



**NUOVI MARCATORI DI RECENTE INSERIMENTO NELLA
DIAGNOSTICA MOLECOLARE:
I PANNELLI PROGNOSTICI DEL TUMORE DELLA
MAMMELLA**

*Francesca Schillaci Referente, Claudia Veggiani, Sara Saponaro, Ida Rapa,
Roberta Patetta, Simona Osella Abate, Tiziana Venesio*

**Documento approvato dal Gruppo di Studio Patologia Molecolare Anno 2020 –
Revisione Anno 2024**

Coordinatrici: Susanna Cappia, Paola Francia di Celle, Tiziana Venesio

Introduzione

Il diffondersi dello screening per la diagnosi precoce del carcinoma al seno ha permesso di abbassare il tasso di mortalità per questa patologia e migliorare trattamento e percorsi di assistenza. Attualmente, circa l'80% delle pazienti con carcinoma al seno ha una sopravvivenza oltre i 10 anni dalla prima diagnosi. Nonostante il buon tasso di sopravvivenza, il decorso naturale del carcinoma al seno può essere eterogeneo, così come la capacità individuale di risposta alle terapie antitumorali. In questo tipo di tumore le metastasi a distanza rappresentano ancora un evento associato ad un elevatissimo tasso di mortalità. Tuttavia, esiste una relazione complessa tra l'insorgenza di una recidiva a distanza e il rischio di morte dovuto ad essa. Le metastasi distanti, insorte dopo cinque anni dall'intervento primario, sono spesso associate ad una prognosi migliore rispetto alle metastasi a insorgenza precoce. Le pazienti con linfonodi interessati dalla malattia tendono ad avere rischi di recidiva annuali più elevati rispetto alle pazienti con tumori linfonodo-negativi. Nei primi anni il rischio di recidiva è più alto nelle pazienti con tumori ER-negativi, ma da cinque a otto anni dopo la diagnosi, il loro rischio annuale di recidiva scende al di sotto del livello dei tumori ER-positivi. Inoltre, la recidiva del tumore al seno può verificarsi fino ad oltre 20 anni dopo la diagnosi iniziale, in particolare nelle pazienti con carcinoma HR-positivo.

La valutazione istopatologica del tessuto tumorale dopo l'intervento chirurgico fornisce una diagnosi definitiva per il carcinoma mammario precoce e informazioni sui fattori prognostici che potrebbero indicare la presenza di metastasi occulte. Fattori prognostici indipendenti sono la dimensione del tumore, lo stato linfonodale e il grado istologico. Inoltre, vengono valutati con metodica immunohistochimica (IHC) l'espressione dei recettori ormonali (recettori per estrogeni-ER e per progesterone-PR), lo stato di amplificazione del gene per il recettore 2 del fattore umano di crescita epiteliale (*HER2*) e l'espressione della relativa proteina. Oltre ad essere prognostici, questi fattori predicono le risposte alle terapie endocrina e mirata all'*HER2*. I marcatori di proliferazione, come il Ki67, forniscono ulteriori utili informazioni prognostiche.

La gestione del carcinoma mammario allo stadio iniziale si basa principalmente sul trattamento chirurgico locoregionale da solo o in combinazione con la radioterapia. Una gestione ottimale include anche il trattamento con terapia sistemica adiuvante delle metastasi occulte o subcliniche (cioè metastasi non rilevabili alla diagnosi) per prevenire le metastasi iniziali e il rischio di recidiva



a distanza dopo 5 anni. In generale, la terapia adiuvante viene consigliata se il beneficio di sopravvivenza a 10 anni è almeno del 3%.

Le decisioni terapeutiche sulla gestione della terapia adiuvante si basano su stime del rischio. Poiché con le attuali strategie di trattamento, circa il 30% delle donne con diagnosi di carcinoma mammario allo stadio iniziale svilupperà un tumore al seno metastatico, si è avuta una forte spinta all'uso della terapia sistemica adiuvante. Tuttavia, la probabilità di metastasi occulte al momento della diagnosi non è uguale in ogni paziente. Circa il 60-70% delle pazienti con carcinoma mammario in fase precoce sembra essere libero da metastasi subcliniche alla diagnosi e non sviluppa metastasi a distanza quando riceve il solo trattamento locoregionale. Pertanto, la profilazione del rischio è necessaria per decidere se una paziente dovrà fare o meno la chemioterapia adiuvante. Storicamente, la giovane età, la dimensione del tumore e lo stato linfonodale ascellare sono fattori prognostici importanti rispetto alla recidiva della malattia. Tuttavia, sembra esistere un sottogruppo di pazienti con piccoli tumori che sono ad alto rischio di recidiva a distanza. Allo stesso modo, le pazienti con un numero limitato di linfonodi positivi (fino a tre) possono rappresentare un sottogruppo di donne con malattia linfonodale a basso rischio di recidiva a distanza (simile a quello della malattia linfonodo-negativa). I tumori ER-positivi hanno una prognosi meno dolente, in quanto sono sensibili alla terapia ormonale. Invece, i cosiddetti tumori "triplo-negativi" (ER-, PR- e HER2-negativi) formano un sottogruppo con capacità metastatica precoce.

Oltre all'eterogeneità clinica, studi di espressione genica hanno dimostrato che il carcinoma al seno può essere caratterizzato da una elevata eterogeneità molecolare.

Sottotipi di carcinoma mammario che hanno una diversità molecolare "intrinseca" possono ora essere riconosciuti all'interno dello spettro dei tumori al seno. Questi sottotipi vanno da quelli con sopravvivenza favorevole a lungo termine (carcinoma mammario tipo Luminal A) a tumori con sopravvivenza a lungo termine significativamente peggiore (tumori HER2-positivi e tumori simili-basali tipo Luminal B e spesso triplo-negativi). È stato anche dimostrato che ciascun sottotipo è associato ad una risposta diversa al trattamento con terapia adiuvante. Attualmente, è diventata pratica di routine adeguare i regimi di trattamento al profilo molecolare di un tumore (stato ER, stato PR e stato HER2) considerando anche le caratteristiche clinico-patologiche (età, dimensioni



del tumore e grado del tumore).

L'antraciclina o i protocolli chemioterapici a base di taxani costituiscono, ad oggi, la terapia adiuvante sistemica standard. Inoltre, la HER2-targeted therapy con farmaci come il Trastuzumab può essere indicata per il carcinoma HER2-positivo. Tuttavia, questi trattamenti possono causare effetti indesiderati quali nausea, vomito, anoressia, diarrea, soppressione midollare, cistite emorragica, amenorrea e neurotossicità. Effetti tardivi, non molto frequenti, ma molto seri e potenzialmente mortali, sono la tossicità cardiaca ed ematologica.

La cardiotoxicità dell'antraciclina è ben conosciuta, in particolare a dosi più elevate, così come quella del Trastuzumab per il carcinoma mammario HER2-positivo. La cardiotoxicità tardiva si sviluppa in seguito ad un prolungato periodo asintomatico, con insufficienza cardiaca che si manifesta da un anno a decenni dopo la chemioterapia. Oggi, l'età più avanzata, lo scompenso ventricolare sinistro basso ed una storia di ipertensione, sono riconosciuti essere fattori di rischio di cardiotoxicità dovuta al trattamento con antracicline o Trastuzumab.

Il rischio di leucemia acuta secondaria ad un follow-up di 5-10 anni è del 1-2% per le antracicline, in particolare per regimi che contengono epirubicina. Il rischio è direttamente collegato alla dose. La qualità della vita delle pazienti che ricevono la chemioterapia adiuvante diminuirà a causa degli effetti collaterali della terapia stessa, sia durante che dopo il trattamento, se confrontata con quella di coloro che non fanno la chemioterapia. Tuttavia, il trattamento adiuvante può fornire benefici ulteriori rispetto alla sopravvivenza. Per valutare l'effetto complessivo di un intervento medico come la chemioterapia adiuvante o evitare la chemioterapia, è necessaria una misura dell'outcome che combini sopravvivenza e qualità della vita.

Test prognostici multigenici (TPM)

La scelta terapeutica relativa alle pazienti con tumore al seno è basata su variabili clinico-patologiche di natura prognostica, quali età, dimensioni del tumore, presenza di metastasi linfonodali e grado istologico, in aggiunta alla valutazione dei marcatori predittivi di risposta alla terapia, ovvero ER e PR per la terapia endocrina, e HER2 per la terapia a bersaglio. Questi fattori possono essere combinati all'interno di specifici algoritmi decisionali che supportano il clinico nella scelta delle diverse modalità di trattamento. Oltre a questi indicatori, possono essere proposti dei



test molecolari, i test prognostici multigenici (TPM), tipicamente basati su microarray, tecniche PCR, ibridazione o sequenziamento massivo parallelo del genoma – Next Generation Sequencing (NGS), in grado di analizzare l'espressione di un predeterminato gruppo di geni allo scopo di fornire un profilo genetico (o impronta genetica) specifico del tumore.

Il beneficio atteso dei TPM, utilizzati in associazione agli indicatori prognostici clinico-patologici, consiste nell'avere un'informazione aggiuntiva (tipicamente espressa tramite livelli di rischio o punteggi/score) in termini di esito clinico (sviluppo di metastasi a 10 anni). Il loro utilizzo permette una selezione ottimale delle pazienti e può evitare gli effetti tossici della chemioterapia adiuvante in coloro che non ne trarrebbero beneficio.

I TPM sono entrati in uso all'inizio degli anni 2000. I primi ad essere sviluppati sono stati MammaPrint® (Agendia, Inc.) e Oncotype DX® (Genomic Health, Inc.). Successivamente sono stati introdotti test di seconda generazione quali EndoPredict® (Myriad Genetics, Inc.) e Prosigna® (NanoString Technologies, Inc.). La differenza tra le due generazioni di test dipende principalmente dal modo in cui i marcatori sono stati selezionati. Per la prima generazione di test, questa selezione è stata fatta empiricamente, confrontando i dati di espressione genica delle pazienti che hanno o non hanno avuto recidive. Questo ha messo in risalto il ruolo predittivo di ER e dei marcatori di proliferazione. Dal momento che ER ha un'impronta trascrizionale molto ampia e la proliferazione cellulare richiede l'espressione coordinata di centinaia di geni, è possibile ottenere diversi modelli prognostici a partire dallo stesso insieme di dati. I test di seconda generazione sono stati sviluppati sulla base di questo risultato. Attualmente sul mercato coesistono le due generazioni di test.

Di seguito vengono descritti i tre test molecolari disponibili presso alcuni laboratori di Patologia Molecolare facenti capo alla Rete Oncologica del Piemonte-Valle d'Aosta.

1. Oncotype DX® (Test di Prima Generazione)

Oncotype DX® è un test molecolare che utilizza la tecnologia qRT-PCR (quantitative reverse transcription polymerase chain reaction) per misurare il livello di espressione di 21 geni su un campione costituito da materiale biotico o tessuto mammario canceroso acquisito chirurgicamente e preparato secondo tecnica FFPE. L'analisi di questi 21 geni fornisce un risultato in due componenti: la probabilità di recidiva del tumore alla mammella a 10 anni (componente



prognostica) e la probabilità di risposta alla chemioterapia adiuvante (componente predittiva). Il risultato è espresso in termini numerici attraverso un indice denominato Recurrence Score (valori da 0 a 100). Fin dalla sua commercializzazione in Italia nel 2010, Oncotype DX® è stato offerto solo in service centralizzato: l'ospedale riceve il kit per la sola preparazione e spedizione del campione FFPE al laboratorio del produttore (in California, USA). Dalla sua introduzione, Oncotype DX® non è stato oggetto di evoluzioni tecnologiche. Come risultato dell'analisi, Oncotype DX® fornisce un valore numerico di Recurrence Score che si correla in modo continuo alla specifica probabilità di recidiva a distanza, per una paziente, nei 10 anni successivi, con un intervallo di confidenza del 95%. La componente predittiva di Oncotype DX® è legata alla capacità di prevedere il beneficio della chemioterapia in pazienti con carcinoma mammario in stadio precoce HER2-, HR+, senza coinvolgimento linfonodale: circa l'80% di questa popolazione presenta Recurrence Score 0-25 e può evitare la chemioterapia mentre circa il 20% della popolazione ha Recurrence Score 26-100 e trae un sostanziale beneficio dal trattamento chemio-endocrino.

- **Caratteristiche tecniche del test**

Service/kit: servizio di test centralizzato

Scopo del test: rischio di recidiva (valore prognostico) a 9 anni in pazienti in trattamento con la sola terapia endocrina beneficio della chemioterapia (valore predittivo)

Numero di geni analizzati: 21 geni (16 oncogeni e 15 geni di riferimento)

Tecnica analitica: qRT-PCR

Campione di tessuto richiesto: tessuto tumorale fissato in formalina e incluso in paraffina (FFPE)

Caratteristiche della popolazione a cui in test è preposto: pazienti affetti da carcinoma mammario in fase iniziale, HR+, HER2- senza coinvolgimento linfonodale (N-) o con un massimo di tre linfonodi coinvolti (N1)

Risultato del test: valore continuo; recurrence score

Classificazione del rischio di recidiva: intervalli di soglie di rischio diversi a seconda della presenza o meno delle metastasi linfonodali e dell'età della paziente

Tempi per avere il risultato: 7-10 giorni lavorativi



Produttore/distributore: Genomic Health Inc; Genomic Health Italia s.r.l

Marchio CE: non necessario (nessuno dei prodotti utilizzati per il test è disponibile sul mercato europeo quindi la marcatura CE non è richiesta. Essendo un service e non un kit, è necessario solo l'accreditamento del laboratorio secondo normative ISO 15189:2012 Laboratori medici - requisiti riguardanti la qualità e la competenza. Il laboratorio Genomic Health, Inc. è certificato ISO 15189:2012 dall'organismo A2LA. Accredia riconosce questa certificazione secondo l'accordo di mutuo riconoscimento di ILAC la conferenza internazionale degli organismi certificatori degli accreditamenti dei laboratori)

Approvazione FDA: non necessaria (e' necessario solo l'accreditamento del laboratorio secondo la normativa Clinical Laboratory Improvement Amendments -CLIA)

Registrazione RDM: non necessaria

Costo : costo approssimativo €3.180

- **Studi clinici**

Oncotype DX® è stato utilizzato nello studio clinico TAILORx che mirava ad individuare la migliore terapia individuale per le donne che avevano un tumore alla mammella in stadio precoce con linfonodi negativi, HR positivi, HER2 negativo. Lo studio ha coinvolto 10.273 pazienti di cui 1620 pazienti a basso rischio assegnate a sola terapia endocrina, e 1942 pazienti ad alto rischio assegnate a chemioterapia più terapia endocrina. Le rimanenti 6711 donne con un punteggio di recidiva a rischio intermedio, sono state randomizzate alla terapia endocrina da sola o alla terapia ormonale con chemioterapia adiuvante. Il follow up è durato 9 anni. I risultati hanno mostrato nelle pazienti a rischio intermedio una non inferiorità della terapia endocrina da sola rispetto alla terapia chemio-endocrina adiuvante nell'analisi dell'outcome primario. A 9 anni di follow up, i due gruppi di trattamento avevano tassi simili di sopravvivenza libera da malattia invasiva (83,3% nel gruppo trattato con terapia endocrina da sola e 84,3% nel gruppo trattato con terapia chemio-endocrina), assenza di recidiva a distanza (94,5% e 95,0 %) o di recidiva a distanza o loco- regionale (92,2% e 92,9%) e di sopravvivenza globale (93,9% e 93,8%). Gli autori hanno concluso che il test su 21 geni può identificare fino all'85% delle donne con tumore del seno in fase precoce in cui è possibile evitare la chemioterapia, specialmente nelle donne con fascia di età superiore a 50 aa e con un



punteggio di recidiva uguale o inferiore a 25.

2) EndoPredict® (Test di Seconda Generazione)

EndoPredict® è un test molecolare rivolto a pazienti che hanno sviluppato un carcinoma mammario in stadio iniziale, ER+ e HER2-, il test molecolare si basa su tecnologia qRT-PCR (quantitative reverse transcription polymerase chain reaction) che permette di misurare il livello di espressione di 12 geni su un campione costituito da materiale biotico o tessuto mammario canceroso acquisito chirurgicamente e preparato secondo tecnica FFPE.

L'analisi ottenuta dai 12 geni, suddivisi in 8 geni target e 4 geni di controllo, fornisce un risultato che deve essere combinato con la dimensione tumorale e con lo stato patologico linfonodale; l'insieme di questi tre parametri dà origine a un Epclin Score, ossia un punteggio di rischio, suddiviso in alto rischio e basso rischio di sviluppare metastasi a distanza entro 10 anni dalla diagnosi.

Le informazioni principali del test molecolare sono principalmente due e vengono espresse in %: la prima è la pianificazione del trattamento iniziale, in quanto vengono evidenziate sia la probabilità di recidive a distanza tra 0 e 10 anni per pazienti trattate con 5 anni di sola terapia endocrina, sia il beneficio assoluto della chemioterapia a 10 anni, la seconda informazione è rappresentata dalla pianificazione del trattamento a lungo termine, in quanto viene data una % di rischio di sviluppare recidive a distanza tardive tra i 5 e 15 anni dalla diagnosi iniziale per pazienti con 5 anni di sola terapia endocrina adiuvante.

- **Caratteristiche tecniche del test**

Produttore/distributore: Myriad International

Marchio CE: EndoPredict® è certificato CE-IVD in tutto il suo flusso di lavoro, dall'estrazione dell'mRNA al report finale

Service/kit: servizio di test centralizzato oppure può essere eseguito in laboratorio da personale debitamente formato

Scopo del test: valore prognostico: rischio di sviluppare recidiva a 10 anni e rischio di sviluppare recidiva a lungo termine (a 15 anni) dalla diagnosi, valore predittivo: beneficio della chemioterapia



Numero di geni analizzati: 12 geni (8 geni target e 4 geni di riferimento)

Tecnica analitica: q RT-PCR

Campione di tessuto richiesto: tessuto tumorale fissato in formalina e incluso in paraffina (FFPE)

Caratteristiche della popolazione a cui in test è preposto: pazienti affetti da carcinoma mammario in fase iniziale, HR+, HER2-, con un massimo di tre linfonodi coinvolti (N1)

Risultato del test: basso rischio di sviluppare recidiva e alto rischio di sviluppare recidiva

Classificazione del rischio di recidiva: il rischio di recidiva è classificato considerando il risultato molecolare ottenuto dall'espressione dei 12 geni correlandolo alla dimensione tumorale e al numero di linfonodi patologici coinvolti.

Tempi per avere il risultato: entro 7-10 giorni lavorativi

Costo approssimativo del test : € 1800

- **Studi clinici**

Uno studio pubblicato su JNCI del 2016, su 928 pazienti, confrontò le informazioni prognostiche fornite dal Recurrence Score (Oncotype®) con quelle fornite dall'EpClin (Endopredict®) per il rischio di sviluppare recidive a distanza a 10 anni. Il metodo utilizzato fu il rapporto di verosimiglianza χ^2 e le analisi di sopravvivenza di Kaplan Meier. La conclusione dello studio fu che EpClin fornisce più informazioni prognostiche rispetto a Recurrence Score.

Un recente studio prospettico traslazionale pubblicato su European Journal of Cancer del 2020, ha valutato la capacità di EndoPredict® di prevedere la risposta alla chemioterapia neoadiuvante (NaCT) o terapia endocrina neoadiuvante (NET) del precedente studio ABCSG-34. La conclusione di questo studio ha dimostrato come i tumori con uno score molecolare basso abbiano una scarsa probabilità di beneficiare di un trattamento con chemioterapia neoadiuvante, al contrario uno score molecolare alto predice una resistenza al trattamento con terapia endocrina neoadiuvante.

3) Prosigna/PAM50® (Test di Seconda Generazione)

Prosigna® è un test di espressione genica di seconda generazione che fu sviluppato in donne in pre-menopausa e post-menopausa non trattate con chemioterapia adiuvante, comprendente l'analisi di un pannello di 50 geni e 8 controlli. Prosigna/PAM50® è stato approvato dalla FDA ad uso



prognostico per le pazienti post-menopausa affette da carcinoma mammario ER+/PR+ in stadio iniziale (I-III) nel 2014. L'indice di recidiva fornito da questo test viene ottenuto dalla correlazione tra il profilo di espressione dei 50 geni analizzati, dalla proliferazione e dalle dimensioni del tumore. Nelle pazienti senza interessamento linfonodale l'indice di recidiva a 10 anni viene classificato come basso (<5%), intermedio (ca. 10%), e alto (>15%) mentre nelle pazienti con linfonodi positivi come basso (ca. 5%) e alto (ca 25%). Il test è in grado di fornire la classificazione molecolare intrinseca e, includendo le dimensioni e lo stato nodale del tumore, ha un forte valore prognostico,

- **Caratteristiche tecniche del test**

Produttore/distributore: Prosigna Breast Cancer Prognostic Gene Signature Assay; NanoString Technologies, Seattle, WA International

Marchio CE: Prosigna/PAM50® è certificato CE-IVD in tutto il suo flusso di lavoro, dall'estrazione dell'mRNA al report finale

Service/kit: servizio di test centralizzato oppure può essere eseguito in laboratorio da personale debitamente formato

Scopo del test: 1) valore prognostico: fornisce un rischio di recidiva (ROR) che tiene in considerazione il profilo molecolare e le caratteristiche cliniche della paziente, quali le dimensioni del tumore e l'indice di proliferazione; 2) beneficio del trattamento chemioterapico.

Numero di geni analizzati: 50 geni (50 geni target e 8 geni di controllo)

Tecnica analitica: NanoString nCounter technology RT-PCR

Campione di tessuto richiesto: tessuto tumorale fissato in formalina e incluso in paraffina (FFPE)

Caratteristiche della popolazione a cui in test è preposto: pazienti affette da carcinoma della mammella ER+/PG+ , HER2-in stadio I-III, linfonodi +/-

Risultato del test: fornisce un rischio di recidiva (ROR) e la classificazione molecolare intrinseca

Classificazione del rischio di recidiva: il rischio di recidiva è classificato considerando il risultato molecolare ottenuto dall'espressione dei 50 geni correlandolo alla dimensione tumorale, allo stato proliferato e al numero di linfonodi patologici eventualmente coinvolti.



Tempi per avere il risultato: entro 7-10 giorni lavorativi

Costo del test : €2000

- **Studi clinici**

Gli studi ABCG8 e ATAC, basati su casistiche retrospettive di pazienti ER+, linfonodo negative trattate con terapia ormonale, hanno fornito delle evidenze sull'uso prognostico di Prosigna/PAM50® dimostrando che lo score ROR fornito dal test aggiungeva informazioni con significato prognostico oltre ai parametri standard includenti età, grado e dimensione del tumore, e terapia adiuvanti. Nello studio di Dowsett e colleghi nel quale si comparavano il Prosigna/PAM50® con Oncotype DX® per gli stessi campioni FFPE di pazienti ER +, linfonodi negative, trattate con terapia endocrina, veniva dimostrato che Prosigna/PAM50® era in grado di aggiungere più informazioni rispetto Oncotype DX® poiché più pazienti erano catalogate ad alto rischio e più poche a rischio intermedio. Sebbene il valore prognostico di Prosigna/PAM50® sia stato ampiamente dimostrato, non ci sono ancora dati conclusivi rispetto alla sua validità predittivo a causa di una mancanza di dati prospettici.

Linee guida e criticità dei TPM

Alcune linee guida hanno inserito delle raccomandazioni per l'utilizzo dei pannelli prognostici nel tumore della mammella. Le **linee guida ASCO** (American Society of Clinical Oncology) raccomandano, sulla base del trial MINDACT, l'uso di Mammaprint nelle donne con tumore alla mammella HR+, HER2-, linfonodi negativi considerate ad alto rischio clinico per guidare la decisione sulla chemioterapia. Nelle pazienti, invece, con 1-3 linfonodi positivi e ad alto rischio clinico si raccomanda l'uso del test anche se esse debbono essere informate che il beneficio della chemioterapia non può essere escluso. Gli autori non ne raccomandano l'uso nelle donne con tumori HR+/HER2- a basso rischio clinico, nei tumori HER2+, o tripli negativi, o con linfonodi positivi. Le **linee guida AIOM** (Associazione Italiana di Oncologia Medica) del 2018 partendo dalle evidenze disponibili sui tre trial (TAILORx, RxPonder e MINDACT) individuano la classe in cui i test multigenici possono essere utili se disponibili, ossia il carcinoma mammario infiltrante non metastatico operato ER e/o PR positivo, HER2 negativo, in cui comunque i risultati non devono



essere considerati come il solo fattore da utilizzare nella decisione di assegnazione della chemioterapia. Le **linee guida del NICE** pubblicate il 19 dicembre 2018) raccomandano l'uso di EndoPredict® (EPclin score), Oncotype DX® Breast Recurrence Score e Prosigna® per guidare la decisione di chemioterapia adiuvante in tumore alla mammella in stadio precoce con ER+, HER-, LN- (incluse le micrometastasi) se soddisfano alcune condizioni prestabilite e le donne hanno un rischio intermedio di recidiva a distanza usando uno strumento validato come PREDICT o l'indice prognostico di Nottingham, se le informazioni fornite dal test coadiuvino la scelta delle pazienti secondo le loro preferenze e se i fornitori rispettano gli accordi commerciali e di registrazione e condivisione dei dati concordati con il NICE. Il **Consiglio Superiore di Sanità del Ministro della Salute** ha prodotto nel 2017 un documento “La Prescrizione dei Test Molecolari Multigenici Prognostici di Tumori (TMMP) della Mammella”, che specifica che in Italia i TMMP non sono al momento inseriti tra i Livelli Essenziali di Assistenza (LEA) e quindi non sono rimborsabili; sono utilizzati senza specifiche regole istituzionali, ma sulla base delle esigenze cliniche su singoli casi e della possibilità delle pazienti di provvedere direttamente a coprirne il costo. In tale documento sono pertanto prodotte le seguenti raccomandazioni: 1) Il Test Molecolare Multigenico Prognostico (TMMP) dovrebbe essere applicato per definire le pazienti con carcinoma della mammella non candidabili alla chemioterapia adiuvante, in linea con le Raccomandazioni internazionali. 2) La prescrizione del TMMP deve essere unica per il tumore mammario operato. I TMMP maggiormente utilizzati in Italia e validati dal punto di vista analitico e clinico (indagine a fine prognostico per definire la categoria di rischio di recidiva) sono: Endopredict®, Mammaprint®, Oncotype DX®, Prosigna®. 3) Le Società Scientifiche devono definire la popolazione delle pazienti per le quali è utile applicare il TMMP e prevedere uno specifico consenso informato per le pazienti che rientrano nella popolazione eleggibile al TMMP. 4) Sono escluse dall'utilizzo del TMMP le pazienti: con tumore della mammella triplo negativo (ER-/PR-/HER2-) e i tumori HER2+ che per motivi clinici o anagrafici non possono ricevere la chemioterapia, portatrici di tumore per il quale il trattamento è certo (ormonoterapia vs ormonoterapia + chemioterapia) sulla base dei parametri prognostici standard. 6) Centri accreditati per l'esecuzione dei TMMP devono offrire la copertura della popolazione eleggibile al test molecolare e garantire tempi di esecuzione e refertazione (*turn around time*) in grado di assicurare l'inizio della terapia secondo le raccomandazioni oncologiche.

7) Il costo del test deve prevedere anche i controlli di qualità (intra- e inter-laboratorio per lo stesso TMMP). 8) Deve essere garantito un livello di qualità ottimale della diagnostica anatomico-patologica sui tumori della mammella e dei risultati dei test immunofenotipici per ER, PR, HER2, Ki67. 9) Devono essere seguite tutte le procedure che garantiscono un'ottimale conservazione dei campioni chirurgici dei carcinomi della mammella su cui eseguire la diagnostica, secondo le indicazioni delle “Linee guida tracciabilità, raccolta, trasporto, conservazione e archiviazione di cellule e tessuti per indagini diagnostiche di Anatomia patologica” elaborate dal Consiglio Superiore di Sanità nel 2015 e pubblicate sul sito web del Ministero della Salute.

Bibliografia

- Baehner Frederick L. The analytical validation of the Oncotype DX Recurrence Score assay. *Ecancer medical science* 2016, 10:675.
- Bartlett JM, Bayani J, Marshall A, et al. Comparing Breast Cancer Multiparameter Tests in the OPTIMA Prelim Trial: No Test Is More Equal Than the Others. *J Natl Cancer Inst.* 2016;108(9):djw050. Published 2016 Apr 27. doi:10.1093/jnci/djw050.
- Buus R, Sestak I, Kronenwett R, et al., Comparison of EndoPredict and EPclin With Oncotype DX Recurrence Score for Prediction of Risk of Distant Recurrence After Endocrine Therapy. *J Natl Cancer Inst.* 2016;108(11).
- Cardoso F, van't Veer LJ, Bogaerts J, Slaets L, Viale G, Delaloge S, Pierga JY, Brain E, Causeret S, DeLorenzi M, Glas AM, Golfopoulos V, Goulioti T, Knox S, Matos E, Meulemans B, Neijenhuis PA, Nitz U, Passalacqua R, Ravdin P, Rubio IT, Saghatchian M, Smilde TJ, Sotiriou C, Stork L, Straehle C, Thomas G, Thompson AM, van der Hoeven JM, Vuylsteke P, Bernardis R, Tryfonidis K, Rutgers E, Piccart M; MINDACT Investigators. 70-1209 Gene Signature as an Aid to Treatment Decisions in Early-Stage Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2016 Aug 12;375(8):717-29. doi: 10.1056/NEJMoa1602253.
- Dowsett M, Cuzick J, Wale C, Forbes J, Mallon EA, Salter J, et al. Prediction of risk of distant recurrence using the 21-gene recurrence score in node-negative and node-positive

postmenopausal patients with breast cancer treated with anastrozole or tamoxifen: a TransATAC study. *J Clin Oncol.* (2010) 28:1829–34.

- Dowsett M, Sestak I, Lopez-Knowles E, Sidhu K, Dunbier AK, Cowens JW, et al. Comparison of PAM50 risk of recurrence score with oncotype DX and IHC4 for predicting risk of distant recurrence after endocrine therapy. *J Clin Oncol.* (2013) 31:2783–90. doi: 10.1200/JCO.2012.46.1558.
- Dubsky P, Filipits M, Jakesz R, et al., EndoPredict improves the prognostic classification derived from common clinical guidelines in ER-positive, HER2-negative early breast cancer. *Ann Oncol.* 2013;24(3):640-7.
- Dubsky PC, Singer CF, et al., The EndoPredict score predicts response to neoadjuvant chemotherapy and neoendocrine therapy in hormone receptor-positive, human epidermal growth factor 2-negative breast cancer patients from the ABCSG-34 trial. *European Journal of Cancer* 2020;134.
- Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet.* 2005 May 14-20;365(9472):1687-717.
- EUNETHTA report 2018. Added value of using the gene expression signature test MammaPrint® for adjuvant chemotherapy decision-making in early breast cancer Project ID: OTCA04.
- Filipits M, Rudas M, Jakesz R et al., A new molecular predictor of distant recurrence in ER-positive, 22 HER2-negative breast cancer adds independent information to conventional clinical risk factors. *Clin Cancer Res.* 2011;17(18):6012-20).
- Gnant M, Filipits M, Greil R, Stoeger H, Rudas M, Bago-Horvath Z, 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.

- Győrffy B, Hatzis C, Sanft T, Hofstatter E, Aktas B, Pusztai L. Multigene prognostic tests in breast cancer: past, present, future. *Breast Cancer Res.* 2015; 17(1): 11.
- Harman S, Tappenden P, Cooper K, Stevens J, Bessey A, Rafia R, Ward S, Wong R, Stein R, Brown J. Tumour profiling tests to guide adjuvant chemotherapy decisions in people with breast cancer (update of DG10). *Technology Assessment Report: Final report to the National Institute for Health and Care Excellence*, 2017.
- Khoury MJ. Genetics and genomics in practice: the continuum from genetic disease to genetic information in health and disease. *Genet Med* 2003;5:261–268.
- Krop I, Ismaila N, Andre F, et al. Use of biomarkers to guide decisions on adjuvant systemic therapy for women with early-stage invasive breast cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline focused update. *J Clin Oncol* 2017; 35: 2838-47.
- Martínez-Férez IM, Viguera-Guerra I, Rosario-Lozano MP y Benot-López S. Plataformas genómicas de carácter pronóstico-predictivo en el cáncer de mama: actualización de la evidencia. Revisión Sistemática. Sevilla: Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía. Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías Sanitarias y Prestaciones del SNS; 2018.
- NICE MIB27. Medtech innovation briefing. The Prosigna gene expression profiling assay for assessing long-term risk of breast cancer recurrence. March 2015. nice.org.uk/guidance/mib27
- NICE MIB44. Medtech innovation briefing. EndoPredict gene expression profiling assay for assessing risk of breast cancer recurrence. November 2015. nice.org.uk/guidance/mib44.
- Paone S, Amicosante A.M.V, Di Maria E, Gillespie F, Lo Scalzo A, Migliore A, Pronzato P, Sapino A, Jefferson T. Test prognostici multigenici (TPM) per guidare la decisione sulla chemioterapia adiuvante nel trattamento del tumore al seno in stadio precoce. Agenas. Roma, 2019.



- Parker JS, Mullins M, Cheang MC, Leung S, Voduc D, Vickery T, et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *J Clin Oncol*. 2009;27:1160–7.
- Position Paper: “Test di analisi dei profili di espressione genica nel carcinoma della mammella” A cura del Gruppo di Lavoro AIOM – SIAPEC-IAP – SIBIOC – SIF (Giugno 2020).
- Reis-Filho JS, Pusztai L. Gene expression profiling in breast cancer: classification, prognostication, and prediction. *Lancet*. 2011 Nov 19;378(9805):1812-23.
- San Miguel L, Dubois C, GerkenS, Harrison J, Hulstaert F. MammaPrint® test for personalised management of adjuvant chemotherapy decisions in early breast cancer. Health Technology Assessment (HTA) Brussels: Belgian Health Care Knowledge Centre (KCE). 2018. KCE Reports 298. D/2018/10.273/09.
- Sapino A, Roepman P, Linn SC, Snel MH, Delahaye LJ, van den Akker J, Glas AM, Simon IM, Barth N, de Snoo FA, van 't Veer LJ, Molinaro L, Berns EM, Wesseling J, Riley LB, Anderson D, Nguyen B, Cox CE. MammaPrint molecular diagnostics on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. *J Mol Diagn*. 2014 Mar;16(2):190-7.
- Senkus E, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rutgers E, Zackrisson S, Cardoso F; ESMO Guidelines Committee. Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2015 Sep;26 Suppl 5:v8-30.
- Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, Pritchard KI, Albain KS, Hayes DF, Geyer CE Jr, Dees EC, Goetz MP, Olson JA Jr, Lively T, Badve SS, Saphner TJ, Wagner LI, Whelan TJ, Ellis MJ, Paik S, Wood WC, Ravdin PM, Keane MM, Gomez Moreno HL, Reddy PS, Goggins TF, Mayer IA, Brufsky AM, Toppmeyer DL, Kaklamani VG, Berenberg JL, Abrams J, Sledge GW Jr. Adjuvant Chemotherapy Guided by a 21-Gene Expression Assay in Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2018 Jul 12;379(2):111-121. doi: 10.1056/NEJMoa1804710. Epub 2018 Jun 3.
- Terri P. Mc Veigh, Michael J. Kerin. Clinical use of the Oncotype DX genomic test to guide treatment decisions for patients with invasive breast cancer. *Bresat Cancer Targets and Rherapy* 2017;9 363-400.



- Vieira Andre Filipe, Scmitt Fernando. An update on Breast Cancer Multigene Prognostic Tests- Emergent clinical biomarkers. *Frontiers in Medicine* Sep 2018 Volume 5 Article 248.
- Zhen Rong Siow, Richard H De Boer, Geoffrey J Lindeman, G Bruce Mann. Spotlight on the utility of the Oncogene DX breast cancer assay. *International Journal of Women's Health* 2018:10 89-100.