinico-patologici standard.



- che hanno già svolto un test in regime di assistenza del SSN

\*Rientrano nel rischio intermedio tutte le pazienti che non rientrano in base alle caratteristiche indicate nei gruppi a basso ed alto rischio.

## CAPITOLO 3 - CARCINOMA PROSTATICO

### 3.1 TMP nel carcinoma prostatico

Il carcinoma della prostata è la seconda diagnosi di cancro più frequente nel sesso maschile e la quinta causa di morte in tutto il mondo. Il carcinoma della prostata può essere asintomatico nella fase iniziale e spesso ha un decorso indolente e pertanto richiedere la sola sorveglianza attiva. Sulla base delle stime GLOBOCAN 2018, nel 2018 sono stati segnalati 1.276.106 nuovi casi di cancro alla prostata in tutto il mondo, con una maggiore prevalenza nei paesi sviluppati. Le differenze nei tassi di incidenza nel mondo riflettono le differenze nell'uso dei test diagnostici. I tassi di incidenza e mortalità per cancro alla prostata sono fortemente correlati all'età, con una maggiore incidenza negli anziani (> 65 anni)<sup>50</sup>. In Italia il tumore alla prostata è la quarta neoplasia più frequente nella popolazione, ma è la prima come frequenza nel sesso maschile, rappresentando il 19% di tutti i tumori diagnosticati<sup>51</sup>.

La maggior parte dei tumori della prostata viene diagnostica a seguito di screening utilizzando la valutazione sierologica dei livelli dell'antigene prostatico specifico (PSA) nel sangue e/o mediante un'esplorazione rettale (Digital Rectal Exploration - DRE). La mancanza di sensibilità e specificità del PSA per carcinoma della prostata porta a biopsie non necessarie in pazienti falsi positivi per PSA o in pazienti indolenti a basso rischio. Questo potrebbe portare ad un trattamento eccessivo con potenziali danni per il paziente e aumento dei costi sanitari. Allo stesso modo, la diagnosi di molti tumori, a causa della mancanza di sensibilità, potrebbe essere ritardata. Dal momento che i livelli di PSA sono insufficienti per diagnosticare il cancro alla prostata sia per un'elevata percentuale di falsi positivi e di falsi negativi, si è cercato di identificare nuovi biomarcatori da usare in combinazione o separatamente.

Oggi sono disponibili numerosi nuovi marcatori diagnostici che possono essere eseguiti pre-biopsia (PHI, 4Kscore®, SelectMDx®, EXO-DX e MiPS PHI) o post-biopsia (PCA3 and ConfirmMDx®) che dovrebbero contribuire a colmare le carenze del PSA. Questi nuovi test possono essere eseguiti su campioni di sangue, urina o tessuto prostatico.

---

<sup>50</sup> Rawla, P. Epidemiology of Prostate Cancer. World J Oncol 2019 Apr;10(2):63-89.

<sup>51</sup> I numeri del cancro in Italia 2019, il rapporto Aiom-Airtum. <http://www.salute.gov.it>

## Test multigenici prognostici nel tumore alla prostata

Recentemente sono stati sviluppati dei test molecolari che predicono il grado di aggressività del tumore e quindi il rischio di recidiva. I test molecolari mediante l'analisi del profilo di espressione genica possono essere utili per stratificare i pazienti con carcinoma prostatico in base al rischio di aggressività del tumore. Questi test possono essere utilizzati sia su campioni di biopsia prostatica indirizzando la decisione clinica verso un programma di sorveglianza attiva o di intervento chirurgico terapeutico, sia dopo prostatectomia per indirizzare il tipo di trattamento.<sup>52 53 54</sup>

### ONCOTYPE DX®

Il test Oncotype DX® viene eseguito su preparati istologici in paraffina di biopsia prostatica. Oncotype DX® analizza l'espressione mediante RT-PCR di 17 geni di cui 12 relativi al carcinoma prostatico (geni descritti nella risposta stromale, organizzazione cellulare, segnalazione da androgeni e proliferazione) e 5 geni di controllo. Il risultato dell'analisi di espressione è strumentale per calcolare un Genomic Prostate Score (GPS) che può variare da 0 a 100, calcolato tramite un algoritmo matematico (Klein) che correla al momento della prostatectomia radicale (RP), con la probabilità di patologia avversa definita malattia ad alto grado (Gleason pattern 4 o qualsiasi pattern 5) e/o malattia non localizzata (pT3 o maggiori). Valori crescenti di GPS sono associati ad un rischio maggiore di sviluppare una patologia avversa.<sup>55</sup>

Il GPS è stato sviluppato in tre studi differenti: uno su campioni di RP, uno su campioni di biopsia prostatica e uno di validazione.<sup>56</sup> Inizialmente sono stati considerati nello studio di RP 727 geni per identificare quelli associati con un periodo libero da malattia. I geni identificati sono stati poi valutati nello studio di biopsie prostatiche per identificare quelli associati con patologia avversa in RP che ha permesso di identificare i 12 geni implicati nel carcinoma prostatico e i 5 di controllo. Questi 17 geni sono stati poi validati in uno studio prospettico di validazione comprendente 395 pazienti affetti da carcinoma alla prostata di grado basso e basso-intermedio, candidati per un programma di sorveglianza attiva. In una analisi multivariata è stato dimostrato che un aumento di GPS di 20 punti era associato ad

---

<sup>52</sup> Rawla, P. Epidemiology of Prostate Cancer. *World J Oncol*. 2019 Apr;10(2):63-89.

<sup>53</sup> I numeri del cancro in Italia 2019, il rapporto Aiom-Airtum. <http://www.salute.gov.it>

<sup>54</sup> Gelfond J, Choate K, Ankerst DP, Hernandez J, Leach RJ, Thompson IM. Intermediate-term risk of prostate cancer is directly related to baseline prostate specific antigen: Implications for reducing the burden of prostate specific antigen screening. *J Urol*. 2015.

<sup>55</sup> Clinton TN, Bagrodia A, Lotan Y, Margulis V, Raj GV, Woldu SL. Tissue-based biomarkers in prostate cancer. *Expert Rev Precis Med Drug Dev*. 2017;2(5):249-260.

<sup>56</sup> Klein EA, Cooperberg MR, Magi-Galluzzi C, et al. A 17-gene assay to predict prostate cancer aggressiveness in the context of Gleason grade heterogeneity, tumor multifocality, and biopsy undersampling. *Eur Urol*. 2014;66(3):550-560.

un aumento di odds ratio (OR) di 1.9 (95% CI 1.2-2.8,  $p < 0.005$ ) quando aggiustato per variabili cliniche quali età, PSA, stadio clinico e Gleason score della biopsia, di 1.9 (95% CI 1.3-2.8,  $p < 0.005$ ) quando aggiustato per i criteri di rischio NCCN e di 2.1 (95% CI 1.4-3.2,  $p < 0.005$ ) quando aggiustato per lo score CAPRA.<sup>56 57</sup>

Un secondo studio di validazione ha confermato la capacità di GPS di predire patologia avversa al momento di RP e ha inoltre dimostrato la capacità di GPS di predire recidive biochimiche con un aumento di 20 unità di GPS corrispondente ad un hazard ratio (HR) di 2.73 (95%CI 1.84-3.96;  $P < 0.001$ ).<sup>58</sup>

Uno studio recente ha valutato retrospettivamente 259 pazienti in una coorte che includeva pazienti a rischio basso, intermedio e alto e con prostatectomia radicale entro 12 mesi dalla diagnosi e follow-up di 9.8 anni. Nella coorte erano inclusi 64 pazienti deceduti per cancro alla prostata e 79 eventi metastatici. In questo studio è stato osservato che GPS è un fattore predittivo indipendente di esito avverso, con un aumento di 20 unità di GPS corrispondente ad un HR di 2.0 ( $P = 0.007$ ) per il rischio di metastasi e un HR di 2.75 ( $P < 0.001$ ) per il rischio di mortalità.<sup>59</sup>

L'utilità clinica di GPS per il cancro alla prostata è stata valutata in uno studio prospettico di 80 pazienti con rischio basso e basso-intermedio di cancro alla prostata secondo i criteri NCCN sottoposti al test OncotypeDX® rispetto ad un gruppo di controllo. Rispetto al gruppo di controllo, la coorte in cui è stata fatta l'analisi di GPS score mostrava un aumento del 21% di pazienti in sorveglianza attiva, una diminuzione del 10% di RP e una diminuzione del 14% di trattamento con radioterapia. Questi risultati sono stati estrapolati in un'analisi di costo il cui risultato suggerisce che l'uso di GPS determinava una diminuzione dei costi per il sistema sanitario.<sup>60</sup>

Recentemente è stato riportato che GPS è un fattore prognostico indipendente di patologia avversa in pazienti che sono stati diagnosticati mediante immagini di risonanza magnetica come a rischio molto basso, basso o intermedio. Questi risultati suggeriscono che Oncotype DX® potrebbe essere utile come

---

<sup>57</sup> Cooperberg MR, Hilton JF, Carroll PR. The CAPRA-S score: A straightforward tool for improved prediction of outcomes after radical prostatectomy. *Cancer*. 2011;117(22):5039-5046.

<sup>58</sup> Cullen J, Rosner IL, Brand TC, et al. A Biopsy-based 17-gene Genomic Prostate Score Predicts Recurrence After Radical Prostatectomy and Adverse Surgical Pathology in a Racially Diverse Population of Men with Clinically Low- and Intermediate-risk Prostate Cancer. *Eur Urol*. 2015;68(1):123-131.

<sup>59</sup> Van Den Eeden SK, Lu R, Zhang N, et al. A Biopsy-based 17-gene Genomic Prostate Score as a Predictor of Metastases and Prostate Cancer Death in Surgically Treated Men with Clinically Localized Disease. *Eur Urol*. 2018;73(1):129-138.

<sup>60</sup> Albala D, Kemeter MJ, Febbo PG, et al. Health Economic Impact and Prospective Clinical Utility of Oncotype DX® Genomic Prostate Score. *Rev Urol*. 2016;18(3):123-132.

tecnologia da utilizzare in modo indipendente o in associazione con l'imaging parametrico di risonanza magnetica per stratificare il rischio tra basso e intermedio di patologia avversa del tumore alla prostata.<sup>61</sup>

### **Prolaris®**

Prolaris® (Myriad Genetics, Salt Lake City, UT, USA) è un test che viene eseguito su RNA totale estratto da preparati istologici in paraffina per generare uno score di progressione del ciclo cellulare (CCP) che è calcolato mediante un algoritmo in base all'analisi di un pannello di espressione di 46 geni di cui 31 implicati nella progressione del ciclo cellulare e 15 costitutivi<sup>62</sup>.

Il CCP score è stato inizialmente riportato nel 2011 e successivamente validato per il suo valore prognostico sia nei pazienti appena diagnosticati con carcinoma della prostata sia in quelli che sono stati trattati con RP e sono a rischio di recidiva. Lo score è riportato come un valore compreso tra -3 e +3, la variazione dello score di una unità corrisponde al raddoppio del livello di espressione genica ed è indicativo di un profilo tumorale più aggressivo<sup>63</sup>. Questo sistema di punteggio è stato recentemente aggiornato con un range definito da 0 a 6 ma il concetto e la variazione di unità rimangono invariati. È disponibile in commercio sia come test per campioni di biopsia che per i campioni di RP.

Il valore prognostico di Prolaris® è stato inizialmente esaminato su preparati istologici di biopsie eseguite in 349 maschi diagnosticati con tumore alla prostata. In questo studio iniziale, è stato osservato che in un'analisi multivariata includendo Gleason score e PSA, l'aumento di 1 unità di CCP era un fattore predittivo significativo di morte per cancro alla prostata<sup>64</sup>.

Successivamente, CCP è stato utilizzato per predire la mortalità per cancro alla prostata su biopsie di 761 pazienti identificati in 3 diversi dataset di cancro in UK. In questo studio è stato osservato che valori più alti di CCP erano associati con un rischio aumentato di mortalità a 10 anni per tumore alla prostata:

---

<sup>61</sup> Salmasi A, Said J, Shindel AW, et al. A 17-Gene Genomic Prostate Score Assay Provides Independent Information on Adverse Pathology in the Setting of Combined Multiparametric Magnetic Resonance Imaging Fusion Targeted and Systematic Prostate Biopsy. *J Urol.* 2018;200(3):564-572.

<sup>62</sup> Sommariva S, Tarricone R, Lazzeri M, Ricciardi W, Montorsi F. Prognostic Value of the Cell Cycle Progression Score in Patients with Prostate Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Eur Urol.* 2016;69(1):107-115

<sup>63</sup> Cuzick J, Swanson GP, Fisher G, et al. Prognostic value of an RNA expression signature derived from cell cycle proliferation genes in patients with prostate cancer: a retrospective study. *Lancet Oncol.* 2011;12(3):245-255.

<sup>64</sup> Cuzick J, Berney DM, Fisher G, et al. Prognostic value of a cell cycle progression signature for prostate cancer death in a conservatively managed needle biopsy cohort. *Br J Cancer.* 2012;106(6):1095-1099.

7% (CCP score <0), 15% (CCP score 0-1), 36% (CCP score 1-2), 59% (CCP score >2) e che nell'analisi eseguita con la combinazione di CCP e CAPRA score, l'HR di mortalità a 10 anni aumentava di 2.17<sup>65</sup>.

Bishoff et al., hanno osservato che CCP eseguiti su campioni di biopsia di pazienti appartenenti a 3 coorti diverse per un totale di 582 pazienti, erano significativamente associati con recidive biochimiche e con malattia metastatica sia in un'analisi univariata che multivariata. In particolare il CCP score è risultato essere il fattore predittivo più forte di malattia metastatica sia nell'analisi univariata sia dopo l'aggiustamento per variabili cliniche<sup>65</sup>. In un altro studio è stato valutato il CCP su biopsie di 52 uomini italiani trattati con prostatectomia radicale. La media dello CCP variava tra -1.2, -0.444 e 0.2 rispettivamente in pazienti a rischio basso, intermedio e ad alto rischio. Questo studio indica che CCP è un fattore predittivo significativo di carcinoma prostatico ad alto rischio sia in un'analisi univariata che multivariata considerando le variabili cliniche. La combinazione di CCP e CAPRA migliorava l'assegnazione del rischio dal 10% fino al 87.8%. Inoltre CCP è un fattore predittivo di recidiva biochimica ma solo in un'analisi univariata.<sup>66</sup>

Il valore prognostico di Prolaris® è stato anche studiato in 413 pazienti che erano già stati trattati chirurgicamente effettuando l'analisi sul campione di prostatectomia radicale. È stata osservata una correlazione significativa tra aumento di una unità di CCP e il rischio di recidiva biochimica considerando anche la classificazione di CAPRA dopo chirurgia. Prolaris® quindi in pazienti su cui è stata già eseguita la prostatectomia radicale indica il rischio a 10 anni di sviluppare una recidiva biochimica.<sup>67</sup>

Recentemente, Canter et al., hanno valutato CCP da solo e in combinazione con CAPRA score per l'identificazione del rischio di sviluppare metastasi a 10 anni su campioni di biopsia di 1.062 pazienti con cancro alla prostata localizzato e trattato con prostatectomia radicale o radioterapia.

I risultati di questo studio indicano che sia CCP da solo che in combinazione con CAPRA correlano fortemente con il rischio a 10 anni di malattia metastatica in un'analisi multivariata, fornendo

---

<sup>65</sup> Cuzick J, Stone S, Fisher G, et al. Validation of an RNA cell cycle progression score for predicting death from prostate cancer in a conservatively managed needle biopsy cohort. *Br J Cancer*. 2015;113(3):382-389.

<sup>66</sup> Bishoff JT, Freedland SJ, Gerber L, et al. Prognostic utility of the cell cycle progression score generated from biopsy in men treated with prostatectomy. *J Urol*. 2014;192(2):409-414

Oderda M, Cozzi G, Daniele L, et al. Cell-cycle Progression-score Might Improve the Current Risk Assessment in Newly Diagnosed Prostate Cancer Patients. *Urology*. 2017;102:73-78

<sup>67</sup> Cooperberg MR, Simko JP, Cowan JE, et al. Validation of a cell-cycle progression gene panel to improve risk stratification in a contemporary prostatectomy cohort. *J Clin Oncol*. 2013;31(11):1428-1434.

informazioni prognostiche indipendenti per predire la progressione in malattia metastatica sia dopo chirurgia che radioterapia<sup>68</sup>.

### Decipher®

Il Decipher® test analizza il pattern di espressione di mRNA di 22 geni implicati nella proliferazione cellulare, nella modulazione del sistema immunitario, nella progressione del ciclo cellulare e nella segnalazione di androgeni, presenti nel tessuto tumorale, permette la stratificazione del rischio dei pazienti affetti da carcinoma prostatico di sviluppare metastasi e il rischio di mortalità. In base all'espressione differenziale dei 22 geni viene calcolato, mediante un algoritmo, uno score genomico che varia da 0 a 1. Ogni aumento dello score di 0.1 rappresenta un aumento del 10% del rischio di malattia metastatica. In base allo score i pazienti sono suddivisi in tre diverse categorie: basso rischio (0–0.44), rischio intermedio (0.45–0.59), e alto rischio (0.6–1). La signature di 22 geni è anche nota come Genomic Classifier (GC).

Il test è stato inizialmente sviluppato e validato su campioni di tessuto derivati da prostatectomia radicale ma recentemente è stato anche validato in campioni di biopsia di prostata.

GC score è stato sviluppato utilizzando 545 campioni di RP comparando retrospettivamente i campioni di una coorte di pazienti che aveva sviluppato metastasi (n=192) e una coorte di controllo (n=353). Una coorte di 359 campioni di entrambi i gruppi è stata analizzata per l'espressione di oltre 1.4 milioni di RNA da cui è stata identificata la signature GC a 22 geni. Nell'analisi tra i casi metastatici e i casi di controllo, è stato osservato che GC score era un forte fattore predittivo indipendente per lo sviluppo di metastasi<sup>69</sup>.

La validazione iniziale di Decipher® GC è stata fatta su 219 pazienti ad alto rischio di metastasi definito come PSA  $\geq$  20 ng/mL, Gleason score  $\geq$  8, pT3b stage, sottoposti a RP. In un'analisi multivariata, lo score GC è risultato come il fattore predittivo più forte di metastasi. In base al valore di GC si possono identificare tre gruppi di rischio di metastasi: basso rischio (<0.4), intermedio (0.4-0.6) e alto rischio

---

<sup>68</sup> Canter DJ, Freedland S, Rajamani S, et al. Analysis of the prognostic utility of the cell cycle progression (CCP) score generated from needle biopsy in men treated with definitive therapy. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2020;23(1):102-107.

<sup>69</sup> Erho N, Crisan A, Vergara IA, et al. Discovery and validation of a prostate cancer genomic classifier that predicts early metastasis following radical prostatectomy. *PLoS One.* 2013;8(6):e66855. Published 2013 Jun 24.

(>0.6).[17]. Questi cut-off sono stati poi ulteriormente calibrati per creare le attuali categorie di rischio: basso rischio (<0.45), intermedio (0.45- 0.60) e alto rischio (>0.60)<sup>70</sup>.

La validità di GC score come fattore prognostico per la progressione metastatica è stata ulteriormente validata e confermata in una coorte di 260 pazienti post-prostatectomia classificati a rischio intermedio o alto secondo le indicazioni NCCN e in una coorte aggiuntiva di 169 pazienti post-prostatectomia.<sup>71 72</sup> Recentemente, sono stati riportati i risultati di una meta-analisi retrospettiva eseguita su 855 pazienti post-prostatectomia, con esito clinico noto su cui è stato eseguito il test Decipher® GC. I risultati di questo ampio studio supportano ulteriormente GC score come un fattore prognostico indipendente di metastasi nei vari sottogruppi di pazienti (per esempio, Gleason score alto verso basso, livelli di PSA e vari stadi clinici)<sup>73</sup>.

Data la capacità di GC score di stratificare retrospettivamente il rischio post operativo in campioni di RP, è stato fatto uno studio per valutare la capacità di GC di predire le metastasi in pazienti che avevano sviluppato una recidiva biochimica dopo RP. È stato osservato in un'analisi multivariata eseguita su 85 pazienti che avevano sviluppato una recidiva biochimica dopo RP che lo score GC era un fattore predittivo indipendente di progressione metastatica ed era superiore nella capacità predittiva rispetto ad altri modelli clinici di stratificazione del rischio<sup>74</sup>.

Decipher® GC è stato anche valutato per la capacità di orientare le decisioni relative al trattamento con radioterapia adiuvante o radioterapia di “salvataggio”. Per esempio, Den et al., hanno confrontato l'esito della radioterapia adiuvante in pazienti con alto rischio genomico (Decipher >0.6) e con basso rischio e hanno osservato che i pazienti ad alto rischio genomico avevano una riduzione della progressione metastatica di circa 80% mentre nei pazienti a basso rischio non si osservava nessuna riduzione della progressione metastatica<sup>75</sup>. In un altro lavoro più recente, è stato sviluppato un

---

<sup>70</sup> Davicioni E, C V, Luo B, et al. Recalibration of genomic risk prediction models in prostate cancer to improve individual-level predictions. American Society of Clinical Oncology. 2015 J Clin Oncol.

<sup>71</sup> Ross AE, et al. Tissue-based Genomics Augments Post-prostatectomy Risk Stratification in a Natural History Cohort of Intermediate- and High-Risk Men. Eur Urol. 2016; 69(1):157–65.

<sup>72</sup> Klein EA, et al. A genomic classifier improves prediction of metastatic disease within 5 years after surgery in node-negative high-risk prostate cancer patients managed by radical prostatectomy without adjuvant therapy. Eur Urol. 2015; 67(4):778–86.

<sup>73</sup> Spratt DE, Yousefi K, Deheshi S, et al. Individual Patient-Level Meta-Analysis of the Performance of the Decipher Genomic Classifier in High-Risk Men After Prostatectomy to Predict Development of Metastatic Disease. J Clin Oncol. 2017 Jun 20; 35(18):1991–1998.

<sup>74</sup> Ross AE, Feng FY, Ghadessi M, et al. A genomic classifier predicting metastatic disease progression in men with biochemical recurrence after prostatectomy. Prostate Cancer Prostatic Dis. 2014;17(1):64-69.

<sup>75</sup> Den RB, Yousefi K, Trabulsi EJ, et al. Genomic classifier identifies men with adverse pathology after radical prostatectomy who benefit from adjuvant radiation therapy [published correction appears in J Clin Oncol. 2015 Apr 20;33(12):1416]. J Clin Oncol. 2015;33(8):944-951.

nomogramma clinico-genomico per informare i pazienti riguardo la radioterapia adiuvante. È stato osservato che i pazienti con due o più dei fattori di patologia ad alto rischio (pT3b-T4, carcinoma prostatico con Gleason Score 8-10, invasione linfonodale), e con Decipher® score >0.6, avevano a 10 anni una riduzione di metastasi di 4 volte se trattati con radioterapia adiuvante<sup>76</sup>. Questi studi dimostrano che le informazioni addizionali fornite da Decipher® permettono stime del rischio più puntuali e precise che tengono conto di caratteristiche cliniche, patologiche e genomiche, che possono orientare in modo ottimale le decisioni terapeutiche<sup>77</sup>. L'utilità clinica di Decipher® nel setting post-chirurgico è stata determinata nello studio prospettico multi-istituzionale PRO\_IMPACT (NCT02080689). L'utilizzo di Decipher® riduceva in modo significativo la difficoltà decisionale e l'ansia del paziente facilitando la decisione clinica riguardante il trattamento con radioterapia<sup>78</sup>.

Decipher® GC score è stato anche valutato su campioni di biopsia come fattore prognostico indipendente di metastasi. In questo studio è stata fatta un'analisi su 57 campioni di biopsia di pazienti che sono stati poi trattati con prostatectomia radicale. I risultati ottenuti con Decipher® sono stati confrontati con quelli ottenuti utilizzando il modello di stratificazione del rischio di NCCN. Decipher® da solo aveva un C-index superiore di predizione di rischio di metastasi a 10 anni post-prostatectomia radicale a quello di NCCN (0.80 vs 0.75); questo indice aumenta (0.88) se i due score sono combinati. In un'analisi multivariata, Decipher® era l'unico fattore di predizione significativo di metastasi considerando età, PSA, Gleason score.<sup>79 80</sup>

Una validazione ulteriore del valore predittivo di progressione metastatica di Decipher® su biopsie è stata eseguita su 100 campioni di biopsie di pazienti di carcinoma prostatico sottoposti a radioterapia. È stato dimostrato in un'analisi multivariata comprendente numerose caratteristiche clinico-patologiche che Decipher era l'unico fattore predittivo indipendente per la progressione metastatica<sup>81</sup>.

---

<sup>76</sup> Dalela D, Santiago-Jiménez M, Yousefi K, et al. Genomic Classifier Augments the Role of Pathological Features in Identifying Optimal Candidates for Adjuvant Radiation Therapy in Patients With Prostate Cancer: Development and Internal Validation of a Multivariable Prognostic Model. *J Clin Oncol*. 2017;35(18):1982-1990.

<sup>77</sup> Ross AE, Den RB, Yousefi K, et al. Efficacy of post-operative radiation in a prostatectomy cohort adjusted for clinical and genomic risk. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2016;19(3):277-282.

<sup>78</sup> Gore JL, du Plessis M, Santiago-Jiménez M, et al. Decipher test impacts decision making among patients considering adjuvant and salvage treatment after radical prostatectomy: Interim results from the Multicenter Prospective PRO-IMPACT study. *Cancer*. 2017;123(15):2850-2859.

<sup>79</sup> Klein EA, Haddad Z, Yousefi K, et al. Decipher Genomic Classifier Measured on Prostate Biopsy Predicts Metastasis Risk. *Urology*. 2016;90:148-152.

<sup>80</sup> Van den Broeck T, Moris L, Gevaert T, et al. Validation of the Decipher Test for Predicting Distant Metastatic Recurrence in Men with High-risk Nonmetastatic Prostate Cancer 10 Years After Surgery. *Eur Urol Oncol*. 2019;2(5):589-596.

<sup>81</sup> Nguyen PL, Martin NE, Choerung V, et al. Utilization of biopsy-based genomic classifier to predict distant metastasis after definitive radiation and short-course ADT for intermediate and high-risk prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2017;20(2):186-192.

Recentemente è stato sviluppato e validato il Decipher Post-Operative Radiation Therapy Outcomes Score (PORTOS). PORTOS è un test a 24 geni che predice la risposta alla radioterapia post-operatoria. PORTOS non è un indicatore prognostico di metastasi in assenza di radioterapia ma è altamente predittivo di progressione metastatica in caso di radioterapia adiuvante o di "salvataggio", con valori alti di PORTOS associati con una riduzione di 7 volte della progressione metastatica nei pazienti trattati con radioterapia post-operatoria<sup>82</sup>.

### **Nuovi potenziali test prognostici in corso di validazione**

#### **miR Scientific Sentinel™ test**

Studio presentato all' ASCO-GU 2020 meeting che descrive l'analisi di small non-coding RNA (sncRNA) estratti da esosomi urinari di 1,436 pazienti (836 nel Gruppo training e 600 nel Gruppo di Test) che permette di classificare il cancro alla prostata in basso grado e alto grado.

Il miR Scientific Sentinel test per PCa consiste di tre test: il Sentinel PCa Test™, che determina la presenza o assenza di PCa, il Sentinel CS Test™ che stratifica i pazienti a rischio di PCa basso, intermedio ed alto e il Sentinel HG Test™ che identifica i pazienti ad alto grado e ad alto rischio. Ognuno di questi test valuta il livello di espressione tramite una mediante qRT-PCR e tramite un algoritmo ad-hoc diagnostica, stratifica e monitora il PCa. I risultati sono molto promettenti: miR Sentinel PCa ha una sensibilità del 94%, una specificità del 92%, PPV del 92% and NPV del 94%. I dati per miR Sentinel CS e HG sono simili.

83 84 85

### **Linee guida ASCO 2019**

Le linee guida Asco del 2019 riportano come numerose analisi retrospettive abbiano supportato il potenziale dei test multigenici nell'identificare i pazienti che potrebbero beneficiare di sorveglianza attiva, nel prevedere una patologia avversa, recidive biochimiche, metastasi e mortalità. Questi risultati potrebbero potenzialmente essere utili per orientare la decisione clinica, specialmente nei pazienti che

---

<sup>82</sup> Zhao SG, Chang SL, Spratt DE, et al. Development and validation of a 24-gene predictor of response to postoperative radiotherapy in prostate cancer: a matched, retrospective analysis. *Lancet Oncol.* 2016;17(11):1612-1620.

<sup>83</sup> Blume-Jensen P, Berman DM, Rimm DL, et al. Development and clinical validation of an in situ biopsy-based multimarker assay for risk stratification in prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2015;21(11):2591-2600.

<sup>84</sup> D'Amico AV, Whittington R, Malkowicz SB, et al. Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. *JAMA.* 1998;280(11):969-974.

<sup>85</sup> Wang WW, Sorokin I, Aleksic I, et al. Expression of Small Noncoding RNAs in Urinary Exosomes Classifies Prostate Cancer into Indolent and Aggressive Disease [published online ahead of print, 2020 Mar 19]. *J Urol.* 2020.

si trovano nella cosiddetta zona grigia in cui le variabili cliniche non sono del tutto chiare, tuttavia evidenze prospettiche significative in un contesto randomizzato non sono attualmente disponibili. The Decipher® score può essere utile per selezionare particolari pazienti per radioterapia adiuvante vs radioterapia di “salvataggio”

Nonostante questi risultati, attualmente **non ci sono evidenze sufficienti per raccomandare l’uso di routine di questi test** a seguito dei costi elevati e delle implicazioni terapeutiche derivanti. Per superare queste limitazioni dovrebbero essere istituiti studi clinici prospettici e rigorosi. Nonostante l’uso di routine di questi test non sia raccomandato, in determinate situazioni in cui questi test potrebbero essere utili per scopi prognostici o per orientare le decisioni terapeutiche. Non è possibile definire qual è il test migliore (se esiste) tra quelli disponibili perché i saggi non sono stati oggetto di una comparazione in studi di confronto adeguati, tuttavia ci sono differenze tra i diversi test a livello della quantità di dati e studi di supporto pubblicati. Inoltre le linee guida ASCO sottolineano l’importanza dell’uso di questi test nel contesto dell’imaging di risonanza magnetica. Ad oggi non ci sono dati sufficienti per sostenere un uso in combinazione o stabilire un eventuale valore prognostico superiore se in combinazione con MRI.

Infine è fondamentale effettuare un’analisi di costo-efficacia che tenga conto sia del costo del test ma anche del risparmio e della qualità della vita che si otterrebbe evitando trattamenti inefficaci.

### Linee Guida AIOM per il Carcinoma della Prostata 2019

L’eventuale rilevanza dei test molecolari per la prognosi di carcinoma prostatico non è stata ancora oggetto di considerazione.

Tabella riassuntiva dei Test molecolari prognostici

Test	Tipo di test	Tipo di campione	Score	Utilità clinica e uso previsto	costo
Decipher® (Genomic Biosciences)	Analisi del livello di espressione di 22 geni codificanti	Preparato istologico FFPE, di biopsia o di tessuto di prostata dopo RP	GC:0-1.0	Post-biopsia Stratificazione dei pazienti in basso/alto rischio dopo la biopsia <del>RP</del> per orientare percorso di AS o trattamento attivo  Post-RP, radio terapia adiuvante o di “salvataggio” nei Pazienti pT2-R1 o	\$ 5.150

				pT3 o con progressione biochimico	
OncotypeDX® (Genomic Health)	Analisi del livello di espressione di 12 geni tumorali e di 5 geni di riferimento	Preparato istologico FFPE. 15 Sezioni istologiche di 5 micron da biopsia (Carcinoma > 1mm)	GPS:0-100	Predice il rischio di progressione o recidiva, identifica i pazienti per AS o trattamento attivo	\$ 4.520
Prolaris® (Myriad Genetics)	Analisi del livello di espressione di 31 geni del ciclo cellulare + 15 geni costitutivi	Preparato istologico FFPE. Post-biopsia (5 Sezioni istologiche da biopsie con estensione continua di PCa >5mm) o da campioni di prostata dopo RP,	CCP:0-6	Post-biopsia Predice il rischio a 10 anni di recidiva e di mortalità identifica i pazienti per AS o trattamento attivo	\$ 3.900

Abbreviazioni:

RP = prostatectomia radicale;

AS = Sorveglianza Attiva.

I costi sono stati ottenuti dalle linee guida Asco 2019

## CAPITOLO 4 – CARCINOMA DEL COLON RETTO

### 4.1 TMP nel carcinoma del colon retto

Il carcinoma del colon-retto (CRC) è il terzo tipo di cancro più comunemente diagnosticato e la terza causa di morte negli Stati Uniti anche se l’incidenza sta diminuendo<sup>86</sup>. A livello mondiale, il CRC è la seconda causa di morte per cancro negli uomini e la terza per le donne<sup>87</sup>. In Europa, circa 500.000 pazienti sono diagnosticati ogni anno e CRC rappresenta la seconda causa di morte per cancro<sup>88</sup>. La maggior parte dei casi di CRC si origina sporadicamente, mentre circa il 20% dei casi è di tipo familiare o legato a sindromi ereditarie. Il tumore al colon-retto si sviluppa da lesioni benigne, gli adenomi o polipi, che durante il processo di trasformazione diventano carcinomi.

La prognosi del CRC è determinata da diversi fattori, tra cui lo stadio del tumore, la localizzazione, e il sottotipo istologico. Inoltre, la ricerca negli ultimi anni ha portato all’identificazione di biomarcatori molecolari che possono essere utilizzati per predire la prognosi e la risposta alla terapia<sup>89</sup>.

- Test prognostici per il CRC

I TMP per il CRC sono attualmente in fase di sviluppo e consolidamento. È però possibile che nei prossimi anni almeno uno dei test qui descritti raggiunga il livello di validazione analitica e clinica necessario per l’impiego routinario in diagnostica.

#### **Oncotype DX® colon**

Oncotype DX® è un saggio multigenico basato su qRT-PCR che misura l’espressione di 12 geni su tessuto di tumore incluso in paraffina. Il saggio include 7 geni per la prognosi (BGN, INHBA, FAP, MK167, MYBL2, MYC e GADD45B) e 5 geni di riferimento per la normalizzazione. Risultato dell’analisi è la generazione di uno score prognostico di recidiva denominato Recurrence Score (RS). Nei pazienti di CRC di stadio II o III, il saggio OncotypeDX® fornisce informazioni sul rischio di recidiva e può aiutare ad indirizzare le

---

<sup>86</sup> Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin.* 2018;68:7–30.

<sup>87</sup> Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68:394–424.

<sup>88</sup> Ferlay J, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries and 25 major cancers in 2018. *Eur J Cancer.* 2018 Nov;103:356-387.

<sup>89</sup> Harada S, Morlote D. Molecular Pathology of Colorectal Cancer. *Adv Anat Pathol.* 2020;27(1):20-26.

decisioni terapeutiche<sup>90</sup>. Il campione di biopsia deve essere mandato in un laboratorio esterno (USA) per l’esecuzione del test.

### Consensus Molecular Subtypes (CMS)

Il CMS è un classificatore multigenico del CRC basato su profili trascrizionali, che suddivide il CRC in quattro sottotipi, CMS1-4, fra i quali il sottotipo CMS4 ha peggior prognosi<sup>91</sup>. Al momento sono state sviluppate diverse versioni di questo classificatore, inclusa una che utilizza la piattaforma Nanostring, confermandone il valore prognostico<sup>92</sup>.

### Firme Stromali

Una serie di analisi incentrate sulle cellule del microambiente associate al CRC hanno evidenziato firme molecolari di espressione multigeniche associate allo stroma, in particolare ai cancer-associated fibroblasts (CAF) come efficaci indicatori prognostici<sup>93</sup> e hanno evidenziato che il valore prognostico dei tumori classificati nel sottotipo CMS4 è dovuto all’alto contenuto in CAF di questi tumori<sup>94</sup>.

### Colorectal Cancer Intrinsic Subtypes (CRIS)

Per evitare l’ambiguità classificativa dovuta a espressione genica di origine mista, stromale ed epiteliale, è stato sviluppato un classificatore trascrizionale multigenico denominato Colorectal Cancer Intrinsic Subtypes (CRIS) che valuta l’espressione di geni di esclusiva pertinenza epiteliale, e suddivide il CRC in cinque sottotipi, da CRIS-A a CRIS-E. Fra questi, il sottotipo CRIS-B ha prognosi infausta indipendentemente dal contenuto stromale<sup>95</sup> e dal sito di campionamento<sup>96</sup>.

### Eleven gene signature

---

<sup>90</sup> Clark-Langone KM, Sangli C, Krishnakumar J, Watson D. Translating tumor biology into personalized treatment planning: analytical performance characteristics of the Oncotype DX Colon Cancer Assay. *BMC Cancer*. 2010;10:691.

<sup>91</sup> Guinney J, Dienstmann R, Wang X, et al., The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med*. 2015 21(11):1350-6.

<sup>92</sup> Lenz HJ, Ou FS, Venook AP, et al., Impact of Consensus Molecular Subtype on Survival in Patients With Metastatic Colorectal Cancer: Results From CALGB/SWOG 80405 (Alliance). *J Clin Oncol*. 2019 37(22):1876-1885.

<sup>93</sup> Isella C, Terrasi A, Bellomo SE, et al., Stromal contribution to the colorectal cancer transcriptome. *Nat Genet*. 2015 47(4):312-9.

<sup>94</sup> Calon A, Lonardo E, Berenguer-Llargo A, et al., Stromal gene expression defines poor-prognosis subtypes in colorectal cancer. *Nat Genet*. 2015 47(4):320-9.

<sup>95</sup> Isella C, Brundu F, Bellomo SE, et al., Selective analysis of cancer-cell intrinsic transcriptional traits defines novel clinically relevant subtypes of colorectal cancer. *Nat Commun*. 2017 8:15107.

<sup>96</sup> Alderdice M, Richman SD, Gollins S, et al., Prospective patient stratification into robust cancer-cell intrinsic subtypes from colorectal cancer biopsies. *J Pathol*. 2018 245(1):19-28.

Recentemente è stato pubblicato un lavoro in cui viene definito un indice prognostico (PI) in base all’espressione, valutata con RT-PCR, di una firma di 11 geni, in grado di stratificare i pazienti di CRC ad alto rischio di recidiva. I geni che compongono il test sono: AKT, BID, CDC25A, EIF4A2, HSPB1, ITGB1, MAPK4K4, MMP12, PTGES3, RHOC e TERF21P. Il PI è risultato individuare CRC ad alto rischio di recidiva indipendentemente da altri indicatori clinici<sup>97</sup>.

---

<sup>97</sup> Kim SK, Kim SY, Kim CW, et al. A prognostic index based on an eleven gene signature to predict systemic recurrences in colorectal cancer. *Exp Mol Med.* 2019 51:1-12.

## CAPITOLO 5 – ONCOEMATOLOGIA

I test multigenici a carattere predittivo-prognostico hanno largo impiego nell’ambito della Emato-oncologia, come è facile evincere dalla lettura della Revised 4th Edition of the WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues<sup>98</sup>, che rappresenta la linea guida Mondiale per la diagnosi e la prognosi delle neoplasie mieloidi e linfoidi, necessaria premessa alle decisioni terapeutiche ed allo sviluppo di nuovi farmaci. Ad esempio, nell’ambito delle leucemie acute mieloblastiche (LAM), la distinzione delle diverse forme è basata sulle caratteristiche molecolari del processo e non più sulla loro morfologia. Così, le mutazioni del gene NPM1 identificano un gruppo di LAM a prognosi più favorevole, le quali non richiedono necessariamente il ricorso all’allogtrapianto. Allo stato dell’arte, larga parte delle informazioni molecolari relative ai linfomi ed alle leucemie, tuttavia, deriva dall’impiego delle tecniche di sequenziamento, specie di nuova generazione (NGS), che hanno portato allo sviluppo di pannelli di geni sotto forma di Lymphochip e Myelochip, che sono utilizzati nella pratica clinica per l’identificazione di sottogruppi nell’ambito della stessa forma neoplastica, non riconoscibili con le tecniche diagnostiche convenzionali. Tale approccio ha ricadute importanti sotto il profilo della prognosi e dell’uso mirato di farmaci ad alto costo, con vantaggio per il Paziente, che da essi trarrà il massimo beneficio, e sensibili risparmi per il Sistema Sanitario<sup>99 100</sup>. Inoltre, le tecniche di NGS sono pivotali per la determinazione della malattia minima residua e lo sviluppo della biopsia liquida.<sup>101 102 103</sup>

### Test multigenici prognostici in Emato-oncologia

Limitando l’attenzione alle indagini basate sulle tecniche di profilo di espressione genica (GEP), queste hanno fornito nel corso degli ultimi 20 anni contributi fondamentali per la riclassificazione della maggior

<sup>98</sup> Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J: WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Revised 4th edition. 2017. IARC Press, Lyon.

<sup>99</sup> Alonso CM, Llop M, Sargas C, Pedrola L, Panadero J, Hervás D, Cervera J, Such E, Ibáñez M, Ayala R, Martínez-López J, Onecha E, de Juan I, Palanca S, Martínez-Cuadrón D, Rodríguez-Veiga R, Boluda B, Montesinos P, Sanz G, Sanz MA, Barragán E. Clinical Utility of a Next-Generation Sequencing Panel for Acute Myeloid Leukemia Diagnostics. *J Mol Diagn*. 2019; 21:228-240.

<sup>100</sup> Lacy SE, Barrans SL, Beer PA, Painter D, Smith AG, Roman E, Cooke SL, Ruiz C, Glover P, Van Hoppe SJL, Webster N, Campbell PJ, Tooze RM, Patmore R, Burton C, Crouch S, Hodson DJ. Targeted sequencing in DLBCL, molecular subtypes, and outcomes: a Haematological Malignancy Research Network report. *Blood*. 2020; 135:1759-1771.

<sup>101</sup> Cheng S, Inghirami G, Cheng S, Tam W. Simple deep sequencing-based post-remission MRD surveillance predicts clinical relapse in B-ALL. *J Hematol Oncol*. 2018; 11:105-116.

<sup>102</sup> Rossi D, Diop F, Spaccarotella E, Monti S, Zanni M, Rasi S, Deambrogi C, Spina V, Brusca A, Favini C, Serra R, Ramponi A, Boldorini R, Foà R, Gaidano G. Diffuse large B-cell lymphoma genotyping on the liquid biopsy. *Blood*. 2017; 129:1947-1957.

<sup>103</sup> Kurtz DM, Esfahani MS, Scherer F, Soo J, Jin MC, Liu CL, Newman AM, Dührsen U, Hüttmann A, Casasnovas O, Westin JR, Ritgen M, Böttcher S, Langerak AW, Roschewski M, Wilson WH, Gaidano G, Rossi D, Bahlo J, Hallek M, Tibshirani R, Diehn M, Alizadeh AA. Dynamic Risk Profiling Using Serial Tumor Biomarkers for Personalized Outcome Prediction. *Cell*. 2019; 78:699-713.

parte dei tumori del sistema emolinfopoietico, consentendo di riunire in un unico gruppo linfomi che precedentemente erano allocati in classi diverse o di suddividere categorie precedentemente ritenute omogenee in diverse entità.

E' questo il caso dei **linfomi di origine T helper follicolare** da un lato e dei **linfomi a grandi cellule anaplastiche dall'altro** <sup>98</sup>. Questa riorganizzazione ha avuto importanti conseguenze, sia in termini istogenetici che, e soprattutto, prognostici.

Nei **linfomi a grandi cellule anaplastiche**, ad esempio, la conoscenza del riarrangiamento dei geni ALK, DUSP22 e TP63 comporta non soltanto l'attribuzione a categorie diverse, ma soprattutto ha un significato essenziale sotto il profilo prognostico, andando da un 85% di probabilità di guarigione alla perdita di tutti i Pazienti nell'arco dei primi 24 mesi di osservazione dopo terapia<sup>104</sup>.

Diverse sono le categorie di linfoma per le quali i dati di GEP hanno consentito di identificare sottogruppi a diversa prognosi. Una firma selettiva consente di distinguere i **linfomi mantellari indolenti** (che possono rimanere per anni senza trattamento) dalle forme convenzionali, che sono tutte poco sensibili alla chemio-immunoterapia e, talora, rapidamente letali<sup>105</sup>. Altrettanto può dirsi dei linfomi a cellule T periferiche non altrimenti specificate, nell'ambito dei quali le tecniche di GEP hanno identificato almeno tre sottogruppi con firme GATA3, TBX21 e citotossica, che comportano prognosi profondamente dissimili<sup>106</sup>.

Il linfoma che maggiormente è stato oggetto di studi di GEP, provvisti di valenza prognostica, è il **linfoma diffuso a grandi cellule B (DLBCL)**, che corrisponde al 40% circa del totale dei tumori del tessuto linfatico. Nel febbraio del 2000, Alizadeh et al. per la prima volta pubblicarono su Nature la suddivisione dei DLBCL in due grandi categorie, con una firma correlata, rispettivamente, alle cellule del centro germinativo del follicolo secondario (GCB) ed ai linfociti attivati del sangue periferico (ABC)<sup>107</sup>. Tale

<sup>104</sup> Parrilla Castellar ER, Jaffe ES, Said JW, Swerdlow SH, Ketterling RP, Knudson RA, Sidhu JS, Hsi ED, Karikhalli S, Jiang L, Vasmatzis G, Gibson SE, Ondrejka S, Nicolae A, Grogg KL, Allmer C, Ristow KM, Wilson WH, Macon WR, Law ME, Cerhan JR, Habermann TM, Ansell SM, Dogan A, Maurer MJ, Feldman AL. ALK-negative anaplastic large cell lymphoma is a genetically heterogeneous disease with widely disparate clinical outcomes. *Blood*. 2014; 124:1473-80.

<sup>105</sup> Scott DW, Abrisqueta P, Wright GW, Slack GW, Mottok A, Villa D, Jares P, Rauert-Wunderlich H, Royo C, Clot G, Pinyol M, Boyle M, Chan FC, Braziel RM, Chan WC, Weisenburger DD, Cook JR, Greiner TC, Fu K, Ott G, Delabie J, Smeland EB, Holte H, Jaffe ES, Steidl C, Connors JM, Gascoyne RD, Rosenwald A, Staudt LM, Campo E, Rimsza LM. New Molecular Assay for the Proliferation Signature in Mantle Cell Lymphoma Applicable to Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Biopsies. *J Clin Oncol*. 2017; 35:1668-1677.

<sup>106</sup> Iqbal J, Wright G, Wang C, Rosenwald A, Gascoyne RD, Weisenburger DD, Greiner TC, Smith L, Guo S, Wilcox RA, Teh BT, Lim ST, Tan SY, Rimsza LM, Jaffe ES, Campo E, Martinez A, Delabie J, Braziel RM, Cook JR, Tubbs RR, Ott G, Geissinger E, Gaulard P, Piccaluga PP, Pileri SA, Au WY, Nakamura S, Seto M, Berger F, de Leval L, Connors JM, Armitage J, Vose J, Chan WC, Staudt LM. Gene expression signatures delineate biological and prognostic subgroups in peripheral T-cell lymphoma. *Blood*. 2014; 123:2915-2923.

<sup>107</sup> Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, Rosenwald A, Boldrick JC, Sabet H, Tran T, Yu X, Powell JI, Yang L, Marti GE, Moore T, Hudson J Jr, Lu L, Lewis DB, Tibshirani R, Sherlock G, Chan WC, Greiner TC, Weisenburger DD, Armitage JO, Warnke R, Levy R, Wilson W, Grever MR, Byrd JC, Botstein D, Brown PO, Staudt LM. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature*. 2000; 403:503-511.

distinzione, relativa alla cellula di origine (COO) e non fattibile sotto il profilo morfologico, corrispondeva ad una diversa risposta alla chemioterapia standard (CHOP). Le forme GCB avevano una aspettativa di vita a 5 anni del 40-50% superiore rispetto a quella delle forme ABC. Tale dato venne confermato dal Lymphoma Leukemia Molecular Profiling Project (LLMPP), Consorzio transatlantico, su di una casistica molto più ampia rispetto a quella di Alizadeh e Collaboratori. Lo studio consentì di identificare un terzo gruppo fra quelli GCB ed ABC, che venne indicato come non classificabile (U)<sup>108</sup>. Tale differenza prognostica fra DLBCL GCB ed ABC è stata confermata anche nella presente era della immunochemioterapia (R-CHOP e schedule R-CHOP-simili)<sup>109</sup>. Il grande limite di questi primi studi di GEP consisteva nell'uso di tessuto fresco o criopreservato (FFT), il quale è disponibile soltanto in una quota minimale di Pazienti seguiti presso Istituzioni di riferimento. Ciò portò allo sviluppo di surrogati immunoistochimici, per la determinazione della COO mediante algoritmi di marcatori<sup>110 111 112 113</sup> surrogati che tuttavia hanno prodotto risultati estremamente contraddittori<sup>114 115</sup>. Tale contraddittorietà è legata a molteplici fattori:

---

<sup>108</sup> Rosenwald A, Wright G, Chan WC, Connors JM, Campo E, Fisher RI, Gascoyne RD, Muller-Hermelink HK, Smeland EB, Giltane JM, Hurt EM, Zhao H, Averett L, Yang L, Wilson WH, Jaffe ES, Simon R, Klausner RD, Powell J, Duffey PL, Longo DL, Greiner TC, Weisenburger DD, Sanger WG, Dave BJ, Lynch JC, Vose J, Armitage JO, Montserrat E, López-Guillermo A, Grogan TM, Miller TP, LeBlanc M, Ott G, Kvaloy S, Delabie J, Holte H, Krajci P, Stokke T, Staudt LM. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2002; 346:1937-1947.

<sup>109</sup> Nowakowski GS, Czuczman MS. ABC, GCB, and Double-Hit Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Does Subtype Make a Difference in Therapy Selection? *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2015; e449-457.

<sup>110</sup> Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G, Müller-Hermelink HK, Campo E, Braziel RM, Jaffe ES, Pan Z, Farinha P, Smith LM, Falini B, Banham AH, Rosenwald A, Staudt LM, Connors JM, Armitage JO, Chan WC. *Blood*. 2004; 103:275-282.

<sup>111</sup> Choi WW, Weisenburger DD, Greiner TC, Piris MA, Banham AH, Delabie J, Braziel RM, Geng H, Iqbal J, Lenz G, Vose JM, Hans CP, Fu K, Smith LM, Li M, Liu Z, Gascoyne RD, Rosenwald A, Ott G, Rimsza LM, Campo E, Jaffe ES, Jaye DL, Staudt LM, Chan WC. A new immunostain algorithm classifies diffuse large B-cell lymphoma into molecular subtypes with high accuracy. *Clin Cancer Res*. 2009; 15:5494-5502.

<sup>112</sup> Zinzani, P.L., Dirnhofer, S., Sabbatini, E., Alinari, L., Piccaluga, P.P., Ascani, S., Bacci, F., Stefoni, V., Tani, M., Musuraca, G., Marchi, E., Gabriele, A., Falini, B., Tura, S., Baccarani, M., and Pileri, S.A.: Identification of outcome predictors in diffuse large cell lymphoma. Immunohistochemical profiling of homogeneously treated de novo nodal tumors on tissue micro-arrays. *Haematol*. 2005; 90:341-347.

<sup>113</sup> Meyer PN, Fu K, Greiner TC, Smith LM, Delabie J, Gascoyne RD, Ott G, Rosenwald A, Braziel RM, Campo E, Vose JM, Lenz G, Staudt LM, Chan WC, Weisenburger DD. Immunohistochemical methods for predicting cell of origin and survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab. *J Clin Oncol*. 2011; 29:200-207.

<sup>114</sup> de Jong D, Rosenwald A, Chhanabhai M, Gaulard P, Klapper W, Lee A, Sander B, Thorns C, Campo E, Molina T, Norton A, Hagenbeek A, Horning S, Lister A, Raemaekers J, Gascoyne RD, Salles G, Weller E. Immunohistochemical prognostic markers in diffuse large B-cell lymphoma: validation of tissue microarray as a prerequisite for broad clinical applications--a study from the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium *J Clin Oncol*. 2007; 25:805-812.

<sup>115</sup> Gutiérrez-García G, Cardesa-Salzmán T, Climent F, González-Barca E, Mercadal S, Mate JL, Sancho JM, Arenillas L, Serrano S, Escoda L, Martínez S, Valera A, Martínez A, Jares P, Pinyol M, García-Herrera A, Martínez-Trillos A, Giné E, Villamor N, Campo E, Colomo L, López-Guillermo A. Gene-expression profiling and not immunophenotypic algorithms predicts prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with immunochemotherapy. *Blood*. 2011; 117:4836-4843.

- 1) la diversità delle tecniche utilizzate per la ricerca delle proteine, volte a surrogare i risultati del GEP;
- 2) la scarsa riproducibilità inter- ed intra-personale nella valutazione di risultati ottenuti;
- 3) la mancanza di simmetria fra immunoistochimica e GEP, la prima distinguendo i DLBCL in forme GCB e non-GCB, queste ultime essendo decisamente eterogenee, studiando gli stessi casi anche con tecniche di GEP.

Quando, poi, erano poste a confronto le curve di sopravvivenza generate negli stessi casi sulla base dell'immunoistochimica e del GEP, non si apprezzava alcuna significativa differenza fra DLBCL GCB e non-GCB, a differenza di quanto avveniva fra GCB ed ABC determinati per via molecolare. Tale situazione è stata superata da una nuova tecnologia, proposta dallo LLMPP, che prevede mediante GEP digitale sulla piattaforma NanoString la valutazione del livello di espressione di 15 top-genes a 5 housekeeping genes sul DNA estratto da campioni fissati in formalina ed inclusi in paraffina (FFPE), disponibili in ogni Paziente<sup>116</sup>. Negli stessi casi, i risultati prodotti con tale pannello di geni (Lymph2Cx) su FFPE sono apparsi identici, sia come classificazione che predizione prognostica, rispetto a quelli forniti del GEP convenzionale su FFT. Essi hanno rivelato un potere predittivo significativamente superiore a quello di tre diversi algoritmi immunoistochimici. I risultati dello LLMPP sono stati validati da numerosi altri Gruppi<sup>117 118 119</sup>, estraendo la RNA messaggero (mRNA) da campioni bioptici FFPE. Ciò ha portato alla **disponibilità commerciale del pannello di geni**, indicato quale **LST**, il quale può essere impiegato su ciascuna delle 36 piattaforme NanoString presenti in Italia. Lo strumento viene dotato di un algoritmo che automaticamente assegna il DLBCL ad uno dei gruppi GCB, U o ABC. Relativamente alla determinazione della COO nei DLBCL, si deve osservare come questa sia diventata obbligatoria, in base a quanto previsto dalla Revised 4th Edition of the WHO Classification <sup>98</sup>, nella quale il GEP digitale è raccomandato, in considerazione della variabilità dei risultati ottenuti con le tecniche immunoistochimiche. Per altro, è importante ricordare come la definizione della COO costituisca punto

---

<sup>116</sup> Scott DW, Wright GW, Williams PM, Lih CJ, Walsh W, Jaffe ES, Rosenwald A, Campo E, Chan WC, Connors JM, Smeland EB, Mottok A, Brazier RM, Ott G, Delabie J, Tubbs RR, Cook JR, Weisenburger DD, Greiner TC, Glinzmann-Gibson BJ, Fu K, Staudt LM, Gascoyne RD, Rimsza LM. Determining cell-of-origin subtypes of diffuse large B-cell lymphoma using gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue. *Blood*. 2014; 123:1214-1217.

<sup>117</sup> Scott DW, Mottok A, Ennishi D, Wright GW, Farinha P, Ben-Neriah S, Kridel R, Barry GS, Hother C, Abrisqueta P, Boyle M, Meissner B, Telenius A, Savage KJ, Sehn LH, Slack GW, Steidl C, Staudt LM, Connors JM, Rimsza LM, Gascoyne RD. Prognostic Significance of Diffuse Large B-Cell Lymphoma Cell of Origin Determined by Digital Gene Expression in Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissue Biopsies. *J Clin Oncol*. 2015; 33:2848-2856.

<sup>118</sup> Jais JP, Molina TJ, Ruminy P, Gentien D, Reyes C, Scott DW, Rimsza LM, Wright G, Gascoyne RD, Staudt LM, Haioun C, Tilly H, Gaulard P, Salles GA, Jardin F, Leroy K. Reliable subtype classification of diffuse large B-cell lymphoma samples from GELA LNH2003 trials using the Lymph2Cx gene expression assay. *Haematol*. 2017; 102:e404-e406.

<sup>119</sup> Gifford G, Gabrielli S, Gill A, Greenwood M, Wong K, Best G, Nevell D, McIlroy K, Kliman D, IImay-Gillespie L, Tiley C, Miranda S, Armytage T, Stevenson W. Lymphoma cell-of-origin assignment by gene expression profiling is clinically meaningful across broad laboratory contexts *Br J Haematol*. 2018; 181:272-275.

di partenza anche per la ulteriore sotto-classificazione dei DLBCL basata sulle tecniche di NGS, in quanto le mutazioni che li interessano non si realizzano a caso, ma hanno una stretta correlazione con i gruppi GCB ed ABC.<sup>100 120 121 122</sup>

E' prevedibile che il campo del GEP digitale per mRNA estratto da biopsie FFPE si ampli ulteriormente nel prossimo futuro. Infatti, in letteratura sono stati riportati nuovi pannelli, che permettono l'identificazione, sia di varietà rare di DLBCL (Lymph2Cx) che di casi della categoria GCB ad alto rischio e, per converso, di tipo ABC a più basso rischio.<sup>123 124 125 126</sup> Tali pannelli risultano in analisi multivariata come variabili indipendenti da quelle cliniche, tipo lo IPI. Inoltre, stanno emergendo ulteriori pannelli che indicano il grado di aggressività del processo in base alle caratteristiche del microambiente (ME)<sup>127</sup>

<sup>120</sup> Chapuy B, Stewart C, Dunford AJ, Kim J, Kamburov A, Redd RA, Lawrence MS, Roemer MGM, Li AJ, Ziepert M, Staiger AM, Wala JA, Ducar MD, Leshchiner I, Rheinbay E, Taylor-Weiner A, Coughlin CA, Hess JM, Peadarallu CS, Livitz D, Rosebrock D, Rosenberg M, Tracy AA, Horn H, van Hummelen P, Feldman AL, Link BK, Novak AJ, Cerhan JR, Habermann TM, Siebert R, Rosenwald A, Thorner AR, Meyerson ML, Golub TR, Beroukheim R, Wulf GG, Ott G, Rodig SJ, Monti S, Neuberger DS, Loeffler M, Pfreundschuh M, Trümper L, Getz G, Shipp MA. Molecular subtypes of diffuse large B cell lymphoma are associated with distinct pathogenic mechanisms and outcomes. *Nat Med.* 2018; 24:679-690.

<sup>121</sup> Schmitz R, Wright GW, Huang DW, Johnson CA, Phelan JD, Wang JQ, Roulland S, Kasbekar M, Young RM, Shaffer AL, Hodson DJ, Xiao W, Yu X, Yang Y, Zhao H, Xu W, Liu X, Zhou B, Du W, Chan WC, Jaffe ES, Gascoyne RD, Connors JM, Campo E, Lopez-Guillermo A, Rosenwald A, Ott G, Delabie J, Rimsza LM, Tay Kuang Wei K, Zelenetz AD, Leonard JP, Bartlett NL, Tran B, Shetty J, Zhao Y, Soppet DR, Pittaluga S, Wilson WH, Staudt LM. Genetics and Pathogenesis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2018; 378:1396-1407.

<sup>122</sup> Wright GW, Huang DW, Phelan JD, Coulibaly ZA, Roulland S, Young RM, Wang JQ, Schmitz R, Morin RD, Tang J, Jiang A, Bagaev A, Plotnikova O, Kotlov N, Johnson CA, Wilson WH, Scott DW, Staudt LM. A Probabilistic Classification Tool for Genetic Subtypes of Diffuse Large B Cell Lymphoma with Therapeutic Implications. *Cancer Cell.* 2020; 37:551-568.

<sup>123</sup> Mottok A, Wright G, Rosenwald A, Ott G, Ramsower C, Campo E, Braziel RM, Delabie J, Weisenburger DD, Song JY, Chan WC, Cook JR, Fu K, Greiner T, Smeland E, Holte H, Savage KJ, Glimsman-Gibson BJ, Gascoyne RD, Staudt LM, Jaffe ES, Connors JM, Scott DW, Steidl C, Rimsza LM. Molecular classification of primary mediastinal large B-cell lymphoma using routinely available tissue specimens. *Blood.* 2018; 132:2401-2405.

<sup>124</sup> Ennishi D, Jiang A, Boyle M, Collinge B, Grande BM, Ben-Neriah S, Rushton C, Tang J, Thomas N, Slack GW, Farinha P, Takata K, Miyata-Takata T, Craig J, Mottok A, Meissner B, Saberi S, Bashashati A, Villa D, Savage KJ, Sehn LH, Kridel R, Mungall AJ, Marra MA, Shah SP, Steidl C, Connors JM, Gascoyne RD, Morin RD, Scott DW. *J Clin Oncol.* 2019; 37:190-201.

<sup>125</sup> Sha C, Barrans S, Cucco F, Bentley MA, Care MA, Cummin T, Kennedy H, Thompson JS, Uddin R, Worriellow L, Chalkley R, van Hoppe M, Ahmed S, Maishman T, Caddy J, Schuh A, Mamot C, Burton C, Tooze R, Davies A, Du MQ, Johnson PWM, Westhead DR. Molecular High-Grade B-Cell Lymphoma: Defining a Poor-Risk Group That Requires Different Approaches to Therapy. *J Clin Oncol.* 2019; 37:202-212.

<sup>126</sup> Derenzini E, Mazzara S, Melle F, Motta G, Fabbri M, Bruna R, Agostinelli C, Cesano A, Corsini CA, Chen N, Righi S, Sabattini E, Chiappella A, Calleri A, Fiori S, Tabanelli V, Cabras A, Pruneri G, Vitolo U, Gianni AM, Rambaldi A, Corradini P, Zinzani PL, Tarella C, Pileri S. A 3-gene signature based on MYC, BCL-2 and NFKBIA improves risk stratification in diffuse large B-cell lymphoma. *Haematol.* 2020; E-pub ahead of print.

<sup>127</sup> Ciavarella S, Vegliante MC, Fabbri M, De Summa S, Melle F, Motta G, De Iulius V, Opinto G, Enjuanes A, Rega S, Gulino A, Agostinelli C, Scattoni A, Tommasi S, Mangia A, Mele F, Simone G, Zito A, Vitolo U, Chiappella A, Tarella C, Gianni AM, Rambaldi A, Loseto G, Pileri A, Tabanelli V, Fiori S, Rivas-Delgado A, López-Guillermo A, Campo E, Tripodo C, Guarini A, Pileri SA. Dissection of DLBCL microenvironment provides a new 45-gene panel for risk stratification applicable to routine samples. *Ann. Oncol.* 2018; 29:2363-2370.

<sup>128</sup>, rendendo possibile valutare su tessuto FFPE, quanto riportato nel 2008 sul NEJM da Lenz et al.<sup>129</sup> utilizzando tessuto FF, circa il fatto che le componenti microambientali influenzino la risposta a CHOP e R-CHOP in maniera indipendente dallo IPI e dalla stessa COO. Al riguardo, Ciavarella et al., mediante un approccio Random Forest, hanno proposto un risk score per i DLBCL, che coniuga ME e COO (31). E' del tutto plausibile che molti di questi pannelli per GEP digitalizzato customizzato divengano, come è già lo LST, commercialmente disponibili.

### ACRONIMI:

<b>Gdl</b>	Gruppo di Lavoro
<b>LEA</b>	Livelli Esseziali di Assistenza
<b>NGS</b>	<i>Next Generation Sequencing</i> (sequenziamento di nuova/seconda generazione).
<b>PNMP</b>	Piano Nazionale per la medicina di precisione
<b>PPV</b>	valore predittivo positivo
<b>TMP</b>	Test Multigenici Prognostici
<b>WHO</b>	World Health Organization (Organizzazione Mondiale della Sanità – OMS)

---

<sup>128</sup> Staiger AM, Altenbuchinger M, Ziepert M, Kohler C, Horn H, Huttner M, Hüttl KS, Glehr G, Klapper W, Szczepanowski M, Richter J, Stein H, Feller AC, Möller P, Hansmann ML, Poeschel V, Held G, Loeffler M, Schmitz N, Trümper L, Pukrop T, Rosenwald A, Ott G, Spang R. A novel lymphoma-associated macrophage interaction signature (LAMIS) provides robust risk prognostication in diffuse large B-cell lymphoma clinical trial cohorts of the DSHNHL. *Leukemia*. 2020; 34:543-552.

<sup>129</sup> Lenz G, Wright G, Dave SS, Xiao W, Powell J, Zhao H, Xu W, Tan B, Goldschmidt N, Iqbal J, Vose J, Bast M, Fu K, Weisenburger DD, Greiner TC, Armitage JO, Kyle A, May L, Gascoyne RD, Connors JM, Troen G, Holte H, Kvaloy S, Dierickx D, Verhoef G, Delabie J, Smeland EB, Jares P, Martinez A, Lopez-Guillermo A, Montserrat E, Campo E, Braziel RM, Miller TP, Rimsza LM, Cook JR, Pohlman B, Sweetenham J, Tubbs RR, Fisher RI, Hartmann E, Rosenwald A, Ott G, Muller-Hermelink HK, Wrench D, Lister TA, Jaffe ES, Wilson WH, Chan WC, Staudt LM. Stromal gene signatures in large-B-cell lymphomas. *N Engl J Med*. 2008; 359:2313-2323.



*Ministero della Salute*

*Consiglio Superiore di Sanità*

Sessione LII (2019-2022)

**Sezione I**

Presidente: Prof. Bruno Dallapiccola  
Segretario tecnico: Dr. Stefano Moriconi

**Gruppo di lavoro**

*"Test multigenici prognostici in oncologia: raccomandazioni per l'utilizzo  
e valutazione economico-sanitaria dell'adozione nel SSN"*

**Prof. Giovanni Scambia**

*Coordinatore Gdl - Vice Presidente Sezione I CSS*

Professore Ordinario Ginecologia e Ostetricia, Direttore Dip.to Scienze salute della donna e del bambino - Direttore UO Ginecologia - Direttore Scientifico IRCCS Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli Roma  
*Presidente Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia (SIGO)*  
*Presidente European Society for Gynaecological Endoscopy (ESGE)*

**Prof.ssa Anna Sapino**

*Co-coordinatore Gdl*

Professore Ordinario Anatomia Patologica, Direttore Dipartimento di Scienze Mediche, Università degli Studi di Torino  
Direttore Scientifico IRCCS Istituto di Candiolo, Fondazione del Piemonte per l'Oncologia (FPO), Direttore SC Anatomia Patologica IRCCS Candiolo FPO (TO). *Presidente Società Italiana di Anatomia Patologica e Citologia (SIAPEC)*

**Dr. Stefano Moriconi**

*Segretario tecnico Gdl*

Coordinatore e Direttore della Struttura tecnica di Segreteria della Sezione I del Consiglio Superiore di Sanità - Dirigente medico, Ministero della salute

**Prof. Sergio Abrignani**

*Consigliere Sezione I CSS*

Professore Ordinario di Patologia Generale, Dip.to Scienze cliniche e di comunità - Università degli Studi di Milano - Direttore Scientifico Istituto Nazionale di Genetica Molecolare - INGM "Romeo ed Enrica Invernizzi"

**Prof. Francesco Longo**

*Consigliere Sezione I CSS*

Professore Associato in Management pubblico, Dip.to Analisi delle politiche e management Pubblico, Università Bocconi di Milano

**Prof. Carlo Foresta**

*Vice Presidente Sezione III CSS*

Professore Ordinario di Endocrinologia – Direttore U.O.C. Andrologia e medicina della riproduzione umana - Università di Padova - Direttore del Centro regionale di crioconservazione dei gameti maschili

**Prof. Giuseppe Curigliano**

*Consigliere Sezione V CSS*

Professore Associato Oncologia Medica, Dip.to di oncologia e emato-oncologia, Università degli Studi di Milano - Direttore Struttura complessa, Divisione di Sviluppo di Nuovi Farmaci per Terapie Innovative. IRCCS Istituto Europeo di Oncologia (IEO)

**Prof. Pierfrancesco Bassi**

Professore Ordinario Urologia, Direttore U.O.C. Clinica Urologica, Dip.to Scienze mediche e chirurgiche, IRCCS Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli Roma

**Prof.ssa Sara Cabodi**

Professore Associato Biologia cellulare, Dip.to Biotecnologie Molecolari e Scienze per la Salute, Università di Torino

**Prof. Ruggero De Maria Marchiano**

Professore Ordinario Patologia generale IRCCS Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli Roma  
*Presidente Associazione Alleanza contro il Cancro*

**Prof. Gianfranco Gensini**

*Coordinatore dell'Advisory Board del Piano Nazionale delle Linee Guida, Istituto Superiore di Sanità* – Direttore scientifico IRCCS Multimedica Milano - Professore ordinario di Medicina Interna, già Preside della Facoltà di Medicina e Chirurgia e Prorettore Università degli Studi di Firenze. Presidente della Società Italiana per la salute digitale e la Telemedicina (SIT)

**Prof. Enzo Medico**

Professore Ordinario di Istologia, Dip. di oncologia, Università di Torino - Direttore del Laboratorio di Oncogenomica IRCCS Ist. Candiolo FPO (Torino)

**Prof.ssa Monica Rosa Miozzo**

Professore Ordinario di Genetica medica, Dip.to di Fisiopatologia Medico-Chirurgica e dei Trapianti, Università degli Studi di Milano. Responsabile UOS Coordinamento Laboratori di Ricerca *Genomic Facility*, Direzione Scientifica Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano. Componente Comitato Etico Fondazione IRCCS Istituto Nazionale Tumori, Milano

**Dott. Nicola Normanno**

Direttore del Dip.to di Ricerca Traslazionale dell'Istituto Nazionale Tumori IRCCS Fondazione Pascale, Napoli.  
*Presidente International Quality Network for Pathology (IQNPath) - Presidente Società italiana di Cancerologia (SIC)*

**Prof. Stefano Pileri**

Professore Ordinario di Anatomia Patologica, Università di Bologna  
Direttore Divisione di Diagnosi Emolinfopatologica IRCCS Istituto Europeo di Oncologia (IEO), Milano

**Dott. Paolo Pronzato**

Direttore Oncologia Medica 2 - IRCCS A.O.U. San Martino - IST - Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro Genova

**Dott. Giuseppe Renne**

Direttore Uropatologia e Diagnostica Intraoperatoria. IRCCS Istituto Europeo di Oncologia (IEO), Milano

**Prof. Alberto Spanò**

Consigliere Ordine Nazionale dei Biologi (ONB)  
Già Direttore del Dip.to Servizi Diagnostici ASL RM/2 e Direttore Laboratori Microbiologia e Virologia ASL RM/2.

**Dott.ssa Federica Miragliotta**      *Sezione I CSS*

Collaboratore amministrativo, Sezione I Consiglio Superiore di sanità, Direzione Generale Organi Collegiali tutela della Salute, Ministero della Salute

Rappresentanti della Direzione Generale della Programmazione sanitaria (DGPROGS), Ministero della Salute

**Dott.ssa Modesta Mariniello**

Direttore Ufficio 5 - LEA assistenza territoriali e sociosanitaria, DGPROGS, Ministero della Salute

**Dott.ssa Modesta Visca**

Collaboratore tecnico professionale economia aziendale sanitaria, Ufficio 2 - Piano sanitario nazionale e piani di settore, DGPROGS, Ministero della Salute

**IL COORDINATORE**  
Prof. Giovanni Scambia

**IL CO-COORDINATORE**  
Prof.ssa Anna Sapino

**IL SEGRETARIO DELLA SEZIONE I**  
Dr. Stefano Moriconi

**IL PRESIDENTE DELLA SEZIONE I**  
Prof. Bruno Dallapiccola