

L'INTRODUZIONE della BIOPSIA LIQUIDA nella DIAGNOSTICA ONCOLOGICA

**Integrazione Multidisciplinare
metodologie analitiche:
Carcinoma polmonare tipo non a piccole
cellule**

Dr.ssa Ida Rapa
i.rapa@sanluigi.piemonte.it



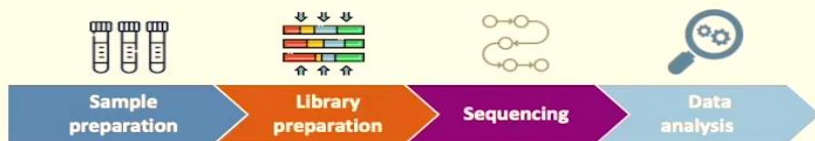
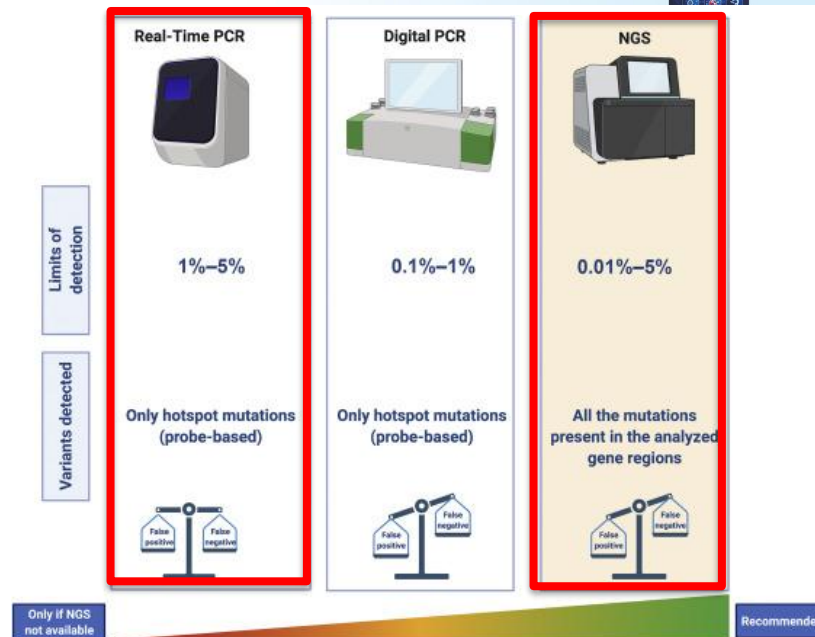
NGS offers a broad coverage of different genes^{5,6}dPCR can be used to quantify specific genes⁷⁻⁹

Tabella 1. Differenze tra dPCR ed NGS

Aspetti tecnici	dPCR	NGS
Coverage	Solo varianti hot-spot	Tutte le varianti incluse nelle regioni analizzate
Rilevazione di varianti a singolo nucleotide (SNV)	Si	Si
Rilevazioni di fusioni geniche	Sub-ottimale	Si
Rilevazioni di amplificazioni geniche (CNV)	Sub-ottimale	Si
Limite di rilevazione (LOD)	0.001%-1%	0.01%-5%
Valutazione della <i>tumor fraction</i>	No	Si (solo grandi pannelli di geni)
Turnaround time (TAT)	Poche ore	~ 7 giorni
Costi	<200 euro	>800-1200 euro



Raccomandazioni 2025 per l'esecuzione di Test Molecolari su Biopsia Liquida in Oncologia

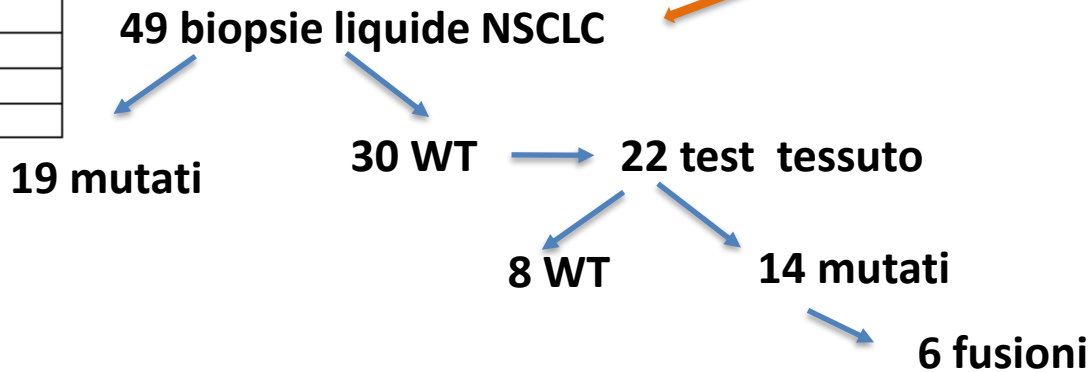
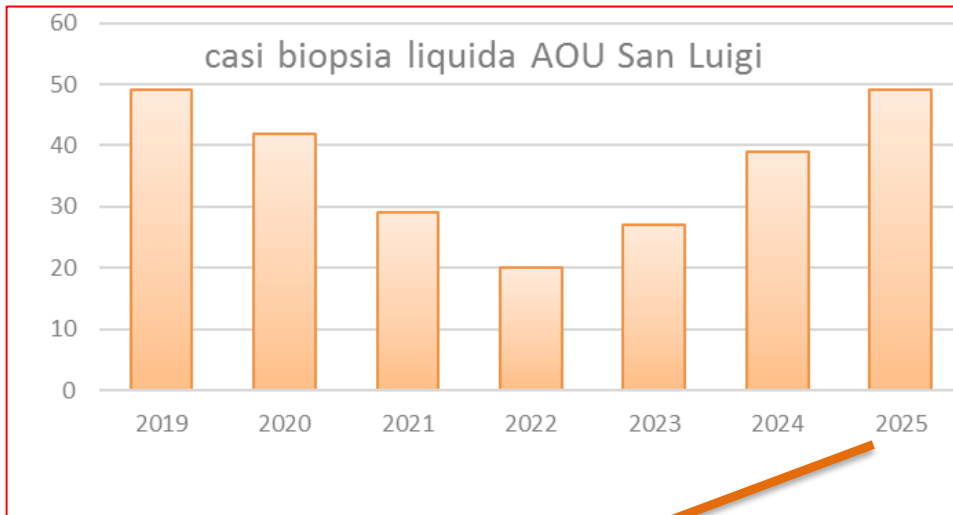
Documento congiunto AIOM – SIAPeC-IAP – SIBIOC – SIF

Estensori:

Giordano Beretta, Ettore Capoluongo, Romano Danesi, Marzia Del Re, Matteo Fassan, Giuseppe Giuffrè, Stefania Gori, Valerio Gristina, Lorena Incorvaia, Umberto Malapelle, Antonio Marchetti, Nicola Normanno, Carmine Pinto, Andrea Sartore-Bianchi, Nicola Silvestris, Pierosandro Tagliaferri, Giancarlo Troncone, Saverio Cinieri, Daniele Santini, Antonio Russo



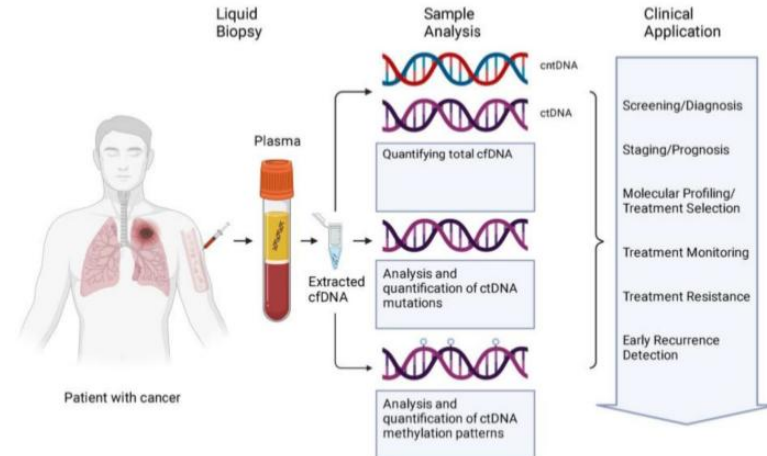
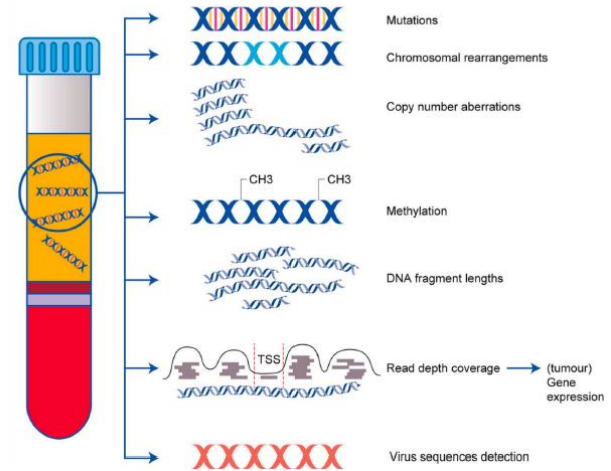
Periodo	Numero campioni	Metodo
Gennaio-giugno 2019	26	Real time
Luglio-dicembre 2019	23	Real time
Gennaio-giugno 2020	17	Real time
Luglio-dicembre 2020	25	Real time
Gennaio-giugno 2021	15	Real time
Luglio-dicembre 2021	14	Real time
Gennaio-giugno 2022	11	Real time
Luglio-dicembre 2022	9	Real time / NGS
Gennaio-giugno 2023	13	Real time / NGS
Luglio-dicembre 2023	14	NGS
Gennaio-giugno 2024	16	NGS
Luglio-dicembre 2024	23	NGS
Gennaio-giugno 2025	52	NGS
Luglio-dicembre 2025	107	NGS
Gennaio maggio 2026	70	NGS





Biopsia liquida

- Procedura non invasiva o minimamente invasiva
- Rappresentativa di lesioni multiple
- Ruolo prognostico e predittivo
- TAT più rapido
- Permette un monitoraggio longitudinale





F.E. Femmina 54 anni

Fumatrice. 10/2024 frattura patologica del bacino e TVP arto inferiore sx con neodiagnosi di mts epatiche, ossee e linfonodali a verosimile primitività polmonare.

In attesa di poter programmare biopsia tessutale ESEGUE BIOPSIA LIQUIDA

10 ml di sangue in provetta stabilizzata Stabilizzata

Volume plasma: 4.0ml; Sistema estrazione Maxwell CsC (Promega)

KIT:RSC ccf DNA plasma + RSC miRNA Plasma and Serum + CSC RAPID ccf DNA plasma

Input caricato:45ng; Sistema di analisi: Genexus/OPA (Thermofisher)



Results / APD20241018-LB ▾ / OPA cTNA w3.2.0 ▾ / APD20241018LB_FV ▾

APD20241018LB_FV QC ✓ Key Findings Variants Plugins Reports

All SNVs/Indels Fusions CNVs

Class	OncoPrint Variant Class	Gene	Locus	AA Change	Allele Frequency (%)	Call	Coverage	N
1	Hotspot	BRAF	chr7:140453135	p.V600E	7.2	PRESENT (HETEROZYGOUS)	6746	c.1799T>A
1	Hotspot	KRAS	chr12:25380283	p.A59T	0.2	PRESENT (HETEROZYGOUS)	3344	c.175G>A
1	Hotspot	MTOR	chr1:11190804	p.E1799K	0.1	PRESENT (HETEROZYGOUS)	3363	c.5395G>A

Giudizio diagnostico:

CAMPIONE MUTATO NELL'ESONE 15 DEL GENE BRAF (p.V600E)
CAMPIONE NEGATIVO PER LE MUTAZIONI TESTATE DEI GENI EGFR E KRAS.

DABRAFENIB+ TRAMETINIB



11/2024 test effettuato su biopsia tissutale

RISULTATO SINOTTICO BIOMARCATORI PREDITTIVI

GENE	RISULTATO	GENE	RISULTATO
EGFR (NM_005228.5)	Non alterato	ALK	Non alterato
KRAS (NM_004985.4)	Non alterato	ROSI	Non alterato
BRAF (NM_004333.4)	MUTATO p.(V600E)	RET	Non alterato
ERBB2 (NM_04448)	Non alterato	NTRK	
MET (NM_000245.3)	Non alterato		

Giudizio diagnostico:

CAMPIONE MUTATO NELL'ESONE 15 DEL GENE BRAF (p.V600E)
CAMPIONE NEGATIVO PER LE MUTAZIONI TESTATE DEI GENI EGFR E KRAS.

DETTAGLIO VARIANTI IDENTIFICATE DEI GENI COMPRESI NEL PANNELLO

Gene	Codifica	Sostituzione aminoacidica	Esoni	Frequenza all'allele	Categoria
BRAF	c.1799T>A	p.(Val600Glu)-p.(V600E)	15	25	patogenetica

Non sono state identificate alterazioni patogenetiche nelle regioni testate dei geni compresi nel pannello ().*



...a: per escludere **falsi positivi/negativi** nella valutazione del risultato dell'analisi, deve essere posta particolare attenzione all'individuazione delle varianti germinali (APC, ATM, BRCA1, BRCA2, KIT, MLH1, NF1, PTEN, RB1, RET, SMAD4, STK11, TP53, TSC1 e VHL) e quelle associate a **CHIP** (CHEK2, ATM, TP53, PLB2, CDK12, **BRAF**, BRCA1/2).

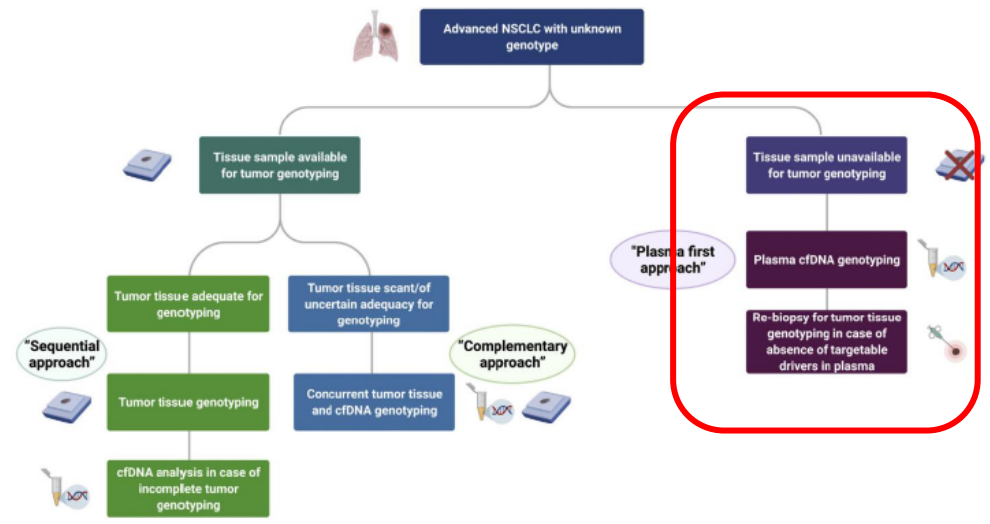
Istiocitosi a cellule di Langerhans

Emopoiesi clonale

Lesioni benigne precancerose



Diagnostic algorithm for liquid biopsy use in treatment-naïve advanced/metastatic NSCLC



Plasma ctDNA can now be considered a valid tool for genotyping of newly diagnosed patients with advanced NSCLC, and results are often complementary to those of tissue analysis.

At the time of acquired resistance after TKI therapy in an oncogene-driven NSCLC, initial use of ctDNA is preferred for evaluation of mechanisms of resistance ("plasma-first"), with repeat tissue biopsy if plasma ctDNA is uninformative.



Algoritmo 5. NSCLC avanzato naïve al trattamento.
* EGFR / ALK / MET / BRAF / HER2 / KRAS p.G12C / NTRK1-2-3 / RET / ROS1

Raccomandazioni 2025 per l'esecuzione di Test Molecolari su Biopsia Liquida in Oncologia
Documento congiunto AIOM – SIAPeC-IAP – SIBIOC – SIF



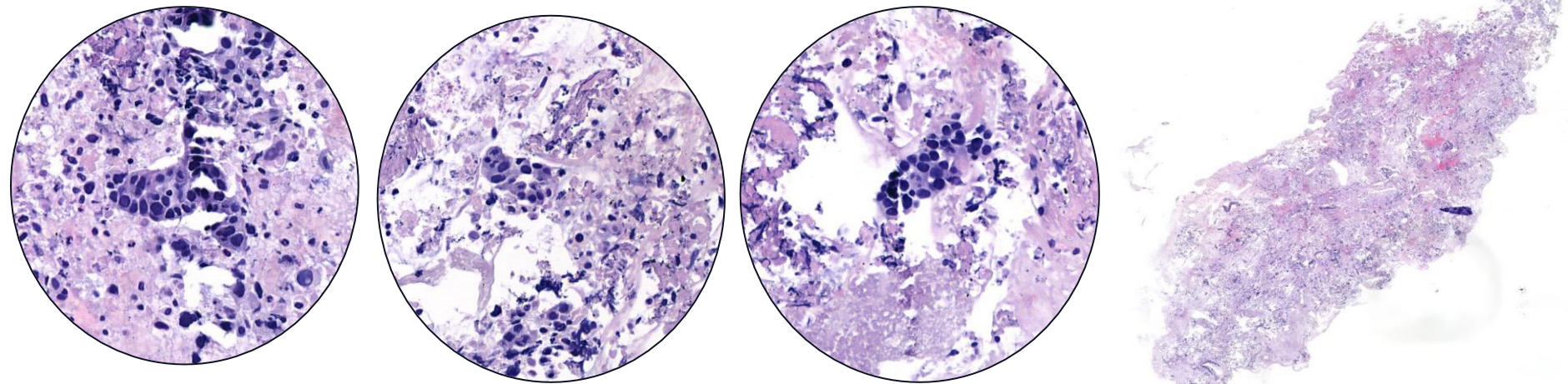
Non fumatrice, commessa

5/2025 per algie agli arti inferiori e anca dx esegue RM bacino che evidenzia diverse lesioni ossee.

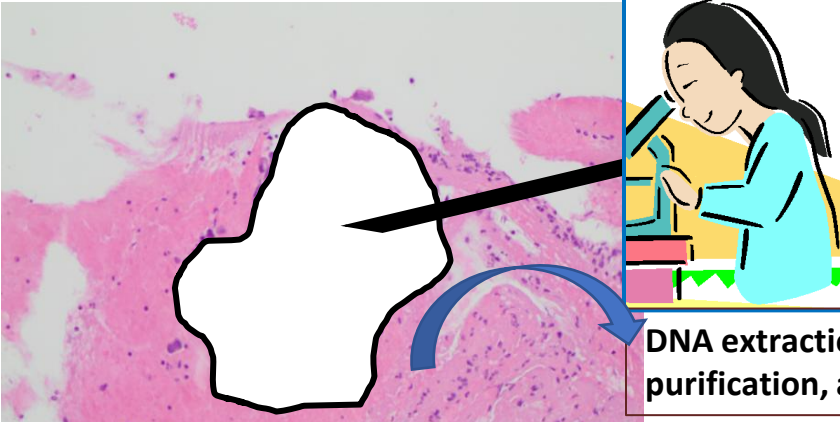
6/2025 TC TB mdc: nodo polmonare LSD (35x34x46) e minuti noduli bilaterali. Plurimi linf. mediastinici e ilari. Formazione nodulare tiroidea

- **Esegue biopsia bronchiale + broncoaspirato:**

Quadro citologico compatibile con cellule di adenocarcinoma



Analisi molecolari su broncoaspirato: “microscopic tumor enrichment”



Sistema estrazione Maxwell CSC DNA/RNA FFPE KIT (Promega)

[DNA]=0,8 ng/ul

[RNA]=1,3ng/ul

Sistema di analisi: Genexus/OPA

Input caricato:16 ng

DNA extraction, amplification, purification, analysis



RISULTATO SINOTTICO BIOMARCATORI PRE DITTIVI

GENE	RISULTATO	GENE	RISULTATO
EGFR (NM 005228.5)	MUTATO p.(L858R)	ALK	Non alterato
KRAS (NM 004985.4)	Non alterato	ROS1	Non alterato
BRAF (NM 004333.4)	Non alterato	RET	Non alterato
ERBB2 (NM 04448)	Non alterato	NTRK 1, 2, 3	Non alterato
MET (NM 000112750.3)	Non alterato		

DETTAGLIO VARIANTI IDENTIFICATE DEI GENI COMPRESI NEL PANNELLO

Gene	Codifica	Sostituzione aminoacidica	Esone	Frequenza allelica	Categoria	**ESCAT
EGFR	c.2573 T>G	p.(Leu858Arg)-p.(L858R)	21	<5%	patogenetica	IA
TP53	c.818C>A	p.(Arg273His)-p.(R273H)	8	<5%	prob.patogenetica	IV



limitatamente alla cellularità neoplastica presente nel preparato

CAMPIONE MUTATO NELL'ESONE 21 DEL GENE EGFR p.(L858R)

La mutazione identificata risiede nel dominio tirosina-chinasi dell'oncogene EGFR, con conseguente attività costitutiva del dominio catalitico. Tale alterazione in assenza di alterazioni genetiche responsabili di resistenza farmacologica, è associata a risposta al trattamento con TKI (Sharma V. et al., Nature Reviews Cancer 2007).

La mutazione identificata ha una frequenza allelica al di sotto del LoD previsto dalla metodica utilizzata (<5%). Si consiglia, se clinicamente opportuno a giudizio dello Specialista Curante, validazione del risultato su materiale diverso o ulteriore ove eventualmente disponibile.

Analisi molecolari su liquida



L'INTRODUZIONE della **BIOPSIA LIQUIDA**
nella **DIAGNOSTICA ONCOLOGICA**



TORINO
8 GIUGNO 2026
AULA LENTI
Presidio Molinette

All	SNVs/Indels	Fusions	CNVs	<input type="checkbox"/> Apply Non-Small Cell Lung Cancer Gene List	OncoPrint Extended (5.16) Filter Chain Applied 8 of 2,178 SNVs/Indels				
User Classification	Variant ID	Locus	Gene	AA Change	Allele Frequency (%)				
Classification ▾	COSM10660	chr17:7577120	TP53	p.R273H	48.5				
Classification ▾	COSM6224	chr7:55259514	EGFR	p.L858R	34.9				
Classification ▾	COSM5039	chr10:89711900	PTEN	p.R173H	0.2				
Classification ▾	COSM3094417	chrX:66931504	AR	p.V716M	0.1				

Giudizio diagnostico:

CAMPIONE MUTATO NELL'ESONE 21 DEL GENE EGFR (p.L858R)

La mutazione identificata risiede nel dominio tirosina-chinasico dell'oncogene EGFR, con conseguente attività costitutiva del dominio catalitico. Tale alterazione in assenza di alterazioni genetiche responsabili di resistenza farmacologica, è associata a risposta al trattamento con TKI (Sharma V. et al., Nature Reviews Cancer 2007).

SCELTA METODO DI ANALISI: Mutazione puntiforme a bassa frequenza valutabile in **RT-PCR**. In questo caso bassa concentrazione di DNA. Quantità non sufficiente per eseguire questo tipo di test.





SM, donna 46 anni, never smoker,

In seguito a dolori ossei esegue accertamenti

TC TB mdc: **esteso rimaneggiamento osseo** a livello di bacino, vertebre dorsali e omero destro. A livello polmonare lesione parenchimale ilare posteriore LSS e multiple nodularità LIS.

Stadio cT4N1M1b (mts ossee)

ESEGUE BIOPSIA OSSEA : localizzazione di adenocarcinoma del polmone (TTF1 debole e focale)

PROFILO MOLECOLARE **CON NGS:**

EGFR, KRAS, BRAF, ERBB2: TUTTO WT

ALK, ROS1, RET, NTRK, METex14: **non valutabili per analisi RNA fallita**

RT-PCR ALK, ROS1, RET, NTRK, METex14: **non valutabile**

IHC ALK, ROS1, pan-TRK: **negativo?** (controlli positivi solo esterni)



Esegue prelievo di sangue per analisi NGS su plasma (cfTNA)

Provetta EDTA

Volume plasma: 4.5ml Sistema estrazione Maxwell CSC (Promega)

KIT:RSC ccf DNA plasma + RSC miRNA Plasma and Serum + CSC RAPID ccf DNA plasma

Input caricato:22ng

Sistema di analisi: Genexus/OPA (Thermofisher)



Results / APD20240318 ▾ / OPA cTNA w3.2.0 ▾ / LB1-APD20240318 ▾

LB1-APD20240318 QC ✓ [Key Findings](#) [Variants](#) [Plugins](#) [Reports](#)

[All](#) [SNVs/Indels](#) [Fusions](#) [CNVs](#) Gene List Only

Variant Matrix Summary (5.16) Filter Chain Applied
3 of 3,160 Variants

[Edit Filters](#)

[Export](#)

[Columns ▾](#)

Gene	Locus	AA Change	Allele Frequency (%)	Coverage	Nuc Change	P-Value	Genes (Exons)
BRAF	chr7:140453148	p.G596D	0.1	1566	c.1787G>A	0.08760320594714274	
TP53	chr17:7578403	p.C176F	6.3	2095	c.527G>T	1.1142945335916495e-206	
ALK	chr2:42522656 - chr2:29446348						EML4(13) - ALK(20)



RISULTATO

Gene EGFR (ESONI 18-19-20-21): non sono state evidenziate mutazioni nelle regioni analizzate

Gene KRAS (ESONI 2-3-4): non sono state evidenziate mutazioni nelle regioni analizzate

Gene TP53 (ESONI 18-21): è stata riscontrata la sostituzione nucleotidica c.527G>T che comporta a livello proteico la sostituzione aminoacidica Cys176Phe (C176F) (VAF 6.3%)

Gene ALK: è stato riscontrato il prodotto di fusione EML4 (13)-ALK(20) (70 reads)

Non sono state rilevate mutazioni negli altri geni testati (vedi note tecniche)

**Note tecniche: Il KIT Precision Assay GX, permette il sequenziamento diretto e multigenico di regioni Hot-Spot e/o di interesse a carico di geni interessati dalla presenza di varianti somatiche associate a neoplasie (AKT1, AKT2, AKT3, ALK, AR, ARAF, BRAF, CDK4, CDKN2A, CHEK2, CTNNA1, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ESR1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FLT3, GNA11, GNAQ, GNAS, HRAS, IDH1, IDH2, KIT, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, MET, MTOR, NRAS, NTRK1, NTRK2, NTRK3, PDGFRA, PIK3CA, PTEN, RAF1, RET, ROS1, SMO, TP53). LOD 0.1% Analisi Bioinformatica effettuata mediante l'utilizzo di software dedicato, Ion Reporter 5.16 (LifeTechnology/Thermo Fisher Scientific/Waltham, USA) esclusivamente delle regioni a carico dei geni richiesti dal medico curante. Il test permette l'eventuale analisi di ulteriori informazioni a carico dei geni presenti nel pannello mutazionale utilizzato ma non richiesti, che sono a disposizione del medico per un mirino di 5 anni previa specifica richiesta e autorizzazione. L'analisi sarà effettuata solo se il campione sequenziato possiederà una profondità media di sequenziamento di 500X e una chiamata con CQ>20. Il test è eseguito secondo le "Raccomandazioni per l'analisi mutazionale del gene EGFR nel carcinoma polmonare" Linee guida AIOM-SLAPEC-IAP- Pathologica2010;102:123-1211 laboratorio partecipa ai controlli di qualità esterni nazionali AIOM-SLAPEC ed europei EMQN.*

Giudizio diagnostico:

CAMPIONE POSITIVO PER PRODOTTO DI FUSIONE DEL GENE ALK (EML4(13)-ALK(20))

Trattamento con Alectinib

Alla prima rivalutazione PR su tutte le lesioni ossee e polmonari: **prosegue trattamento con Alectinib**



Difficoltà tecniche legate a tessuto decalcificato. EDTA per tempi brevi. Prelievi dedicati al test molecolare.

Recommendations ctDNA testing IASLC-AIOM

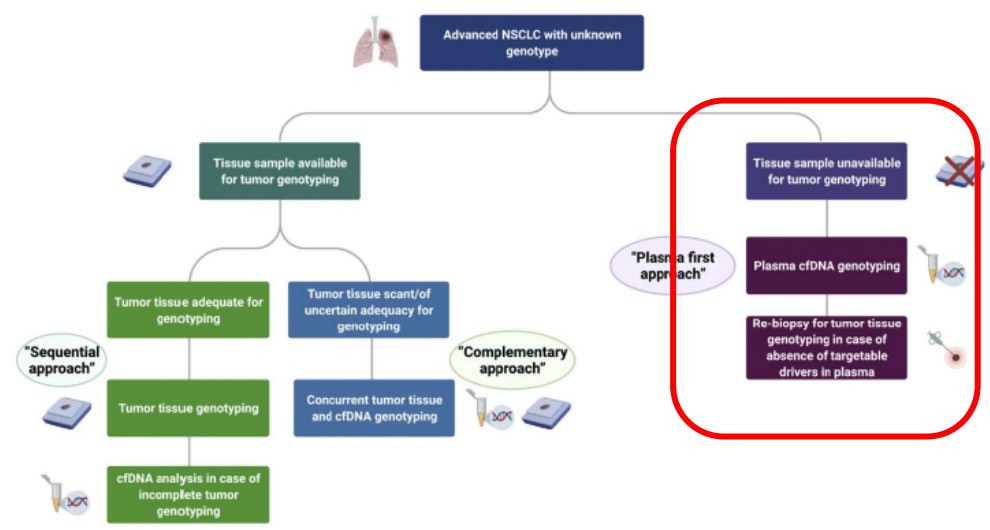


L'INTRODUZIONE della BIOPSIA LIQUIDA nella DIAGNOSTICA ONCOLOGICA



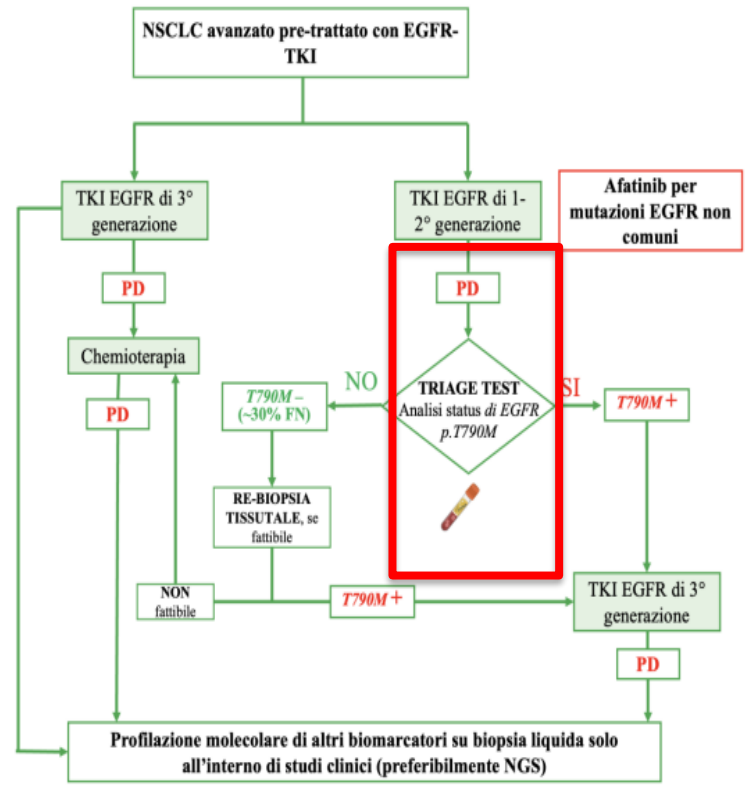
TORINO
8 GIUGNO 2026
AULA LENTI
Presidio Molinette

Diagnostic algorithm for liquid biopsy use in treatment-naive advanced/metastatic NSCLC



Plasma ctDNA can now be considered a valid tool for genotyping of newly diagnosed patients with advanced NSCLC, and results are often complementary to those of tissue analysis.

At the time of acquired resistance after TKI therapy in an oncogene-driven NSCLC, initial use of ctDNA is preferred for evaluation of mechanisms of resistance ("plasma-first"), with repeat tissue biopsy if plasma ctDNA is uninformative.



Algoritmo 6. NSCLC avanzato pre-trattato con EGFR-TKI.



SM, donna 46 anni, never smoker

Alla seconda rivalutazione TC TB mdc: nuovo rimaneggiamento osseo a livello di coste, vertebre dorsali e sacrali. A livello polmonare lesione parenchimale ilare stabile ma comparsa di multiple nodularità polmonari diametro massimo cm 0,4 associate ad adenopatie mediastiniche, localizzazioni epatiche.

In attesa di programmazione biopsia tessutale ESEGUE NUOVA BIOPSIA LIQUIDA

UV-APD20240625

QC 

Key Findings

Variants

Plugins

Reports

All SNVs/Indels Fusions CNVs

Gene List Only

OncoPrint Extended (5.16) Filter Chain Applied
9 of 3,159 Variants

Edit Filters

Exp

OncoPrint Gene Class	OncoPrint Variant Class	Gene	Locus	AA Change	Allele Frequency (%)	Coverage
Gain-of-Function	Hotspot	ALK	chr2:29445213	p.I1171N	6.4	969

RISULTATO

Gene ALK (ESONI 11, 21, 22, 23, 24, 25, 27, 28): è stata identificata la presenza della mutazione c.3512T>A che comporta a livello proteico la sostituzione aminoacidica p.(Ile1171Asn)-p.(I1171N) (VAF 6,4%)

Non sono state rilevate mutazioni negli altri geni testati (vedi note tecniche)

**Note tecniche: Il KIT Precision Assay GX, permette il sequenziamento diretto e multigenico di regioni Hot-Spot e/o di interesse a carico di geni interessati dalla presenza di varianti somatiche associate a neoplasie (AKT1, AKT2, AKT3, ALK, AR, ARAF, BRAF, CDK4, CDKN2A, CHEK2, CTNNA1, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ESR1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FLT3, GNA11, GNAQ, GNAS, HRAS, IDH1, IDH2, KIT, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, MET, MTOR, NRAS, NTRK1, NTRK2, NTRK3, PDGFRA, PIK3CA, PTEN, RAF1, RET, ROS1, SMO, TP53). LOD 0.1% Analisi Bioinformatica effettuata mediante l'utilizzo di software dedicato, Ion Reporter 5.16 (LifeTechnology/Thermo Fisher Scientific/Waltham, USA) esclusivamente delle regioni a carico dei geni richiesti dal medico curante. Il test permette l'eventuale analisi di ulteriori informazioni a carico dei geni presenti nel pannello mutazionale utilizzato ma non richiesti, che sono a disposizione del medico per un minimo di 5 anni previa specifica richiesta e autorizzazione. L'analisi sarà effettuata solo se il campione sequenziato possiederà una profondità media di sequenziamento di 500X e una chiamata con CQ>20. Il test è eseguito secondo le "Raccomandazioni per l'analisi mutazionale del gene EGFR nel carcinoma polmonare" Linee guida AIOM-SIAPEC-IAP- Patologica2010;102:123-128. Il laboratorio partecipa ai controlli di qualità esterni nazionali AIOM-SIAPEC ed europei EMQN.*

Giudizio diagnostico:

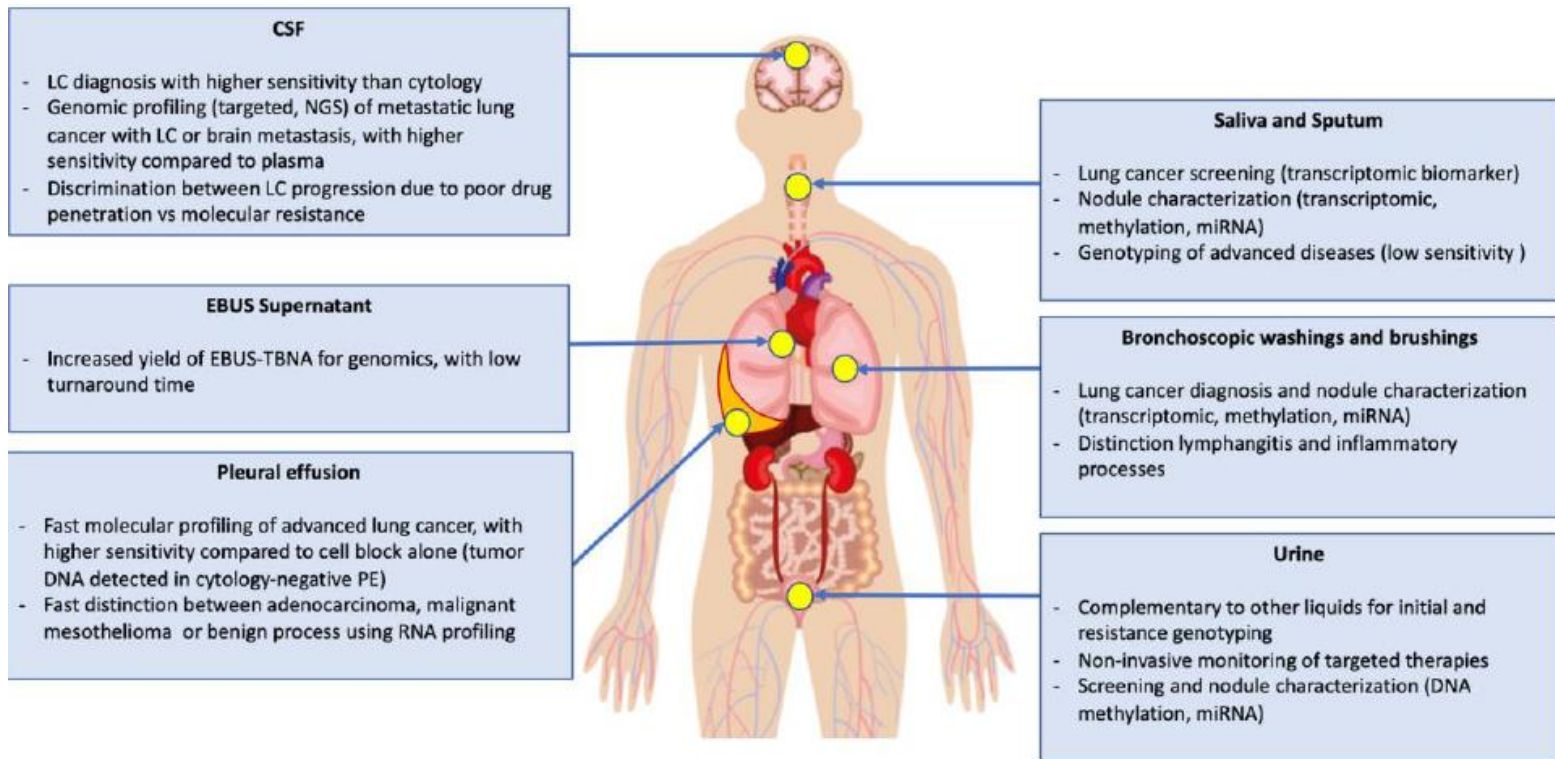
CAMPIONE MUTATO NELL'ESONE 22 DEL GENE ALK p.(I1171N)





Biopsia liquida in fluidi corporei non-plasma

DNA libero circolante in fluidi non di derivazione ematica possono essere di elevate utilità in tutti gli stadi di NSCLC





F.A Maschio 66 anni

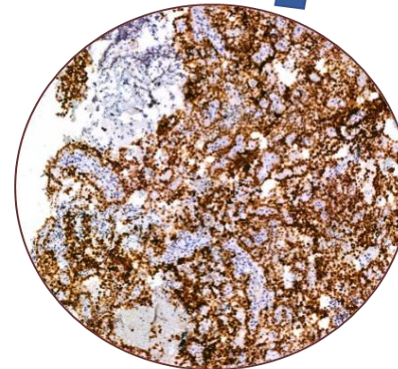
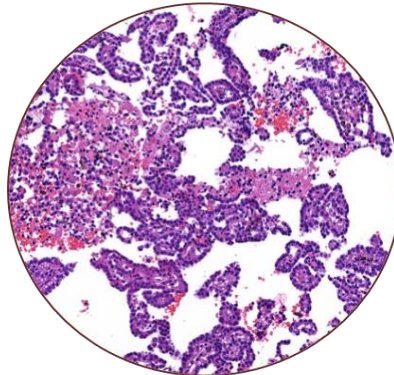
Ex fumatore. Ex saldatore

Per tosse persistente eseguita TC torace (02/2023): nella piramide basale sinistra una **formazione addensante di 42x30x28 mm** verosimile lesione produttiva.

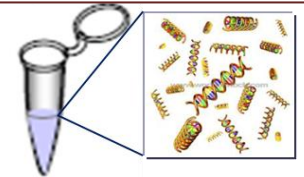
Concomitano numerosissime **formazioni nodulari diffuse** in entrambi i polmoni, verosimile disseminazione secondaria; si osservano **formazioni linfonodali in sede mediastinica e ilare**.

Esegue EBUS-TBNA sedi 7, 11L, 11R:

Quadro citologico compatibile con cellule di **adenocarcinoma**



Estrazione DNA,
amplificazione,
purificazione, analisi





Analisi molecolari su EBUS-TBNA

RISULTATO

Gene EGFR (ESONI 18-19-20-21): è stata RICONTRATA NELL'ESONE 19 la presenza della delezione c.2239 2248delinsC che comporta a livello proteico la delezione in frame p.(Leu747 Ala750delinsPro) p.(L747 A750delinsP) VAF 44%

Gene KRAS (ESONI 2-3-4): non sono state evidenziate mutazioni nelle regioni analizzate

Gene BRAF (ESONE 15): non sono state evidenziate mutazioni nelle regioni analizzate

Gene ERBB2 (ESONI 8, 17-22): non sono state evidenziate mutazioni nelle regioni analizzate

***Note tecniche.** Il KIT Precision Assay GX, permette il sequenziamento diretto e multigenico di regioni Hot-Spot e/o di interesse a carico di geni interessati dalla presenza di varianti somatiche associate a neoplasie (AKT1, AKT2, AKT3, ALK, AR, ARAF, BRAF, CDK4, CDKN2A, CHEK2, CTNNA1, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ESR1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FLT3, GNA11, GNAQ, GNAS, HRAS, IDH1, IDH2, KIT, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, MET, MITOR, NRAS, NTRK1, NTRK2, NTRK3, PDGFRA, PIK3CA, PTEN, RAF1, RET, ROS1, SMO, TP53, LOD)^{9a}. Permette, inoltre, la valutazione dell'aumento del numero di copie (CNV) dei seguenti geni: ALK, AR, CD274, CDKN2A, ERBB2, ERBB3, FGFR1, FGFR2, FGFR3, KRAS, MET, PIK3CA, PTEN). **Analisi Bioinformatica effettuata mediante l'utilizzo di software dedicato**, Ion Reporter 5.16 (Life Technology/Thermo Fisher Scientific/Waltham, USA) **esclusivamente delle regioni a carico dei geni richiesti dal medico curante. Il test permette l'eventuale analisi di ulteriori informazioni a carico dei geni presenti nel pannello mutazionale utilizzato ma non richiesti, che sono a disposizione del medico per un minimo di 5 anni previa specifica richiesta e autorizzazione.** L'analisi sarà effettuata solo se il campione sequenziato possiederà una profondità media di sequenziamento di 500X e una chiamata con CQ>20. Il test è eseguito secondo le "Raccomandazioni per l'analisi mutazionale del gene EGFR nel carcinoma polmonare" Linee guida AIOM-SIAPEC-IAP- Pathologica 2010; 102:123-128 laboratorio partecipa ai controlli di qualità esterni nazionali AIOM-SIAPEC ed europei EMQN

Giudizio diagnostico:

CAMPIONE MUTATO NELL'ESONE 19 DEL GENE EGFR (p.L747 A750delinsP)

CAMPIONE CON ASSENZA DI MUTAZIONI NELLE REGIONI TESTATE DEI GENI KRAS, BRAF ed ERBB2

La mutazione identificata risiede nel dominio tirosina-chinasico dell'oncogene EGFR, con conseguente attività costitutiva del dominio catalitico. Tale alterazione in concomitanza all'assenza delle mutazioni genetiche responsabili di resistenza farmacologica, è associata a risposta al trattamento con TKI (Sharma V. et al., Nature Reviews Cancer 2007).



In considerazione dello stadio avanzato di malattia e del profilo molecolare indicazione a **trattamento di I linea con Osimertinib (04/2023)**.

TAC TB del 4/2025: PD

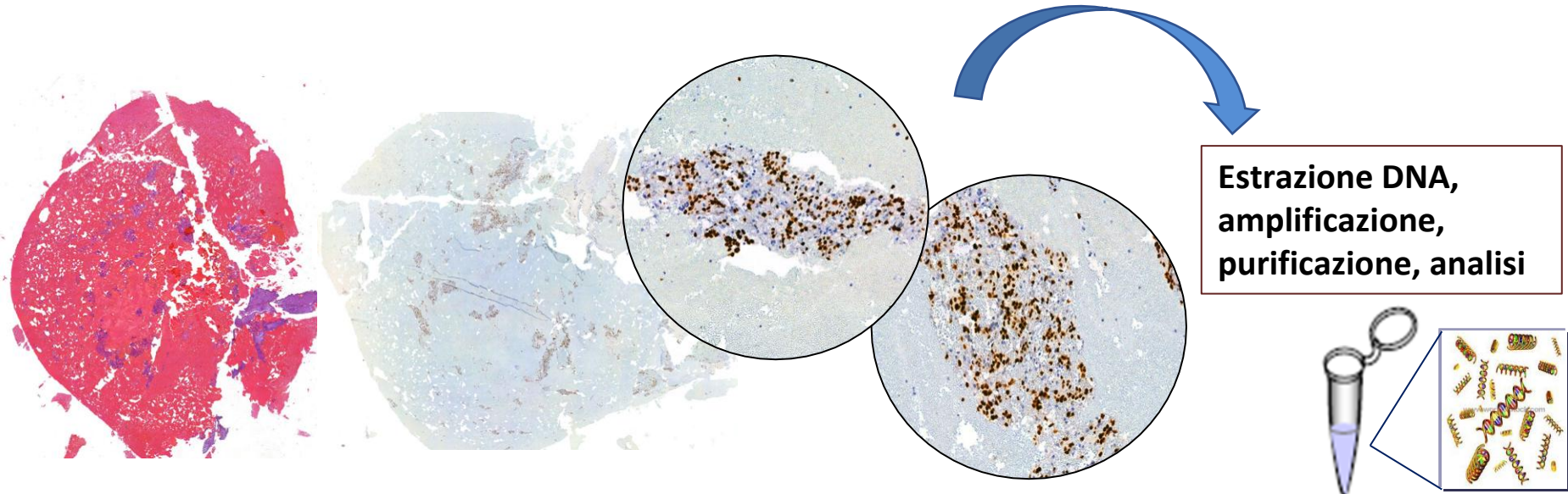
A destra, nel contesto del LM appare **lievemente incrementata di volume** la localizzazione grossolanamente tondeggiante, la cui componente consolidativa sulle scansioni assiali attualmente ha diametro **19 mm vs 15 mm**.

A destra è altresì **incrementato di volume un nodoulo satellite** nell'ambito del LID 5 vs 3 mm.

- **Giugno 2025: esegue broncoscopia per ricaratterizzazione molecolare:**
- **Biopsia bronchiale:** frustoli di parenchima polmonare
- **Broncoaspirato:** cellule di adenocarcinoma



- **Giugno 2025:** esegue broncoscopia per ricaratterizzazione molecolare:
- **Biopsia bronchiale:** frustoli di parenchima polmonare
- **Broncoaspirato:** cellule di adenocarcinoma





L'INTRODUZIONE della BIOPSIA LIQUIDA nella DIAGNOSTICA ONCOLOGICA



TORINO
8 GIUGNO 2026
AULA LENTI
Presidio Molinette

Analisi molecolari su broncoaspirato

Key Variants

Key Variants Detected Other Variants Detected None Detected Not Assayed

OncoPrint Extended (5.16) filter chain and No gene list applied

Edit Filters

CTNNB1 SNV/Indel
COSM5663
AA Change: p.S45P
Allele Frequency: 0.307

EGFR SNV/Indel
COSM12382
AA Change: p.L747_A750delinsP
Allele Frequency: 0.236

EGFR SNV/Indel
COSM6219
AA Change: p.A750P
Allele Frequency: 0.235

EGFR SNV/Indel
COSM6493937
AA Change: p.C797S
Allele Frequency: 0.099

ERBB3 CNV
ERBB3

PIK3CA SNV/Indel
COSM757
AA Change: p.C420R
Allele Frequency: 0.217

T-APD20250604 QC ✓ [Key Findings](#) [Variants](#) [Plugins](#) [Reports](#)

All SNVs/Indels Fusions CNVs

OncoPrint Extended (5.16) Filter Chain Applied
5 of 2,152 SNVs/Indels

Edit Filters

Export

Columns

User Classification	Variant ID	Locus	Gene	AA Change	Allele Frequency (%)	Call	Ph
Classification	COSM5663	chr3:41266136	CTNNB1	p.S45P	30.7	PRESENT (HETEROZYGOUS)	13:
Classification	COSM12382	chr7:55242465	EGFR	p.L747_A750delinsP	23.6	PRESENT (HETEROZYGOUS)	94:
Classification	COSM6219	chr7:55242478	EGFR	p.A750P	23.5	PRESENT (HETEROZYGOUS)	93:
Classification	COSM6493937	chr7:55249091	EGFR	p.C797S	9.9	PRESENT (HETEROZYGOUS)	16:
Classification	COSM757	chr3:178927980	PIK3CA	p.C420R	21.7	PRESENT (HETEROZYGOUS)	52:



L'INTRODUZIONE della BIOPSIA LIQUIDA nella DIAGNOSTICA ONCOLOGICA



TORINO
8 GIUGNO 2026
AULA LENTI
Presidio Molinette

RISULTATO BIOMARCATORI PREDITTIVI

GENE	RISULTATO	GENE	RISULTATO
EGFR (NM 005228.5)	MUTATO p.(L747_A549delinsP)+p.(C797S)	ALK	Non alterato
KRAS (NM 004985.4)	Non alterato	ROS1	Non alterato
BRAF (NM 004333.4)	Non alterato	RET	Non alterato
ERBB2 (NM 04448)	Non alterato	NTRK 1, 2, 3	Non alterato
MET (NM 000245.3)	Non alterato		

DETTAGLIO VARIANTI IDENTIFICATE

Gene	Codifica	Sostituzione aminoacidica	Esone	Frequenza allelica	Categoria	*ESCAT
EGFR	c.2239_2248delinsC	p.(Leu747-Ala750delinsPro)	19	23%	Patogenetica	IA
EGFR	c.2389T>A	p.(Cys797ser)-p.(C797S)	20	10%	patogenetica	IA
PIK3CA	c.1258T>C	p.(Cys420Arg)-p.(C420R)	8	21%	patogenetica	IIIA
CTNNB1	c.133T>C	p.(Ser45Pro)-p.(S45P)	3	30%	patogenetica	X

*Classificazione ESCAT: (Mateo J. et al. Ann Oncol.2018; Raccomandazioni ESMO -Mosele M.F. et al. Ann Oncol 2024)

Non sono state identificate ulteriori alterazioni patogenetiche nelle regioni testate dei geni compresi nel pannello (**)

Giudizio diagnostico:

CAMPIONE MUTATO NELL'ESONE 19 p.(L747 A750delinsP) E NELL'ESONE 20 p.(C797S) DEL GENE EGFR

4/2025 avviato **Gefitinib** (con buona tolleranza, non effetti collaterali). Gefitinib è un TKI di prima generazione che è meno potente ed efficace di Osimertinib, ma essendo anche meno specifico ha attività anche su mutazioni di resistenza a Osimertinib come la mutazione p.(C797S)

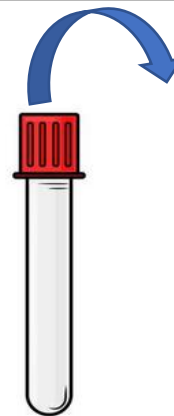


Agosto 2025: progressiva comparsa di ipoacusia e atassia per cui veniva riprogrammata ristadiatione con TAC TB con riscontro di lieve riduzione della lesione polmonare sinistra e stabilità delle altre lesioni extracraniche.

Progressivo peggioramento neurologico e comparsa di importante disfagia richiedente ricovero.

RM encefalo: comparsa di 2 millimetriche lesioni dell'emisfero cerebellare destro (non giustificava la intensità dei sintomi del paziente) per cui eseguita **rachicentesi**.

- **Esame citologico su liquor:** negativo per cellule neoplastiche



Estrazione DNA, amplificazione, purificazione, analisi





Analisi molecolari su surnatante Cf DNA da liquor

Key Variants

Key Variants Detected

Other Variants Detected

None Detected

Not Assayed

Oncomine Extended (5.16) filter chain and No gene list applied

Edit Filters

AKT1 SNV/Indel
COSM5027916
AA Change: p.C77F
Allele Frequency: 0.018

CTNNB1 SNV/Indel
COSM5663
AA Change: p.S45P
Allele Frequency: 0.479

EGFR SNV/Indel
COSM12422
AA Change: p.L747_A750delinsP
Allele Frequency: 0.017

EGFR SNV/Indel
COSM12382
AA Change: p.L747_A750delinsP
Allele Frequency: 0.301

ERBB3 CNV
ERBB3

FGFR3 CNV
FGFR3

PIK3CA SNV/Indel
COSM757
AA Change: p.C420R
Allele Frequency: 0.493

FGFR1 CNV
FGFR1

All SNVs/Indels Fusions CNVs

Oncomine Extended (5.16) Filter Chain Applied
5 of 2,166 SNVs/Indels

Edit Filters

Export

Columns

User Classification	Variant ID	Locus	Gene	AA Change	Allele Frequency (%)	Call	Ph
Classification	COSM5027916	chr14:105243053	AKT1	p.C77F	1.8	PRESENT (HETEROZYGOUS)	44
Classification	COSM5663	chr3:41266136	CTNNB1	p.S45P	47.9	PRESENT (HETEROZYGOUS)	78
Classification	COSM12382	chr7:55242469	EGFR	p.L747_A750delinsP	30.1	PRESENT (HETEROZYGOUS)	80
Classification	COSM12422	chr7:55242468	EGFR	p.L747_A750delinsP	1.7	PRESENT (HETEROZYGOUS)	5.7
Classification	COSM757	chr3:178927980	PIK3CA	p.C420R	49.3	PRESENT (HETEROZYGOUS)	13



SPECIAL ARTICLE

Leptomeningeal metastasis from solid tumours: EANO–ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up*

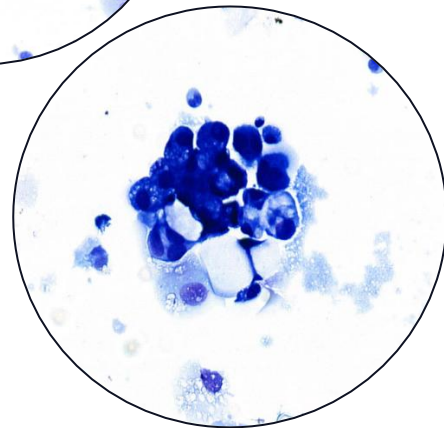
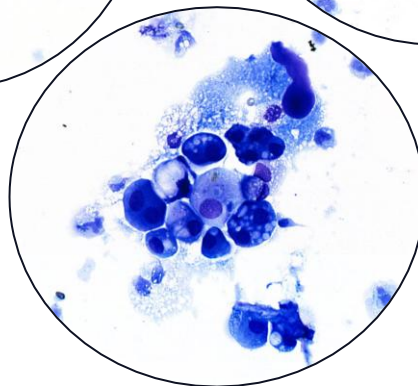
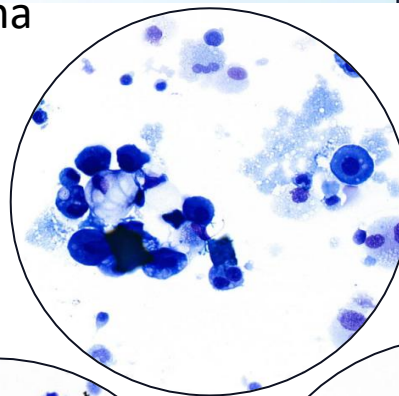
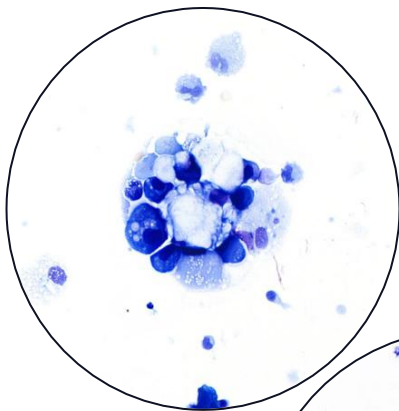
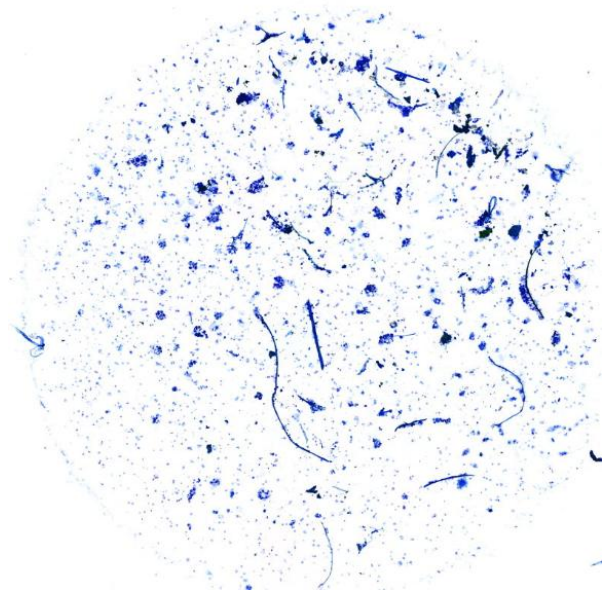
E. Le Rhun^{1,2}, M. Weller², M. van den Bent³, D. Brandsma⁴, J. Furtner⁵, R. Rudà⁶, D. Schadendorf^{7,8,9}, J. Seoane¹⁰, J.-C. Tonn^{11,12}, P. Wesseling^{13,14}, W. Wick^{15,16}, G. Minniti^{17,18}, S. Peters¹⁹, G. Curigliano^{20,21} & M. Preusser²², on behalf of the EANO Guidelines Committee and ESMO Guidelines Committee

Table 1. Recommended evaluation of suspected LM to establish the level of evidence for the diagnosis

Recommended protocols of evaluation	
Clinical evaluation	Thorough neurological examination focused on abnormalities typically seen in patients with LM
Neuroimaging	Field strength of 1.5 or preferably 3 T Gadolinium should be injected 10 min before data acquisition at a dose of 0.1 mmol/kg. The slice thickness should be ≤1 mm at the brain level and ≤3 mm at the spinal level Brain: 3D pre-contrast T1-weighted, 2D or 3D FLAIR, 2D diffusion-weighted imaging, 2D pre-contrast T2-weighted, post-gadolinium 3D T1-weighted. Post-gadolinium 3D FLAIR sequences should be considered Spinal axis: sagittal fat-suppression T2-weighted sequences, sagittal pre-contrast T1-weighted sequences, T1-weighted post-gadolinium sagittal fat-suppressed sequence
CSF cytology	Fresh CSF samples should ideally be processed within 30 min after sampling CSF volume is ideally >10 ml but at least 5 ml After centrifugation, cytopspins can be air-dried and subsequently May-Grünwald-Giemsa (MGG = Pappenheim) stained Alternatively, fresh CSF samples can be fixed with Ethanol-Carbowax (CSF–fixative ratio 1:1) to reduce time pressure, followed by Papanicolaou staining of the cytopspins Upon indication and availability of material, additional immunocytochemical stainings for epithelial and melanocytic markers should be considered A second CSF sample should be analysed if the initial CSF sample is negative

generation sequencing.³⁷⁻⁴⁰ A higher sensitivity for the detection of genomic alterations, including *EGFR* mutation, *ALK* rearrangements and *ROS1* rearrangements, has been reported for CSF compared with plasma samples in patients with LM from lung cancer.^{37,38} However, in clinical practice, there is still insufficient evidence to substitute a positive CSF cytology result with the detection of tumour-specific mutations at a DNA level in the CSF, e.g. *BRAF V600E* or *EGFR T790M*. It remains unclear whether tumour DNA detection in the CSF compartment always reflects the local presence of tumour cells or whether this DNA may be derived from concomitant brain metastases, tumour cells circulating in the blood or even from distant extracerebral metastases. Future studies need to address the question of what quantitative cut-off of tumour DNA in the CSF corresponds to clinically relevant LM. However, genomic analysis of the CSF can be considered in patients with LM from cancers where targeted therapies are available in order to define the molecular profile.^{37,38,41}

- **Seconda rachicentesi: positiva per cellule di adenocarcinoma**



- Analisi molecolari su **cellule: ex19 delins ma non per C797S.**

9/2025 ha avviato la combinazione (Gefitinib+Osimertinib) con miglioramento neurologico discreto e progressiva ripresa della deambulazione.

Durante il ricovero sovrainfezione batterica a livello polmonare che ne è stato il motivo del decesso.



L'INTRODUZIONE della BIOPSIA LIQUIDA nella DIAGNOSTICA ONCOLOGICA



TORINO
8 GIUGNO 2026
AULA LENTI
Presidio Molinette

ME, 56 anni, “light smoker”

Nel marzo 2019 diagnosi di **adenocarcinoma polmonare su biopsia bronchiale** con adenopatie sovra e sottodiaframmatiche e **lesione encefalica frontale** singola.

PROFILO MOLECOLARE CON NGS: **KRAS G12C**

ALK, ROS1, RET, NTRK, METex14: **negativo**

PD-L1: **negativo**

Eseguito trattamento **radioterapico stereotassico** su lesione frontale (DFT 24 Gy).

Avviata **CT di I linea** sec schema CDDP/Pemetrexed x 4 cicli seguita da pemetrexed in mantenimento

Alla 1° TC TB di rivalutazione: **RP di malattia. SD encefalica.**

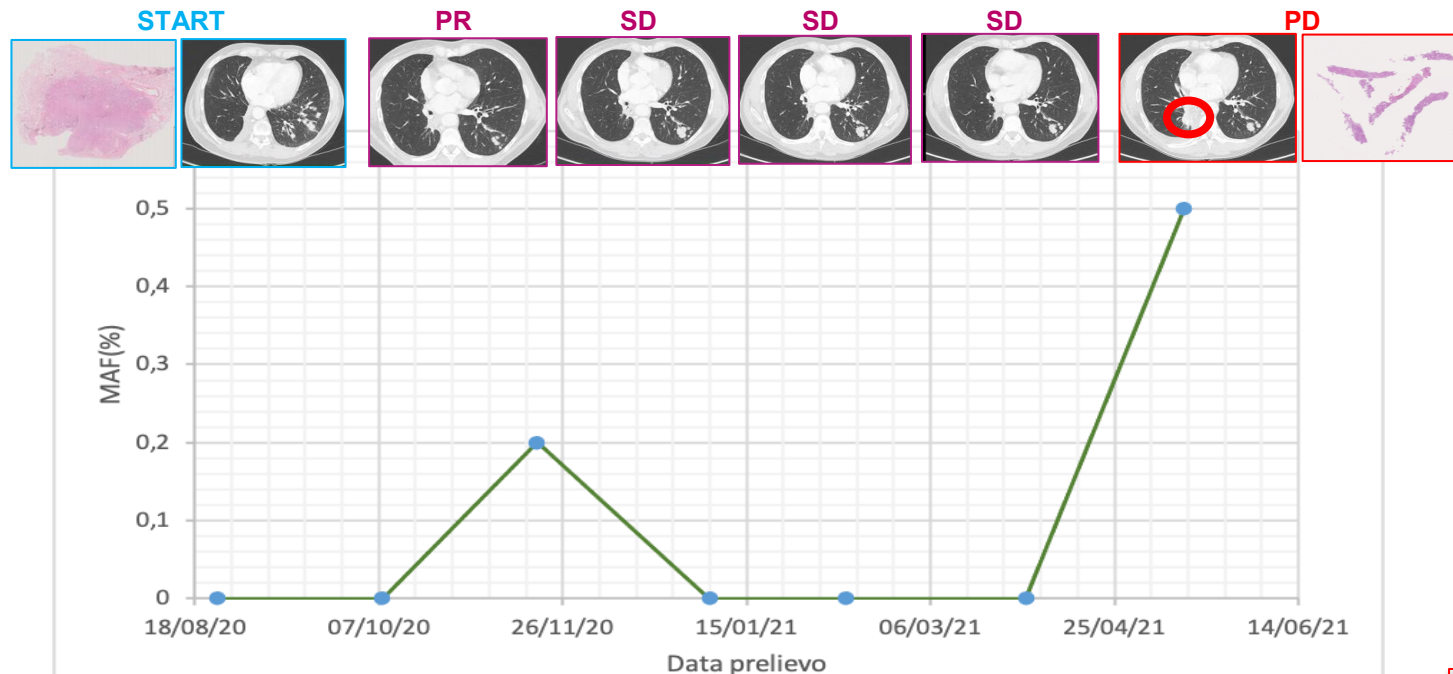
La paziente veniva sottoposta a intervento di **lobectomia inferiore dx + linfadenectomia (ypT2ypN2)**

Alla 2° TC TB di rivalutazione: **PD encefalica e SD polmonare**

Arruolata in protocollo 20190009, studio randomizzato in aperto di confronto tra **AMG 510** e docetaxel. Eseguito **Monitoraggio molecolare in longitudinale.**



ctDNA KRAS p.G12C



Limiti:

Biologici («tumor shedding»)

«Timing »
Progressione molecolare vs
rdiologica

Mancanza di una
«threshold» standardizzata

Disponibilità di trattamenti

Sostenibilità

ORIGINAL ARTICLE

Circulating tumor DNA dynamic variation predicts sotorasib efficacy in KRASp.G12C-mutated advanced non-small cell lung cancer



- ✓ Sebbene in alcuni settings è ancora sperimentale, la biopsia liquida è ormai entrata nella pratica clinica ed è in continua espansione per applicazioni e fluidi corporei utilizzati.
- ✓ Nel NSCLC il test su biopsia liquida non può ancora sostituirsi ai test su tessuto (ci sono aspetti che la biopsia liquida non può predire: IHC di markers predittivi come PDL1 e nuovi marcatori emergenti TROP2; trasformazione istologica tumorale).
- ✓ Test su matrici biologiche diverse devono essere eseguiti in ottica integrativa e complementare al fine di identificare al meglio tutte quelle alterazioni che hanno un risvolto clinico.



L'INTRODUZIONE della BIOPSIA LIQUIDA nella DIAGNOSTICA ONCOLOGICA



TORINO
8 GIUGNO 2026
AULA LENTI
Presidio Molinette



GRAZIE PER LA VOSTRA ATTENZIONE