La biopsia liquida: nuovi orizzonti nella diagnostica oncologica

Data 11 febbraio 2018
Categoria oncologia

Nuove tecniche consentirebbero di identificare con largo anticipo la presenza e l'invasività delle neoplasie maligne.

Da diversi anni ormai ci serviamo delle tecniche di analisi genetica per identificare precocemente il paziente a rischio di sviluppare forme ereditarie di tumori maligni (ad esempio il carcinoma mammario ereditario BRCA1-2) ed altre condizioni patologiche eredo-familiari ad alto rischio (ad esempio la Poliposi adenomatosa familiare, MEN 1-2). Queste metodiche consentono al paziente di prendere coscienza della propria condizione di rischio e al medico di proporre adeguate misure di prevenzione.
Attualmente sono in sperimentazione tecniche che consentono di identificare la presenza di un tumore primitivo in stadi precoci e di conoscere con largo anticipo l'invasività e la risposta terapeutica di una neoplasia solida già presente mediante un semplice prelievo ematico, o addirittura un campione di saliva.
Nel 2016, l'Università della California di Los Angeles ha presentato un prototipo chiamato Efirm (electric field-induced release and measurement) capace di rilevare, in soli 10 minuti, in un campione di saliva ,la presenza di DNA tumorale circolante, in particolare i biomarkers del Carcinoma polmonare a piccole cellule . Perciò, in caso di nodulo sospetto all'RX torace potremmo decidere nel nostro ambulatorio, di eseguire il test in pochi minuti per avere una rapida conferma diagnostica. I test su tale prototipo sono in svolgimento in Cina.
Nello stesso 2016 la FDA ha approvato il primo test per isolare, su sangue periferico, una mutazione singola in pazienti con Carcinoma polmonare non-a piccole cellule allo scopo di guidare la terapia antitumorale .
Sono i primi passi di quella che, impropriamente, viene definita " **biopsialiquida** " . Si tratta di una procedura minimamente invasiva che consiste in un prelievo di liquido biologico, più frequentemente sangue, su cui è possibile eseguire analisi di materiale neoplastico (cellule tumorali circolanti, DNA tumorale, proteine o RNA). Secondo un documento dell'AIOM la definizione è impropria in quanto questa metodica non permette di fare diagnosi di neoplasia, che deve essere sempre posta in base alla biopsia tissutale, ma consente di identificare markers prognostici o predittivi di malattia neoplastica .
Le più note metodiche di biopsia liquida messe a punto fino ad oggi, la tecnologia ISET e il metodo CancerSEEK , sono analisi su campioni di sangue e sono rivolte rispettivamente allo studio delle Cellule Tumorali Circolanti (CTC) e del DNA tumorale circolante.
La tecnologia ISET ricerca le cellule tumorali che, staccandosi dalla massa primitiva o da metastasi, guadagnano il sangue venoso periferico (CTC). Presentata come il metodo che avrebbe rivoluzionato il futuro dell'oncologia, in realtà ha scatenato non poche polemiche, sia da un punto di vista scientifico che etico . Brevettata presso l'Universitè Paris-Descartes e l'Istituto Nazionale di Sanità e della Ricerca Mondiale (INSERM), ISET consente di isolare fino a una CTC in 10 ml di sangue venoso . Le cellule di molti tumori solidi come il carcinoma prostatico, quello della mammella e del colon retto, hanno un diametro maggiore rispetto a quello dei leucociti e degli eritrociti, perciò possono essere isolate per filtrazione: i pori del filtro ISET hanno infatti un diametro compreso tra i 5 e gli 8 micron, quanto quello di un piccolo linfocita. Tecnicamente il metodo messo a punto risulta ancora impreciso, poiché, a seguito della fase di filtrazione , occorre ulteriormente isolare le rare CTC dai normali linfociti e successivamente, mediante la microscopia ottica, l'analisi molecolare e l'immuno-istochimica, identificare i pattern cellulari patologici, a patto che nel corso dei vari passaggi non ci siano state alterazioni delle CTC stesse.
Il metodo CancerSEEK, presentato recentemente da un team di ricercatori del National Health Institute, consiste in un pannello costituito da 8 proteine tumorali specifiche e 16 segmenti genici, che consente di identificare, mediante un campione di sangue venoso, otto diversi tipi di neoplasia tra cui il carcinoma dell'ovaio, del pancreas e del fegato che rappresentano al momento quelli più difficilmente individuabili anche con la tecnologia ISET. Nello studio del team sono stati valutati 1005 pazienti con tumore primitivo già noto e non metastatico. CancerSEEK ha dimostrato una capacità di individuare il tumore primitivo del 70% per tutti gli stadi, ma solo del 43% per lo stadio I. Sono stati testati anche 812 soggetti sani con anamnesi negativa per pregressa neoplasia, ma i risultati sono incerti.

I limiti delle metodiche
Innanzitutto sono in grado di fornire solo un'indicazione di presenza o assenza di alterazioni suggestive di malattia neoplastica. Pertanto, ai fini della diagnosi e della stadiazione clinica, non è possibile prescindere dalla biopsia tissutale e dalle tecniche di biologia molecolare già in possesso dell'anatomopatologo.
In secondo luogo, se l'analisi del DNA circolante non dovesse rilevare alterazioni, il risultato potrebbe non essere affidabile e bisognerebbe in ogni caso eseguire la biopsia standard.
Infine, sempre secondo l'AIOM, solo una parte di pazienti oncologici presentano CTC e spesso in numero talmente esiguo da risultare difficile e costoso il loro isolamento.
Al momento, in Italia, l'impiego clinico della biopsia liquida è limitato allo studio delle mutazioni di EGFR, il marker superespresso dalle cellule del Carcinoma polmonare non a piccole cellule. L'Istituto Europeo di Oncologia offre ad esempio ai pazienti affetti da Carcinoma polmonare, già in trattamento con inibitori dell'EGFR, l'analisi del DNA tumorale circolante per l'individuazione della mutazione T790M, allo scopo di adeguare la terapia al bersaglio molecolare , tutto ciò mediante un semplice prelievo venoso e con un costo per il SSN è di circa 500 euro: un risparmio, se si pensa di somministrare al paziente una terapia efficace, che riduce le ospedalizzazioni e le complicanze.
In futuro tale metodica potrebbe essere utilizzata per caratterizzare le CTC nel caso di metastasi di tumore a sede primitiva sconosciuta. Ci si aspetta inoltre di poter estendere le applicazioni oggi in uso per il Carcinoma non a piccole

cellule, anche ad altri tumori notoriamente più aggressivi come il carcinoma del pancreas, dell'ovaio,del fegato ecc.. .
Impiegare questa metodica come metodo di screening nei pazienti sani, senza storia di pregressa neoplasia, ad oggi risulta invece a dir poco pionieristico. Al di là dei costi, che per test in grado di individuare cellule cancerose o frammenti di genoma tumorale vanno dai 500 ai 2000 euro , il vero limite sono soprattutto le false aspettative dei pazienti. Non è infatti possibile formulare un algoritmo diagnostico terapeutico affidabile in quanto, laddove il risultato di un campione ematico risulti negativo, non potremmo escludere con certezza la presenza di un tumore primitivo in fieri, poiché non ci sono dati univoci sulla sensibilità e specificità di tali test. Laddove invece il risultato sia positivo ma alle indagini strumentali non si rilevi traccia di neoplasia, sorgerebbero problemi riguardo i comportamenti terapeutici e in generale le risposte da fornire al paziente.

Conclusioni: le metodologie brevemente descritte sono sicuramente interessanti e promettenti, principalmente per i pazienti con neoplasia già nota, proponendosi come metodiche complementari alle procedure già in uso, ma ai fini dello screening tumorale risultano ancora troppo costose e non ancora supportate da prove di efficacia tali da consentirne un utilizzo su larga scala nella pratica clinica.
In epoca di appropriatezza prescrittiva e di shared decision making il medico deve essere più che mai obiettivo ed accurato nell'offrire al paziente l'iter diagnostico-terapeutico ottimale e condiviso per la propria condizione.

Margherita Francini e Giampaolo Collecchia

Bibliografia

http://salute24.ilsole24ore.com/articles/18512
FDA approves first blood test to detect gene mutation associated with non-small cell lung cancer. FDA. 1 June 2016
Husain H, Velculescu VE. Cancer DNA in the Circulation. The Liquid Biopsy. JAMA 2017. 318: 1272-74
Inno A e Metro G. La biopsia liquida. Informazioni per i pazienti. AIOM 2017
Laget S et al. Technical Insight into Highly Sensitive Isolation and Molecular Characterization of Fixed and Live Circulating Tumor Cells for Early Detection of Tumor Invasion. PLos ONE 12(1):e0169427.doi: 10.1371/journal.pone.0169427
https://directorsblog.nih.gov/2018/01/30/new-liquid-biopsy-shows-early-promise-in-detecting-cancer/
http://www.sanitainformazione.it/salute/metodo-iset-reazioni-comunita-scientifica/
Pailler E et al. Method for semi-automated microscopy of filtration-enriched circulating tumor cells. BMC Cancer 2016; 16:477
https://www.ieo.it/it/PER-I-PAZIENTI/Cure/Tumori-al-polmone/Biopsia-liquida/
Obermayr E, Bednarz-Knoll N, Orsetti B, Weier HU, Lambrechts S, Castillo-Tong DC, et al. Circulating tumor cells: potential markers of minimal residual disease in ovarian cancer? a study of the OVCAD consortium. Oncotarget. 2017; 8(63):106415-28.
Liquid Biopsy Technique May Allow Early Screening. Cancer Discov. 2017; 7(11): 1207. DOI:10.1158/2159-8290.CD-NB2017-125

http://www.corriere.it/salute/sportello_cancro/18_febbraio_02/biopsia-liquida-diagnosticare-tumori-82e40aa0-0842-11e8-bfab-d44c18e4815f.shtml?refresh_ce-cp