APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

B. Damascelli MD*, V.Tichà MD*, Elena Repetti MD°, Tshering Dorji MD^
* Radiologia Intervenzionale Oncologica, Emodinamica Columbus, Milano
° Genetica Molecolare del laboratorio ImpactLab Group, Milano.
^ Sezione di Anatomia Patologica del Laboratorio ImpactLab Group, Milano.

FONDAZIONE FALCIANI

La Fondazione Falciani promuove la ricerca clinica per il miglioramento delle possibilità di diagnosi tempestiva di cancro e delle cure appropriate per questa malattia per la quale solo nelle nazioni avanzate muoiono ogni anno oltre 8 milioni di persone.

APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

L’Agenzia per la Ricerca sul cancro, IARC, riporta che nel mondo ogni anno viene diagnosticato oltre un milione di nuovi casi di cancro e, secondo le proiezioni, 1 uomo su 5 e 1 donna su 6 si ammalano e 1 uomo su 8 e 1 donna su 11 muoiono.

FONDAZIONE FALCIANI

APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

Una classifica basata sull'incidenza mette al primo posto il cancro del polmone, poi quello della mammella nella donna, del colon retto, della prostata, dello stomaco e del fegato.

FONDAZIONE FALCIANI

APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

Alcuni tumori come quelli dell'ovaio, del pancreas, della tiroide, il melanoma, i tumori cerebrali, i sarcomi delle parti molli giungono all'evidenza clinica solo in stadio avanzato. Questi tumori, anche se rari, sono quelli che contribuiscono maggiormente alle cause di morte. Per queste situazioni cliniche la definizione della loro diffusione nell'organismo è determinante.

FONDAZIONE FALCIANI

APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

Le tecniche, sia di immagine che di laboratorio, attualmente disponibili non sono sufficienti per una diagnosi veramente tempestiva di cancro, per la definizione di guarigione, di malattia minima residua, di diffusione metastatica occulta. Il risultato di queste incertezze comporta in molti casi la prescrizione di un trattamento non necessario o, in altri, la decisione di nessun trattamento per l'apparente non evidenza di malattia.

FONDAZIONE FALCIANI

APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

Come per le altre conoscenze strutturali della materia anche per la materia vivente è in corso la ricerca nel mondo dell'infinitamente piccolo. E' proprio nell'analisi del DNA rilasciato nel sangue da un tumore anche in fase iniziale, o ancor meglio, nell'espressione mutazionale direttamente ottenuta dalle cellule tumorali circolanti, che si muove ora il progresso clinico in oncologia.

FONDAZIONE FALCIANI

APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

Lo studio del DNA, cioè la diagnosi molecolare di un tumore, può essere fatto direttamente sul tessuto tumorale prelevato con l'intervento chirurgico o con una biopsia tissutale od infine sul DNA rilasciato in circolo (biopsia liquida). I due risultati sono complementari ma nel tempo possono differire a causa delle mutazioni che si verificano nella moltiplicazione cellulare neoplastica. L'instabilità cromosomica caratteristica dei tumori maligni, attraverso il variare dell'assetto genomico, spiega la resistenza alle varie modalità di cura.

FONDAZIONE FALCIANI

APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

Con il termine di biopsia liquida ci si riferisce attualmente alla identificazione di mutazioni presenti nel DNA derivante dal tumore che è possibile isolare dal plasma o dalle cellule tumorali che circolano nel sangue dei pazienti affetti da cancro. I vantaggi di questa possibilità diagnostica sono sensibili poiché non è invasiva, può essere ripetuta nel tempo, ed è in grado di captare l'eterogeneità molecolare di un tumore meglio di una biopsia tissutale cruenta che riflette l'assetto genomico di una sola zona della malattia.

FONDAZIONE FALCIANI

APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

La biopsia liquida normalmente viene eseguita su sangue periferico, si ricercano le cellule tumorali circolanti (CTC) ed è estratto il DNA frammentato circolante (cfDNA) composto da DNA derivante da cellule normali ed in minima parte da cellule tumorali (ctDNA). Le quantità di ctDNA non sono correlate alle dimensioni del tumore ma alle caratteristiche di rilascio da parte delle cellule e le CTC sono rare nel sangue dove si trova 1 cellula tumorale su 600.000 cellule nucleate, ottenute da un prelievo di 5/10 ml di sangue.

FONDAZIONE FALCIANI

APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

Per ovviare alla scarsità del materiale genetico ricavabile dal sangue sono state proposte diverse soluzioni, alcune ad alto contenuto tecnologico, ma inevitabilmente costose e complesse da eseguire come l'inserimento nel circolo venoso, per un certo tempo, di sistemi adatti alla cattura delle cellule tumorali circolanti, altre più semplici, come il ricorso ad un prelievo selettivo dalle aree corporee interessate da un tumore.

FONDAZIONE FALCIANI

APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

La biopsia venosa selettiva ha maggiori possibilità di captare sia il DNA tumorale circolante che le cellule tumorali circolanti ed il prelievo, ottenibile da qualunque distretto venoso, consente un'analisi topografica della distribuzione della malattia neoplastica con le eventuali differenze nelle caratteristiche genomiche. Questa tecnica implementata dalla Fondazione Falciani può essere proposta nei casi critici con negatività nel prelievo periferico o direttamente a motivo della migliore sensibilità e specificità dei risultati.

FONDAZIONE FALCIANI

APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

La sensibilità e la specificità della biopsia liquida possono essere facilmente percepite dalla descrizione di alcuni casi esemplificativi.

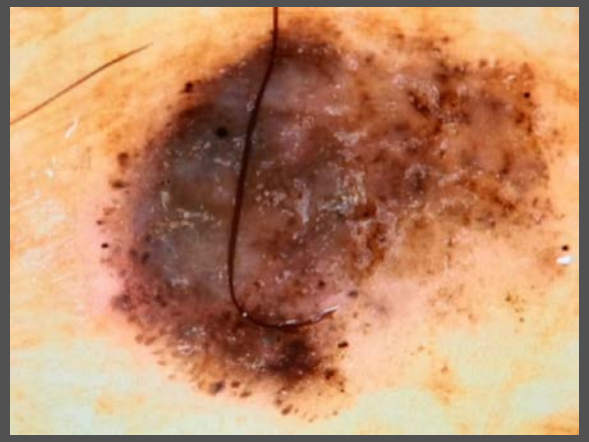
FONDAZIONE FALCIANI

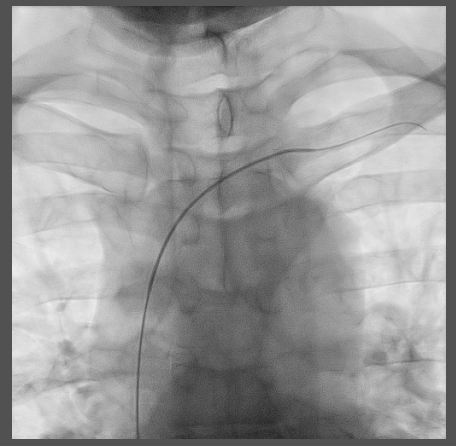
CASI CLINICI ILLUSTRATIVI

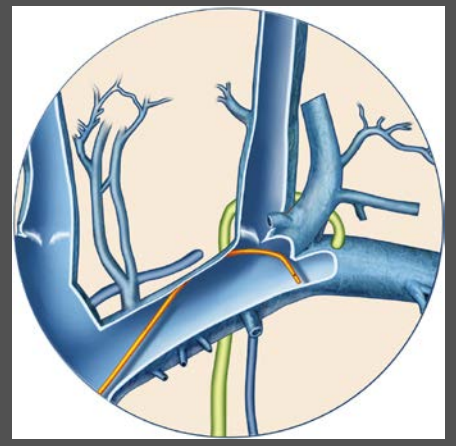
APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

Uomo di 79 anni con numerosi nevi, ha una diagnosi visiva di sospetto melanoma per un nevo al braccio sinistro. Si propone di fare una biopsia liquida con un doppio campionamento di sangue dalla vena ascellare e dalla vena brachiale. Il primo è positivo per la presenza di mutazione **p.Q61R del gene NRAS nell'esone 3**, correlabile a melanoma.

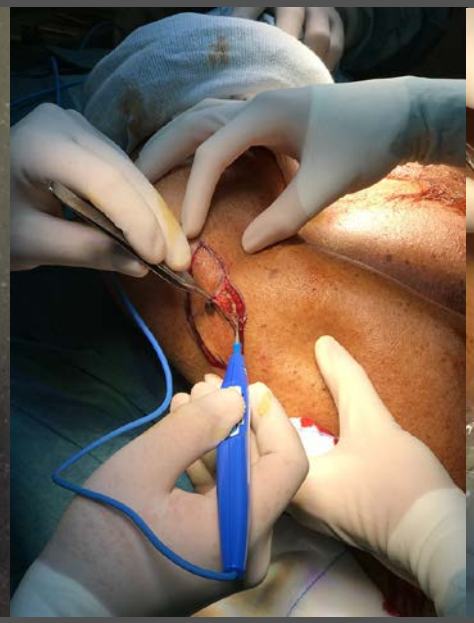
Il campionamento dalla vena brachiale era negativo. Si decide per l'asportazione radicale del nevo e nello stesso tempo del linfonodo sentinella. La diagnosi di melanoma è confermata con negatività del linfonodo sentinella e, a 6 mesi, una nuova biopsia liquida risultava negativa.

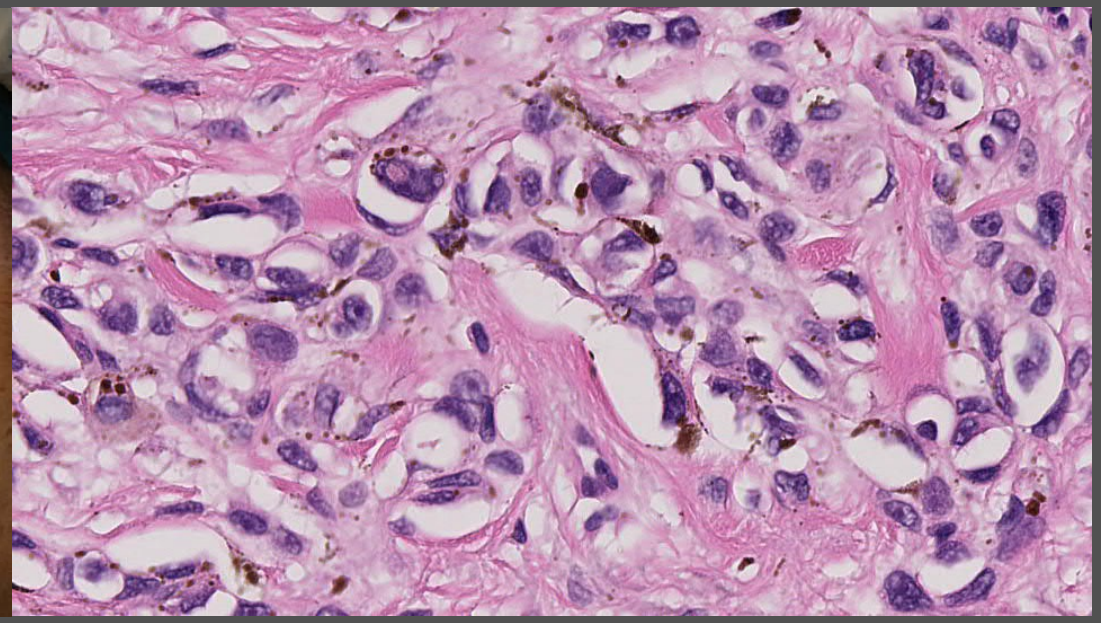






APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

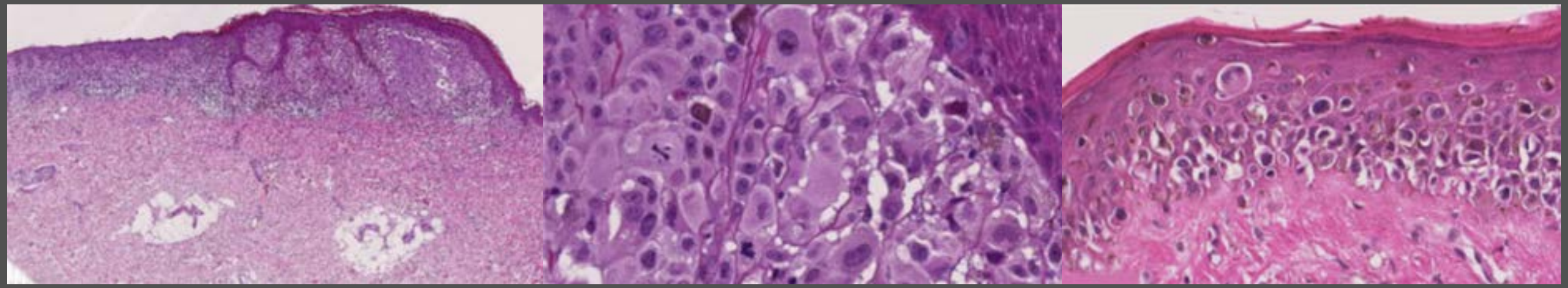




Melanoma a diffusione superficiale, fase di crescita orizzontale presente, fase di crescita verticale assente, spessore (Breslow) 0,9 mm, livello (Clark) III, infiltrato linfocitico tumorale (TIL) non intenso (non Brisk), ulcerazione assente, regressione assente, pigmentazione abbondante, mitosi 0, invasione perineurale assente, nevo associato presente, tipo intradermico, microsatellitosi assente, margini laterali negativi e margine profondo negativo.
Linfonodo sentinella negativo.

APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

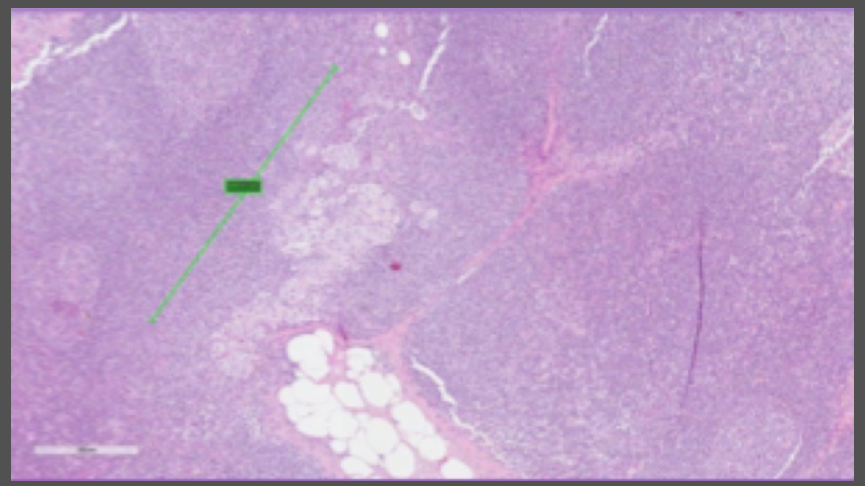
Uomo di 53 anni, operato di un nevo al braccio sinistro con diagnosi di melanoma superficiale e con raccomandazione di nessuna ulteriore azione, veniva sottoposto a biopsia liquida convenzionale e venosa selettiva. Nel prelievo selettivo è stata rilevata una mutazione **p.Y1021S nel codone 10.21 del gene PiK3CA**. L'asportazione del linfonodo sentinella ha mostrato una metastasi linfonodale di appena 1mm lineare. La successiva asportazione di 27 linfonodi ascellari non mostrava altre metastasi.

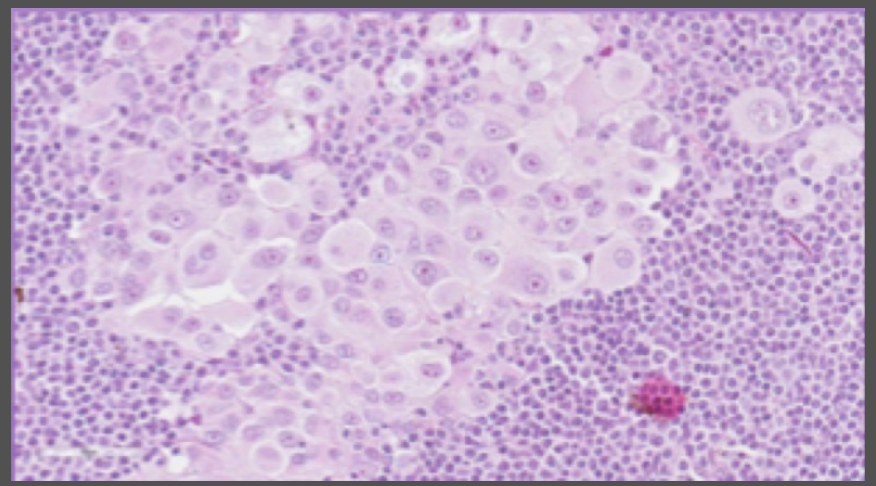


Melanoma a diffusione superficiale, fase di crescita verticale presente, spessore (Breslow) 0,7 mm, livello (Clark) III, infiltrato linfocitico tumorale (TIL) non intenso (non Brisk), ulcerazione assente, regressione assente, pigmentazione scarsa, mitosi 2, invasione perineurale assente, nevo associato assente, margini laterali negativi e margine profondo negativo.

FONDAZIONE FALCIANI

APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

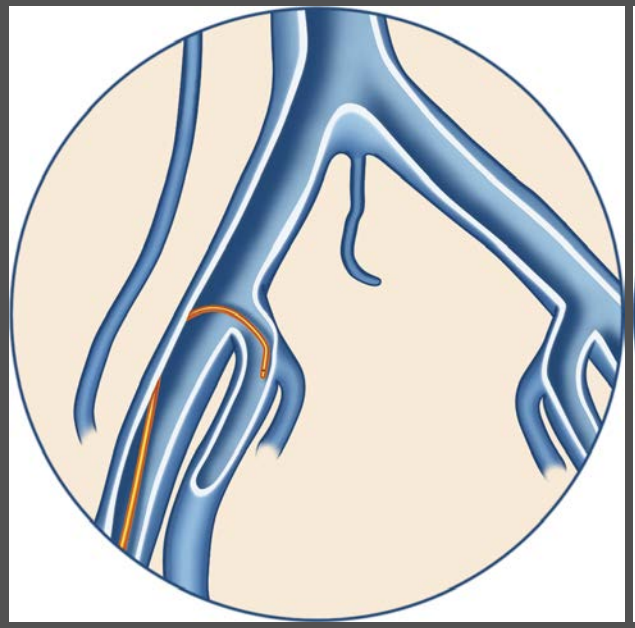


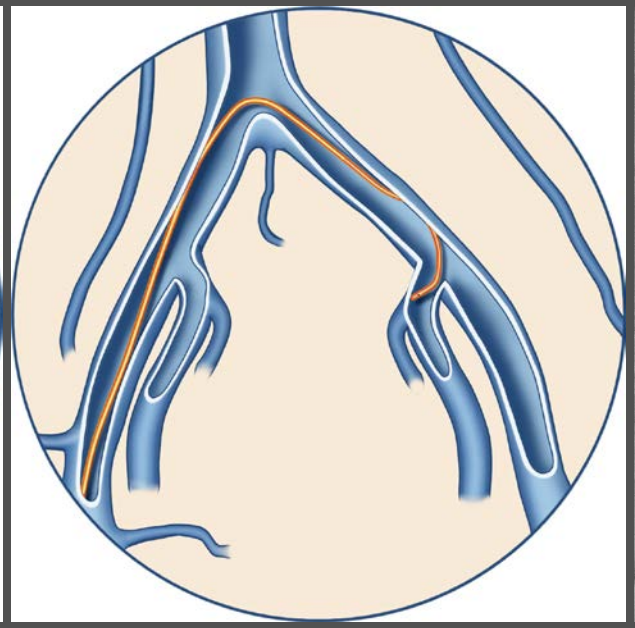


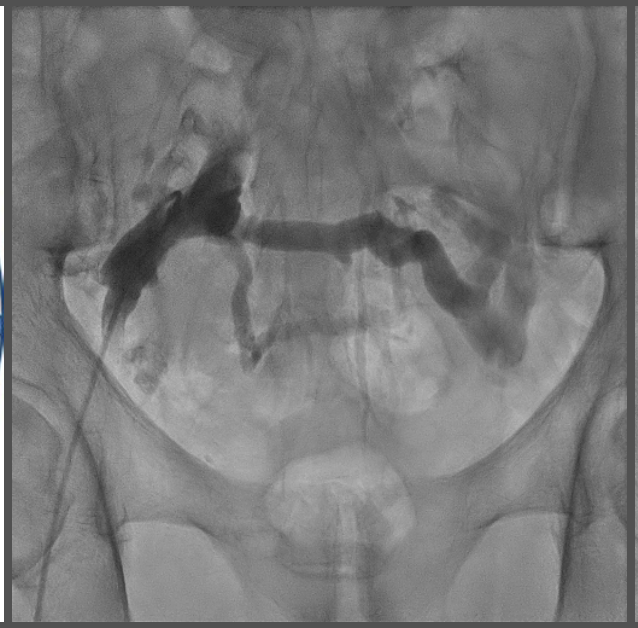
Melanoma del braccio di sinistra. Materiale inviato: radicalizzazione cute del braccio di sinistra e linfonodo sentinella ascellare di sinistra.
Diagnosi sezioni di cute con fibrosi cicatriziale dermica e emorragia ipodermica Snomed T-1736 Presenza di metastasi di melanoma in 1 su 2 linfonodi sentinella ascellari di sinistra esaminati. Diagnosi istologica eseguita su sezione originale EE. Reazione immunoistochimica positiva per S100 e HMB45 (focale)

APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

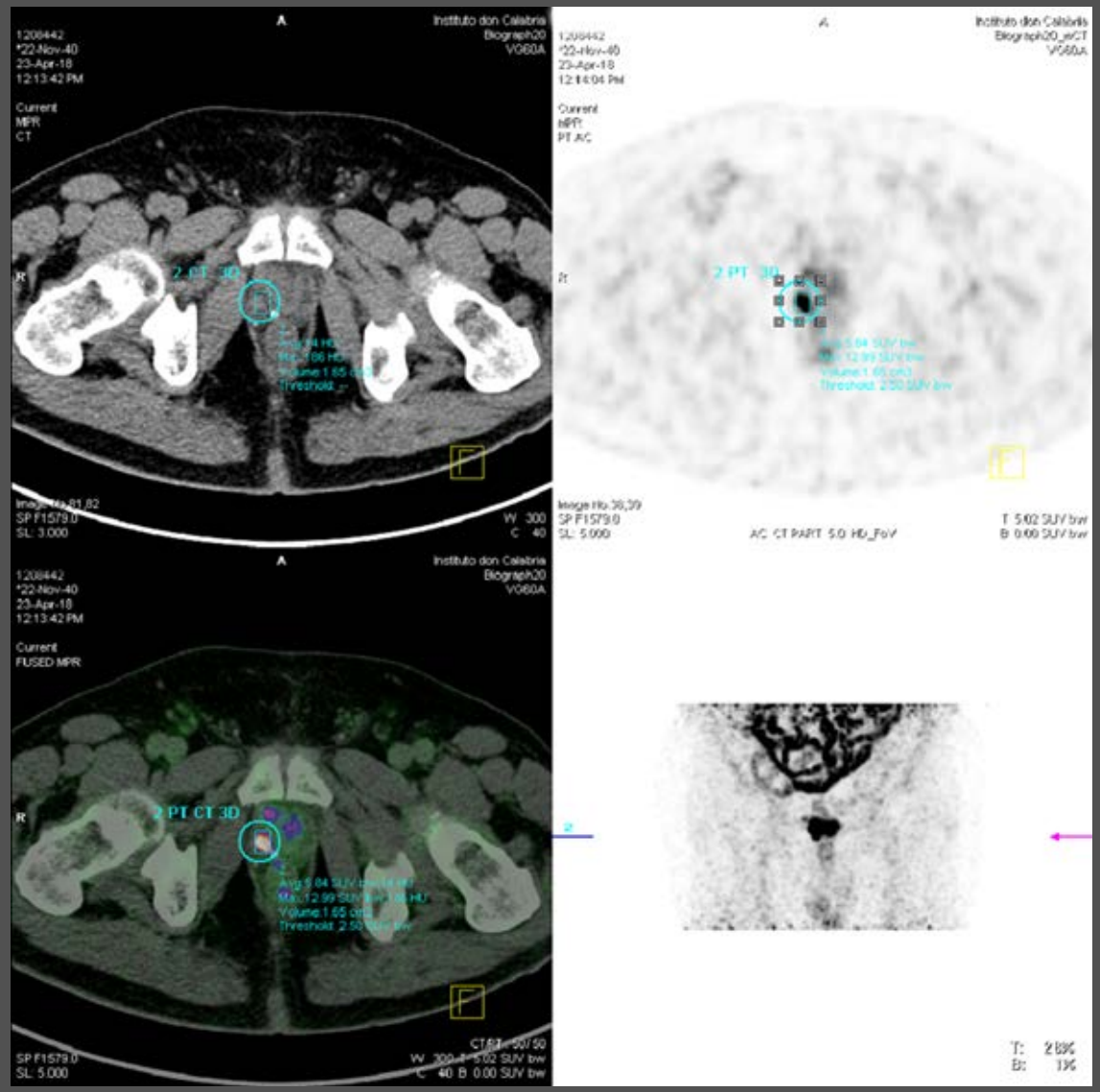
Uomo di 78 anni, operato di tumore della prostata da 10 anni, Gleason 3+3, recente aumento del PSA (4,5 ng/ml), PET Colina negativa, biopsia liquida selettiva positiva dalla vena ipogastrica destra per mutazione nel gene **PIK3CA** correlata alla resistenza agli antiandrogeni e alla progressione della malattia.







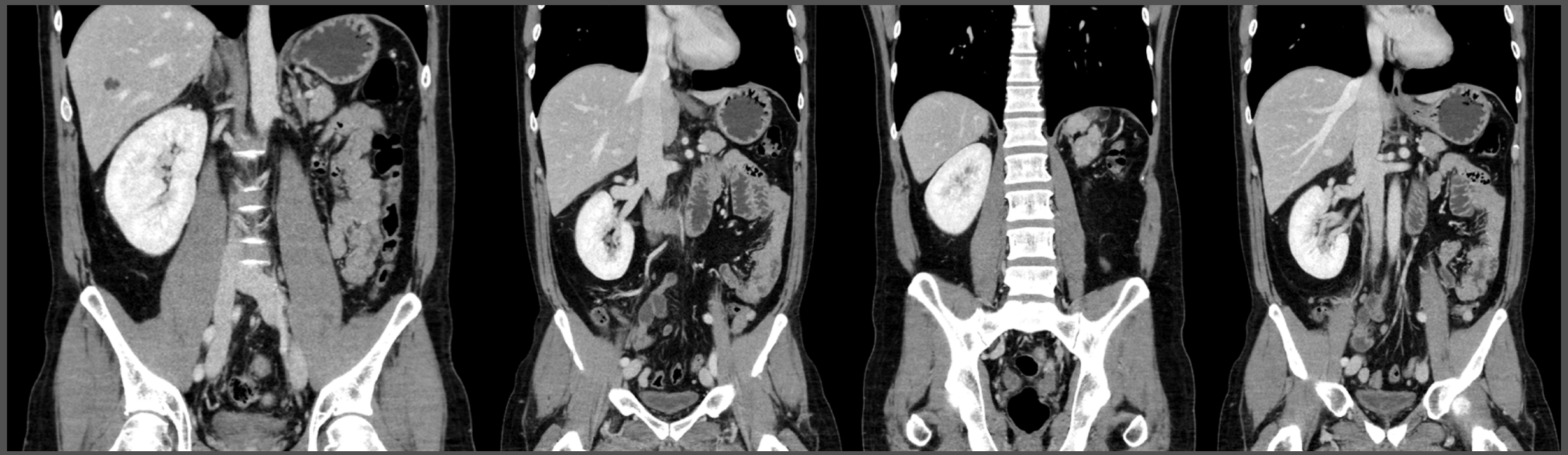
APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA



PET globale corporea PSMA, risonanza magnetica con mezzo di contrasto. Entrambe le indagini dimostrano la recidiva neoplastica

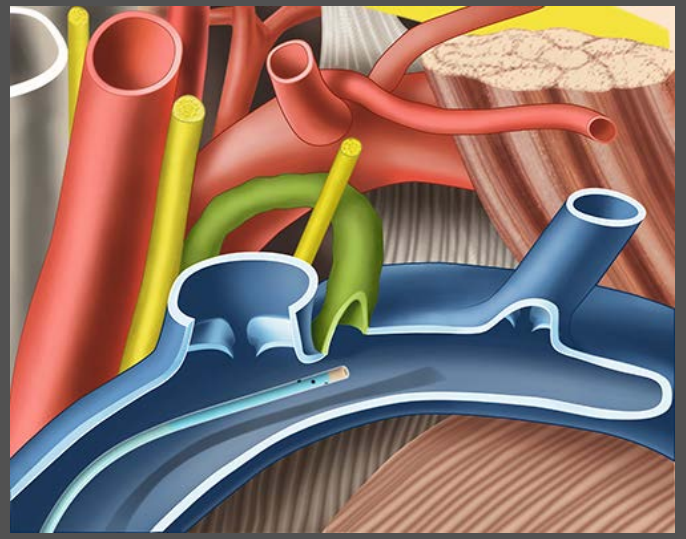
APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

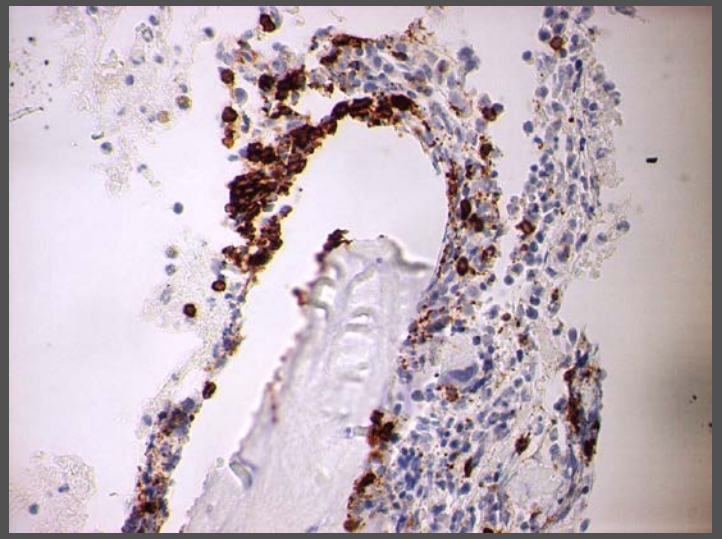
Uomo di 43 anni, microematuria, esiti di splenectomia e nefrectomia sinistra per trauma del traffico, riscontro di multiple masse addominali con diagnosi di splenosi ed evidenza di adenopatie con motivazione alla biopsia liquida.



APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

La biopsia liquida eseguita in varie sedi è risultata positiva all'angolo venoso di sinistra con evidenza della mutazione nel **gene BRAF (Val600Glu)** che è descritta nella hairy cell leukemia e potrebbe essere una driver mutation per questa patologia. E' possibile che questa mutazione renda il tumore sensibile alla terapia con inibitori di BRAF.

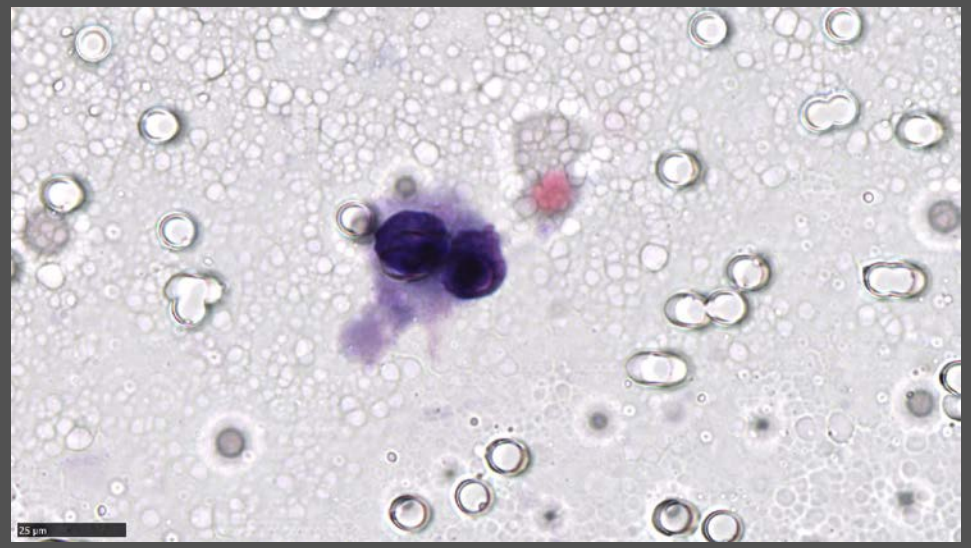




La biopsia osteomidollare per il quadro immunomorfologico è suggestiva per localizzazione midollare di patologia linfoproliferativa a fenotipo B cellulare.

APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

Uomo di 44 anni, sarcoma del gluteo a componente prevalentemente cistica con biopsia percutanea non significativa.
La biopsia liquida con prelievo dalla vena iliaca di sinistra oltre alle cellule tumorali circolanti dimostra una **mutazione nel gene in TP53** con possibile indicazione al trattamento doxorubicina/ifosfamide.



APPLICAZIONE DELLA BIOPSIA LIQUIDA IN ONCOLOGIA

Conclusioni: la biopsia liquida è un nuovo strumento per la diagnosi molecolare delle neoplasie complementare alla diagnosi istologica, promettente per il monitoraggio nel tempo e l'indicazione alle nuove terapie a bersaglio molecolare. Il limite attuale delle quantità minime di DNA tumorale circolante e la rarità delle cellule tumorali circolanti può essere superato con l'arricchimento del campione di sangue o con la tecnica del prelievo venoso selettivo.

FONDAZIONE FALCIANI

GRAZIE PER LA VOSTRA ATTENZIONE

FONDAZIONE
FALCIANI