



Psdta Tumori delle vie biliari

Allegato 4 : Principali indicazioni sulla diagnosi cito/istologica e molecolare nelle neoplasie delle vie biliari

**Gruppo di Studio Tumori delle Vie Biliari
Rete Oncologica Piemonte e Valle d'Aosta**

Anno di pubblicazione 2022

Anno di Revisione 2025

Indicazioni per la profilazione molecolare (NGS) dei colangiocarcinomi

Con il decreto 6 marzo 2023 “Potenziamento dei test di Next-Generation Sequencing per la profilazione genomica del colangiocarcinoma”. (23A02089) (GU Serie Generale n.80 del 04-04-2023), in considerazione dei livelli di evidenza clinica dei target molecolari e delle raccomandazioni della European Society of Medical Oncology (Mosele MF et al. 2024, ESMO Annal of Oncology) per l'impiego di tecnologia di Next Generation Sequencing (NGS) nei pazienti con tumori avanzati, viene individuato il colangiocarcinoma come una delle neoplasie per la quale ci si può avvalere di test NGS per analisi multigeniche con ricadute terapeutiche.

In questa neoplasia l'utilizzo della tecnologia NGS consente:

- 1) l'ottimizzazione dell'impiego del campione biologico disponibile
- 2) l'individuazione di alterazioni molecolari “actionable”, che potrebbero anche non essere rilevate con altre metodiche di analisi e per le quali sono disponibili farmaci attivi rimborsati dal SSN

La prescrizione di un test NGS è indicata nei pazienti con colangiocarcinoma non operabile o recidivato suscettibile di un trattamento antitumorale.

I test NGS utilizzati devono identificare almeno le seguenti alterazioni molecolari per le quali sono disponibili farmaci:FGFR2 riarrangiamenti, IDH1 mutazioni, NTRK riarrangiamenti, BRAF V600 mutazioni. Ulteriori geni con alterazioni molecolari attivabili classificati secondo la ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets in cancer (ESCAT) come 1 e 2, e per i quali è disponibile l'accesso a farmaci, come amplificazione/iperespressione di HER2, dovranno essere inclusi.

Deve inoltre essere valutata, come marcatore agnostico, l'instabilità dei microsatelliti MMR/MSI

La prescrizione del test NGS viene effettuata dal centro di oncologia, pubblico o privato accreditato, che ha in carico il paziente, in seguito a valutazione del gruppo multidisciplinare di patologia e nel contesto del percorso diagnostico terapeutico assistenziale (PDTA) ove esistente.

Sono stati individuati i centri di oncologia e i laboratori di anatomia patologica/patologia molecolare che eseguiranno rispettivamente la prescrizione ed i test NGS.

I laboratori di anatomia patologica/patologia molecolare che potranno eseguire i test NGS sono identificati tra quelli con esperienza consolidata, superiore ai due anni, di profilazione genomica mediante NGS su campioni di tessuto e biopsia liquida, considerando anche il volume di popolazione afferente e le tecnologie/risorse professionali disponibili.

Il referto dovrà essere disponibile nei termini di quattordici giorni lavorativi dalla data di accettazione da parte del centro esecutore. All'anatomo-patologo compete la valutazione della idoneità del campione tessutale (tumore primitivo o metastasi) sul quale dovrà essere eseguito il test, nonché della dissezione del tessuto necessaria per ottimizzare i risultati del test.

Nei casi in cui non sia possibile disporre di un campione tessutale, il test potrà essere eseguito su apposito prelievo ematico (tubo Streck) per biopsia liquida(ctDNA). La biopsia liquida può avere dei limiti di sensibilità legati alla quantità di DNA tumorale circolante (ctDNA) e, pertanto, va limitata ai casi in cui non vi sia tessuto idoneo disponibile. Inoltre, ad oggi non esistono soluzioni «in-house» di testing su ctDNA che permettano di valutare le fusioni di FGFR2. Il test potrebbe essere eseguito in esternalizzazione (FoundationOne liquid CDx, Guardant360 CDx) ma la concordanza fra tessuto e biopsia rimane bassa per i target a RNA (Berchuck et al.2022, su 1671 pz, concordanza biopsia/ctDNA 18% sulle fusioni FGFR2)Per tanto, l'analisi su tessuto rimane il gold-standard e, in caso di fallimento del test NGS, è consigliata la re-biopsia al fine di poter valutare tutti i marcatori clinicamente rilevanti.

Nel caso in cui, il materiale a disposizione non sia qualitativamente adeguato per essere analizzato in NGS (es. eccessiva frammentazione del DNA, degradazione del RNA) è consigliato l'utilizzo di metodiche ortogonali per la valutazione delle fusioni di FGFR2 (es. FISH) ed eventualmente anche per la valutazione del codone 600 di BRAF (es. qPCR).

Per quanto concerne i pannelli genici, sono disponibili test commerciali riconosciuti per evidenza e appropriatezza, largamente utilizzati per molte patologie oncologiche associate ad alterazioni geniche azionabili. E' necessario l'utilizzo di test marcati CE-IVD o CE-IVDR o, in alternativa, l'effettuazione di procedure di validazione interna del test per finalità di diagnosi clinica da parte del laboratorio utilizzatore

L'utilizzo dei risultati del test NGS per tutte le alterazioni molecolari già identificate come suscettibili a terapie con farmaci a bersaglio molecolare disponibili e' garantito dal centro di oncologia che ha in carico il paziente per l'indicazione, l'esecuzione e il follow-up delle eventuali terapie indicate. Qualora il test NGS individui alterazioni genomiche non riconosciute come suscettibili di trattamento con i farmaci a target molecolare già disponibili, l'interpretazione del risultato deve essere affidata a un gruppo multidisciplinare includente, oltre l'oncologo, almeno un biologo molecolare..

In merito al materiale patologico da sottoporre al test si sottolinea che i colangiocarcinomi sono tumori altamente eterogenei dal punto di vista molecolare e che i campioni dedicati alle indagini molecolari sono spesso scarsi. Requisiti minimi sono il quantitativo di 200-400 cellule e la cellularità tumorale > 30%.

L'analisi di marcatori su RNA richiede maggiori attenzioni della gestione preanalitica del campione: i tempi di ischemia fredda devono essere < 30 minuti e devono essere adottati protocolli di processazione «cold fixation». Deve essere inoltre evitata l'over-fissazione (>48h). Per quanto riguarda le indagini molecolari su DNA l'ischemia fredda non deve superare i 60 minuti. In linea generale è da preferirsi il materiale biologico più recente ma, soprattutto quello meglio conservato/fissato. Potrebbe quindi essere preferibile dal punto di vista qualitativo una biopsia, anziché il pezzo operatorio, seppur quantitativamente superiore alla biopsia.

Quando effettuare la profilazione molecolare?

L'analisi NGS deve essere condotta prima o durante il trattamento di prima linea al fine di poter decidere le soluzioni per la seconda o le successive linee.

Il test non è indicato nei casi in cui il paziente correttamente informato abbia negato il consenso al trattamento, né quando, a giudizio clinico dell'oncologo, le caratteristiche e le condizioni cliniche del paziente facciano escludere la possibilità di ulteriori interventi terapeutici indicati dai risultati del test.

Dove effettuare la profilazione molecolare?

I centri identificati dalla Rete Oncologica, con D.G.R. 23-7519 del 09/10/2023 della Regione Piemonte, sono 3: Istituto di Candiolo IRCCS, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino e Fondazione Edo ed Elvo Tempia di Biella.