

## **Profilazione genomica e approccio personalizzato, utopia o realtà futuribile? Un caso clinico**

**GIOVANNA ANTONELLI<sup>1</sup>, FRANCESCO FERRÀ<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Oncologia Medica, Ospedale San Vincenzo, Taormina.

*Pervenuto il 23 ottobre 2020. Accettato il 26 ottobre 2020.*

**Riassunto.** La gestione del paziente affetto da tumore del polmone in stadio avanzato è molto cambiata in questi anni, sempre più frequentemente si osservano pazienti giovani, lungo-sopravvissuti, con malattie cronicizzate e buone condizioni cliniche. Tali pazienti necessitano sempre più spesso di trattamenti complessi, integrati e personalizzati. Recentemente, la possibilità di ottenere informazioni più dettagliate sul profilo genomico della malattia ha consentito di caratterizzare meglio i pazienti, distinguendo tra quelli che potrebbero beneficiare di alcune terapie piuttosto che altre, per esempio chemioterapia, immunoterapia o terapie a target molecolare. Riportiamo di seguito il caso di un uomo di 44 anni, ECOG PS 0, affetto da tumore polmonare in stadio IV all'esordio, la cui storia clinica conferma quanto sia importante un approccio personalizzato. Si tratta di un paziente con diagnosi istologica di adenocarcinoma non oncogene addicted che, dopo una prima linea di trattamento, ottiene una buona risposta clinico-strumentale, cui segue una lunga fase di mantenimento per un totale di 52 settimane. Alla progressione il paziente mantiene nel tempo ottime condizioni cliniche tanto da effettuare ulteriori tre linee di terapia. Al termine di questa sequenza gli si propone di effettuare un test di profilazione genomica su campione tissutale di malattia (next generation sequencing - NGS). Lo studio effettuato, che includeva anche lo stato dei microsatelliti e il tumor mutational burden, ha permesso di individuare l'alterazione genetica ATM - Q2762fs\*6 (ataxia telangiectasia mutated - ATM) e di somministrare niraparib con impiego off-label. Pur uscendo fuori da un contesto di pratica clinica standard, il caso presentato può considerarsi un esempio di strategia futura in cui l'individuazione *ab initio* dell'alterazione genetica rara, driver per la malattia tumorale, potrebbe rappresentare il primo step nel percorso diagnostico-terapeutico. Migliorando le conoscenze sulle alterazioni genetiche e individuando le alterazioni più influenti per ogni singolo tumore solido, si potrà individuare la terapia più efficace, probabilmente con costi anche inferiori in termini di gestione globale del paziente.

**Parole chiave.** Alterazioni genetiche, ataxia-telangiectasia mutated, sequenziamento genetico di nuova generazione, tumore polmonare avanzato.

*Genomic profiling and personalized approach, utopia or future reality? A clinical case.*

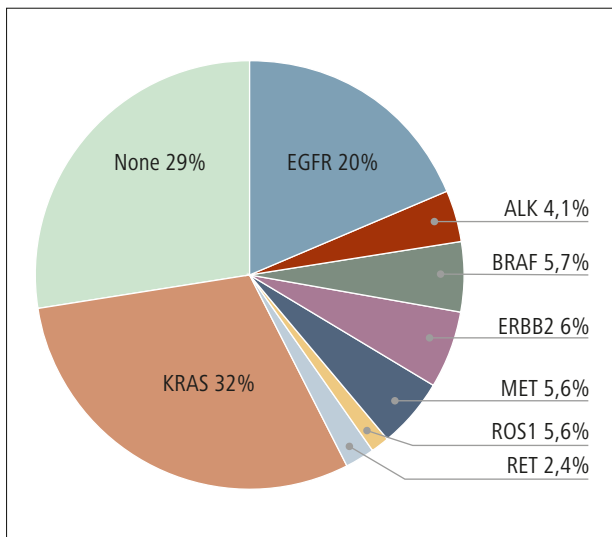
**Summary.** The management of advanced lung cancer has changed in recent years, young and long-surviving patients with chronic diseases and good clinical conditions are frequently observed. These patients need complex, integrated and personalized treatments. The possibility of obtaining more information about the genomic profile would allow the identification of patients who could benefit from chemotherapy rather than immunotherapy or molecular target therapies. Below is the case of a 44-year-old man, ECOG PS 0, with stage IV lung cancer. This clinical history confirms the importance of a personalized approach. The patient, with non-oncogene addicted lung adenocarcinoma, achieves a good clinical-instrumental response after a first line of treatment, followed by a long maintenance phase for a total of 52 weeks. Upon progression, the patient maintains excellent clinical conditions over time, and three additional lines of therapy are carried out. At the end of this sequence, we have proposed a genomic profiling test on a tissue sample of the disease (next generation sequencing - NGS). The study, which also included the state of microsatellites and tumour mutational burden, identified the genetic alteration ATM - Q2762fs\*6 (ataxia telangiectasia mutated, ATM) and for this reason we have administered niraparib for off-label use. Although this is not a standard clinical practice context, the case presented can be considered an example of a future strategy in which the *ab initio* identification of the rare genetic alteration, driver for tumour disease, could represent the first step in the diagnostic-therapeutic process. By improving knowledge on genetic alterations and identifying the most influential alterations for each single solid tumour, it will be possible to identify the most effective therapy, probably with even lower costs in terms of overall patient management.

**Key words.** Advanced NSCLC, ataxia-telangiectasia mutated, gene alterations, next generation sequencing.

### **Introduzione**

Il tumore del polmone è la principale causa di morte da cancro nel mondo, per l'85% dei casi è rappresentato istologicamente dal carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) con una prevalenza

per l'adenocarcinoma e a tutt'oggi, nella maggioranza dei casi, viene diagnosticato tardivamente in fase localmente avanzata o metastatica<sup>1</sup>. La prognosi del NSCLC dipende dallo stadio, dal performance status e dalle comorbidità del paziente, a questi fattori se ne sono aggiunti altri molecolari (figura 1) prognostici, predittivi di risposta e bersaglio di terapie mirate. La



**Figura 1.** Frequenza delle alterazioni genetiche riscontrate nel tumore polmonare NSCLC.

prognosi della malattia avanzata è anche dipendente dalla determinazione di PD-L1<sup>2</sup>, infatti nelle neoplasie prive di alterazioni geniche suscettibili di terapie a bersaglio molecolare, l'espressione di questa proteina è di fondamentale importanza nella scelta del trattamento in prima linea e nelle linee successive. La disponibilità di farmaci quali gli inibitori delle tirosinchinasi per pazienti con mutazione di EGFR, ROS 1 e traslocazione di ALK, e più recentemente gli anti BRAF e anti ERBB2 così come gli anti MET ancora in fase di approvazione in Europa, e lo sviluppo e l'impiego degli inibitori del checkpoint immunitario, hanno diversificato il trattamento del tumore polmonare nello stadio avanzato e reso più articolato il processo decisionale del clinico<sup>3-6</sup>. Se questo è lo stato di fatto, in realtà lo sviluppo di tecnologie sempre più avanzate consente di ottenere profili genomici più completi che comprendono informazioni che vanno oltre le possibilità terapeutiche attuali. Rispetto alle tecniche come l'ibridazione *in situ* in fluorescenza (FISH) e l'immunoistochimica (IHC) comunemente impiegate per definire il profilo molecolare, infatti, il sequenziamento genetico di nuova generazione (next generation sequencing - NGS) basata su hybrid capture rappresenta una tecnica che consente di sequenziare le intere regioni codificanti di centinaia di geni notoriamente correlati al tumore, garantendo con un'alta sensibilità l'identificazione di alterazioni comuni e rare. L'utilizzo della NGS nell'ambito dei tumori polmonari rappresenta una metodica estremamente utile, in modo particolare in quei casi in cui non è stato possibile individuare una alterazione genetica attivante con i test di routine e in cui le condizioni cliniche del paziente consentano scelte terapeutiche più "aggressive", ovvero più linee di trattamento o inserimento in trial clinici di fase 1-2. In modo particolare nell'adenocarcinoma polmonare, dopo il plateau raggiunto con l'impiego di doppie

a base di platino per la malattia avanzata, si è assistito a un cambiamento storico con importanti ripercussioni sulla sopravvivenza globale. Là dove possibile ampliare ulteriormente la gamma delle alterazioni genetiche consentirebbe alternative a pazienti che al momento farebbero ancora solo la chemioterapia<sup>7,8</sup>.

## Presentazione del caso

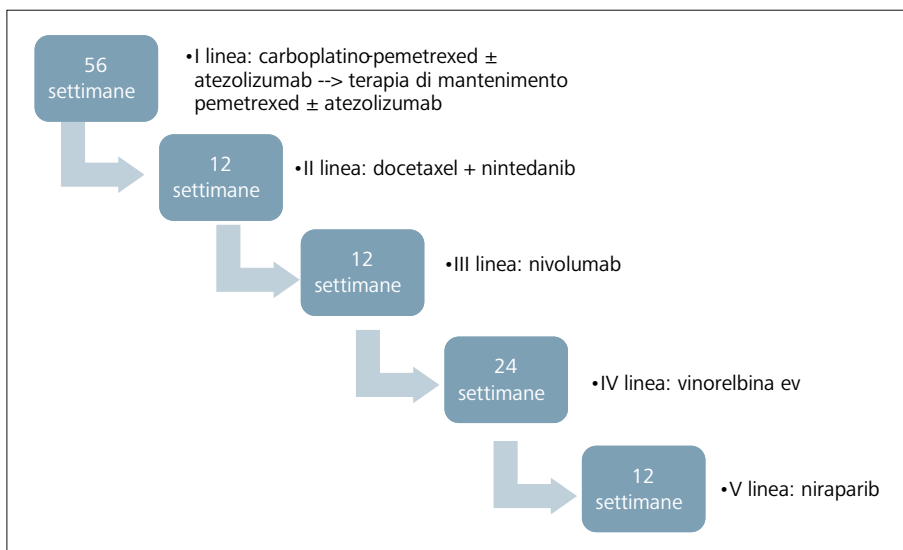
Un uomo di 44 anni, ECOG PS 0, giunge alla nostra osservazione nel marzo del 2017 a seguito di comparsa di adenopatie della regione sovraclaveare francamente sospette in senso oncologico. In anamnesi: forte fumatore e potus, non altre patologie di rilievo. Esegue stadiazione con TC encefalo-collo-torace-addome con mdc che evidenzia formazione neoplastica all'apice del polmone di destra di 3,7 cm, metastasi linfonodali in ambito toracico, in regione sovraclaveare bilateralmente, in addome all'ilo renale di sinistra. Metastatizzazione a entrambi i surreni, ai reni, all'adipe retroperitoneale. Encefalo negativo per lesioni secondarie. Si conclude per stadio IV, cT2aN3M1b. Concomita trombosi neoplastica alla vena renale di sinistra. Viene effettuata biopsia percutanea TC guidata della lesione polmonare con diagnosi di adenocarcinoma polmonare EGFR wild type, ALK non traslocato. Il paziente viene arruolato in studio clinico di fase III randomizzato con carboplatino/pemetrexed ± atezolizumab; la determinazione di PD-L1 viene effettuata da laboratorio centralizzato e rimane nota solo agli sperimentatori per la stratificazione dei pazienti. Da aprile 2017 il paziente riceve 4 cicli di terapia ottenendo una risposta parziale >50% secondo i criteri RECIST e per tale motivo il paziente intraprende una fase di mantenimento con pemetrexed ± atezolizumab. Il paziente mantiene la risposta clinica fino a giugno 2018, quindi si osserva una progressione di malattia a livello della lesione dell'apice polmonare. In seconda linea si propone trattamento di combinazione con docetaxel e nintedanib con progressione dopo 12 settimane. Per l'insorgenza di dolore all'arto inferiore di sinistra con difficoltà alla deambulazione effettua scintigrafia ossea che documenta accumulo del radiofarmaco a carico della diafisi e dell'epifisi distale del femore di sinistra da riferire in prima ipotesi a lesione secondaria. Successiva radiografia mirata e TC del femore di sinistra confermano la presenza di lesione metastatica al III distale del femore. Si esegue un intervento di stabilizzazione con chiodo endomidollare bloccato, seguito da radioterapia locoregionale di consolidamento. Si procede con nivolumab in III linea, somministrato ogni 14 giorni per tre mesi; malgrado la progressione di malattia a livello polmonare e linfonodale si assiste a un recupero del performance status con risoluzione del dolore all'arto inferiore e completa ripresa della deambulazione. Il paziente è molto motivato e desidera ricevere un trattamento pur consapevole della modestissima possibilità di controllo della malattia di una quarta linea. In considerazione di quanto effettuato in precedenza si pro-

pone vinorelbina ev che viene associata ad acido zoledronico e con la quale si ottiene una stabilizzazione di malattia della durata di sei mesi. La progressione, evidenziata alla TC, riguarda le stazioni linfonodali addominali interaortocavali. Si tratta di tre pacchetti distinti anteriormente a L1, L2, L3 che sono causa di dolore non responsivo a steroide e oppioide. Si decide di effettuare un trattamento radiante palliativo a tale livello con finalità analgesiche. Nel frattempo si ha la possibilità di inserire il paziente in un progetto divisionale che consente, tramite FoundationONE CDx, l'analisi del profilo genomico. Obiettivo: la determinazione dell'instabilità dei microsatelliti, del tumor mutational burden e di alterazioni genetiche potenzialmente collegati a trattamenti approvati o in fase di sperimentazione. Le informazioni che si ottengono confermano l'assenza di alterazioni genetiche attivanti nella patologia tumorale polmonare ovvero: EGFR, ALK, BRAF, MET, RET, ERBB2, ROS1. Si osserva stabilità dei microsatelliti e una frequenza di 4 mutazioni/Mb. Dei 324 geni analizzati si evidenzia l'amplificazione di KRAS e l'alterazione di ATM - Q2762fs\*6 collegata all'utilizzo di diversi PARP inibitori orali. Valutata la peculiarità del caso, paziente giovane con ECOG PS 1, tempo dalla diagnosi >30 mesi, si è deciso di richiedere niraparib con impiego off-label. Il paziente informato dell'assenza di approvazione di tale farmaco per la patologia polmonare accetta il trattamento, in assenza di alternative terapeutiche valide. Niraparib è somministrato alla dose di 100 mg die per os per 12 settimane consecutive; il trattamento gravato da diarrea G1, astenia G2, iporessia G1 viene sospeso per progressione di malattia a livello cerebrale. Dopo radioterapia panencefalica il paziente viene assistito per la terapia di supporto per ulteriori 5 mesi fino all'exitus che avviene in settembre 2020.

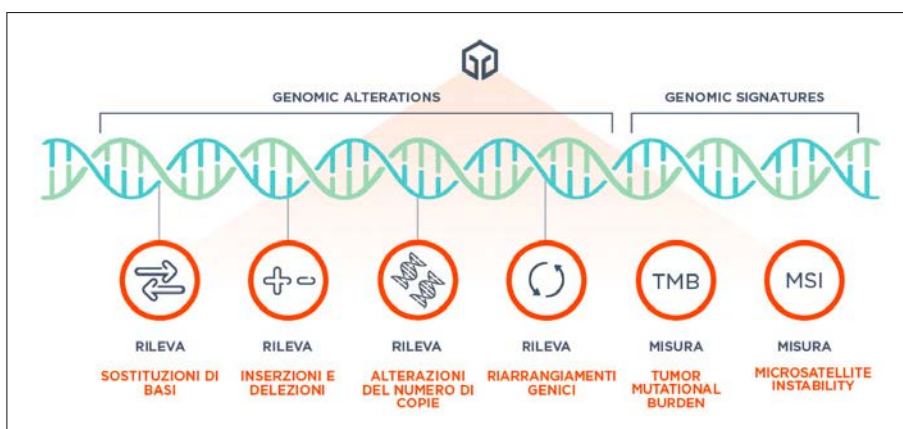
## Risultati e discussione

Da aprile 2017, periodo della prima diagnosi, a settembre 2020 trascorrono due anni e cinque mesi in cui il paziente effettua ben 5 linee di trattamento, mantenendo un performance status che varia da 0 a 1. Seguendo le linee guida internazionali<sup>9</sup> in un paziente affetto da adenocarcinoma stadio IV, che non presenta alterazioni genetiche attivanti, si deve valutare lo stato di PD-L1 e a seconda della percentuale di espressione è possibile attivare una immunoterapia (pembrolizumab in caso di tumor proportion score TPS >50%), o una terapia di combinazione chemioterapia/immunoterapia (pembrolizumab/carboplatino/pemetrexed, atezolizumab/carboplatino/paclitaxel/bevacizumab, o atezolizumab/carboplatino/nab-paclitaxel in caso di TPS <50%). All'epoca del nostro paziente lo schema di combinazione era in corso di studio e l'inserimento in un trial clinico ha rappresentato un'opportunità, sebbene lo studio fosse randomizzato a ricevere atezolizumab vs placebo in combinazione a chemioterapia. La progression free survival (PFS) ottenuta dal nostro paziente con la prima linea di trattamento ha confermato

il dato di letteratura riguardo al ruolo della terapia di mantenimento<sup>10</sup>. Ampiamente discusso è invece il ruolo delle linee successive; infatti sebbene sia codificato dalle linee guida internazionali quello della seconda e terza linea in pazienti selezionati con buon PS, non è così per la quarta o linee successive. Diversi sono gli studi pubblicati con l'obiettivo di rispondere a questo quesito. Un'analisi retrospettiva condotta su 383 pazienti<sup>11</sup> affetti da tumore polmonare avanzato ha analizzato la correlazione tra sopravvivenza globale (OS), caratteristiche clinico-patologiche dei pazienti e linee di trattamento, concludendo che i pazienti con buon PS che siano progrediti alla III linea traggono un beneficio in termini di OS e controllo della malattia (disease control rate - DCR) anche dalla IV linea di trattamento, rispetto ai pazienti con PS<sub>≥</sub>2. Seguendo i dati della letteratura, il nostro giovane paziente con buon PS ha proseguito la sequenza di trattamenti ottenendo un ottimo DCR (figura 2) anche con la IV linea di chemioterapia, ma alla progressione l'assenza di valide prospettive divergeva con il desiderio del paziente di insistere nel trattamento della malattia. La possibilità di inserire il paziente in un progetto divisionale che prevedeva la valutazione del profilo genomico tramite la piattaforma FoundationONE CDx è stata vissuta come un'ulteriore opportunità. Avendo a disposizione il tessuto dalla biopsia polmonare eseguita alla diagnosi, è stato possibile ottenere un ampio studio del genoma tumorale. Infatti con FoundationONE CDx è stato possibile analizzare, su una lista di 324 geni, quattro alterazioni genomiche, ovvero sostituzioni di basi, inserzioni e delezioni, alterazioni del numero di copie e riarrangiamenti genici. Inoltre, si sono potuti verificare selezionati riarrangiamenti su 36 geni ma anche misurare il tumor mutation burden, la perdita di eterozigosi e l'instabilità dei microsatelliti (figura 3). Il report ottenuto ha dato informazioni riguardanti la malattia, la correlazione a farmaci approvati in Europa per la patologia oggetto di studio, ovvero l'adenocarcinoma polmonare, ma anche l'eventuale disponibilità di farmaci approvati per quella determinata alterazione genetica in altri tumori solidi (tabella 1). Le informazioni si estendevano anche ad alterazioni genetiche per le quali al momento non era possibile avere un'opzione terapeutica o un trial clinico disponibile. Nel nostro paziente si è evidenziata l'amplificazione di KRAS e l'alterazione di ATM - Q2762fs\*6. Per quanto riguarda l'amplificazione di KRAS, come è noto, non sono disponibili farmaci approvati, ma ci sono evidenze cliniche che suggeriscono una sensibilità agli inibitori di CDK4/6, tipo abemaciclib, o inibitori di MEK che sono oggetto di studi di fase I-II nel NSCLC (NCT03099174/NCT02964689). Per l'alterazione di ATM non ci sono farmaci validati nel tumore polmonare ma diverse molecole (niraparib, olaparib, rucaparib, talazoparib) sono state approvate in Europa per altri tumori solidi; infatti la perdita di funzione di ATM può predire la sensibilità ai PARP inibitori. La mutazione di ATM è presente nel tumore polmonare con un'incidenza compresa fra 8-11% per l'adenocarcinoma e 5% per il carcinoma squamocellulare dove sembrerebbe correlarsi a una peggiore prognosi<sup>12</sup>. Diversi sono gli



**Figura 2.** Sequenza terapeutica dalla I linea alle linee successive e durata delle terapie.



**Figura 3.** FoundationONE CDx: 4 classi di alterazioni genomiche e biomarcatori associati alla risposta all'immunoterapia.

**Tabella 1.** Parte del Report FoundationONE CDx relativo al paziente esaminato.

Genomic signatures	Actionability	
Microsatellite status – MS-stable	No therapies or clinical trials. see Genomic Signatures section	
Tumor mutational burden – 4 Muts/Mb	No therapies or clinical trials. see Genomic Signatures section	
Gene alterations	THERAPIES APPROVED IN THE EU (IN PATIENT'S TUMOR TYPE)	THERAPIES APPROVED IN THE EU (IN OTHER TUMOR TYPE)
ATM – Q2762fs*6	None	Niraparib Olaparib Rucaparib Talazoparib
10 trials		
KRAS – G12C, amplification	None	None
10 trials		

studi in corso con i PARP inibitori nel NSCLC; si tratta di trial di fase I o II ma anche di fase III dopo immunoterapia con pembrolizumab, dove olaparib viene confrontato a pemetrexed nella fase di mantenimento (NCT03976323), di cui dovremo attendere i risultati. Sulla base di quanto ottenuto con i PARP inibitori in al-

tri tumori solidi (tumori ginecologici, della mammella, dello stomaco, vescica e rene) si è deciso di richiedere niraparib con impiego off-label. Purtroppo la durata della risposta e il clinical benefit sono stati modesti con progressione di malattia a livello cerebrale e successiva sospensione della terapia sistemica.

## Conclusioni

La scelta praticata in questo paziente, certamente, esce fuori dalla pratica clinica standard, ed è dettata da un quadro clinico caratterizzato da una lunga sopravvivenza, giovane età e buon PS, però può rappresentare lo spunto per alcune considerazioni. In molti casi alcune mutazioni determinanti per la scelta terapeutica possono sfuggire con le metodiche standard, a volte non è chiaro cosa andare a ricercare, non tutte le piattaforme NGS analizzano il genoma ampiamente ed è importante distinguere fra valutazioni di cluster di geni (NGS Hotspot) rispetto a un'analisi genomica più ampia che offre un approccio di Comprehensive Genomic Profiling (CGP) correlato al tumore. Numerosi gli studi volti alla creazione di un database clinico-genomico di nuova concezione e in continuo aggiornamento, che includa dati clinici dei pazienti affetti da tumore polmonare collegati ai risultati del profilo genomico completo, con obiettivo di replicare correlazioni genomiche consolidate con gli esiti clinici, utili per la generazione di nuove ipotesi di cura<sup>13</sup>. Attualmente i limiti per un impiego diffuso di un CGP sono legati a problemi logistici e amministrativo-economici, ma i dati pubblicati confermano la fattibilità e la potenziale utilità nella pratica clinica lasciando immaginare un utilizzo ordinario in un prossimo futuro.

*Dichiarazione:* questo lavoro è stato realizzato grazie a un contributo non vincolante di Roche.

*Conflitto di interessi:* gli autori dichiarano l'assenza di conflitto di interessi.

## Bibliografia

1. Clark SB, Alsubait S. Non Small Cell Lung Cancer. [Updated 2020 Oct 1]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-. Disponibile su: <https://bit.ly/2I51Dwl> [ultimo accesso 3 novembre 2020].
2. Bodor JN, Bumber Y, Borghaei H. Biomarkers for immune checkpoint inhibition in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Cancer* 2020; 126: 260-70.
3. Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, et al. Molecular testing for selection of patients with lung cancer for epidermal growth factor receptor and anaplastic lymphoma kinase tyrosine kinase inhibitors: American Society of Clinical Oncology endorsement of the College of American Pathologists/International Association for the Study of Lung Cancer/Association for Molecular Pathology Guideline. *J Clin Oncol* 2014; 32: 3673-9.
4. Shaw AT, Solomon BJ. Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2015; 372: 683-4.
5. Gautschi O, Pauli C, Strobel K, et al. A patient with BRAF V600E lung adenocarcinoma responding to vemurafenib. *J Thorac Oncol* 2012; 7: e23-4.
6. Paik PK, Drilon A, Fan P-D, et al. Response to MET inhibitors in patients with stage IV lung adenocarcinomas harboring MET mutations causing exon 14. skipping. *Cancer Discov* 2015; 5: 842-9.
7. Lim SM, Kim EY, Kim HR, et al. Genomic profiling of lung adenocarcinoma patients reveals therapeutic targets and confers clinical benefit when standard molecular testing is negative. *Oncotarget* 2016; 7: 24172-8.
8. Suh JH, Johnson A, Albacker L, et al. Comprehensive genomic profiling facilitates implementation of the national comprehensive cancer network guidelines for lung cancer biomarker testing and identifies patients who may benefit from enrollment in mechanism-driven clinical trials. *Oncologist* 2016; 21: 684-91.
9. Hanna NH, Schneider BJ, Temin S, et al. Therapy for stage iv non-small-cell lung cancer without driver alterations: ASCO and OH (CCO) Joint Guideline Update. *J Clin Oncol* 2020; 38: 1608-32.
10. Patel JD, Paz-Ares L, Zinner RG, Barlesi F, Koustenis AG, Obasaju CK. Pemetrexed continuation maintenance phase 3 trials in nonsquamous, non-small-cell lung cancer: focus on 2-year overall survival and continuum of care. *Clin Lung Cancer* 2018; 19: e823-30.
11. Choi YW, Ahn MS, Jeong GS, et al. Is fourth-line chemotherapy routine practice in advanced non-small cell lung cancer? *Lung Cancer* 2015; 87: 155-61.
12. Ding L, Getz G, Wheeler DA, et al. Somatic mutations affect key pathways in lung adenocarcinoma. *Nature* 2008; 455: 1069-75.
13. Singal G, Miller PG, Agarwala V, et al. Association of patient characteristics and tumor genomics with clinical outcomes among patients with non-small cell lung cancer using a clinicogenomic database. *JAMA* 2019; 321: 1391-9.

Indirizzo per la corrispondenza:

Dott. Giovanna Antonelli

Oncologia Medica

Ospedale San Vincenzo

Contrada Sirina,

98039 Taormina (Messina)

E-mail: [antonelli@oncologiatormina.it](mailto:antonelli@oncologiatormina.it)