

FASTnet: una piattaforma nazionale per il test EGFR a favore del paziente e del clinico

FASTnet: a national platform for EGFR testing in favour of the patient and the clinician

Riassunto

Nel corso dell'ultimo decennio, si è assistito allo sviluppo di una nuova classe di farmaci, definiti "a bersaglio molecolare", in grado di bloccare in maniera specifica i processi coinvolti nella progressione tumorale. Pertanto, l'obiettivo di disegnare un piano terapeutico individuale per ogni paziente, sulla base di specifiche alterazioni del singolo tumore, sta diventando una realtà clinica.

Il carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) rappresenta la forma più frequente di tumore del polmone, rappresentando circa l'80% delle neoplasie polmonari. Grazie alla scoperta del coinvolgimento del gene EGFR nella patogenesi e progressione tumorale e, successivamente, di mutazioni attivanti a carico del gene stesso (EGFR-M+), è stato possibile sviluppare ed introdurre nella pratica clinica farmaci a bersaglio molecolare, quali gli inibitori del dominio tirosin-chinasico (TKI) dell'EGFR. Il trattamento di I linea con farmaci TKI è attualmente considerato la migliore terapia per pazienti con NSCLC metastatico o localmente avanzato EGFR-M+. Pertanto, risulta indispensabile valutare lo stato mutazionale di EGFR per l'individuazione della migliore strategia terapeutica.

Il network EGFR FASTnet, avviato nel 2010 con il supporto di AstraZeneca, è una rete nazionale al servizio dei clinici che permette lo scambio di materiale biologico, di informazioni clinico-patologiche e report diagnostici tra oncologi, patologi e laboratori di riferimento, attraverso un sito web dedicato (www.egfrfastnet.it), un call-center ed una rete di corrieri.

Da luglio 2010, sono state completate 12.893 schede FASTnet ed attualmente 677 oncologi, 153 patologi e 25 analisti sono iscritti al network e contribuiscono, ciascuno per la sua parte, al flusso di lavoro.

Il database di EGFR FASTnet è nella disponibilità dell'Associazione Italiana di Oncologia Medica (AIOM) e della Società Italiana di Anatomia Patologica e Citologia diagnostica - Divisione Italiana della *International Academy of Pathology* (SIAPEC-IAP) e rappresenta una importante fonte di informazione sulla patologia molecolare del carcinoma polmonare nel nostro paese.

Summary

During the last decade, new drugs able to interfere with specific neoplastic processes have been developed. Therefore, the possibility of creating a personalized therapeutic scheme, based on the molecular alterations activated in each single tumor, is becoming a clinical reality.

Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) is the most common type of lung tumor, representing about 80% of pulmonary cancers. Following the discovery of the role of EGFR gene in tumor growth and development and, later, of activating mutations of this gene, new targeted therapies have been introduced in clinical practice, namely inhibitors of the EGFR tyrosin-kinase domain (TKI).

First line treatment with TKIs is considered the optimal therapy in patients with metastatic or locally advanced EGFR-M+ NSCLC. For this reason, it is crucial to evaluate EGFR mutational status to identify the most suitable therapeutic approach.

The EGFR FASTnet program, started in 2010 with the support of AstraZeneca, is a national network designed to facilitate the exchange of biological material, clinico-pathological data and diagnostic reports between medical oncologists, primary pathologists and referral laboratories through a dedicated website (www.egfrfastnet.it), a call-center and a courier.

Starting from July 2010, 12.893 FASTnet forms have been completed and, up to date, 677 oncologists, 153 primary pathologists and 25 analysts are registered to the network and give their active contribute to the mutational analysis workflow.

The Italian Association of Medical Oncology (AIOM) and the Italian Society of Pathology and Cytopathology – Italian division of International Academy of Pathology (SIAPEC-IAP) have full access to the anonymous EGFR FASTnet database that provides relevant information on molecular pathology in lung cancer in Italy.



Francesca Fenizia¹
Carmine Pinto²
Gaetano De Rosa³
Massimo Barberis⁴
Antonio Marchetti⁵
Nicola Normanno^{1,6} (foto)

¹Laboratorio di Farmacogenomica, INT-Fondazione Pascale-Centro di Ricerche Oncologiche di Mercogliano (CROM), Mercogliano (AV); ²Unità di Oncologia Medica, Ospedale Maggiore, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma; ³Dipartimento di Scienze Biomorfologiche e Funzionali, Università "Federico II", Napoli; ⁴Divisione di Istopatologia e Diagnostica Molecolare, IEO-Istituto Europeo di Oncologia, Milano; ⁵Centro di Medicina Molecolare Predittiva, Università degli Studi "G. d'Annunzio" Chieti – Pescara; ⁶Struttura Complessa di Biologia Cellulare e Bioterapie, INT-Fondazione Pascale, Napoli

Parole chiave

Terapia personalizzata • FASTnet • Mutazioni EGFR • NSCLC

Key words

Personalised therapy • FASTnet • EGFR mutations • NSCLC

Ricevuto il 6-11-2014.

Accettato il 21-12-2014.



Nicola Normanno
Struttura Complessa di Biologia Cellulare e Bioterapie
INT-Fondazione Pascale
via Mariano Semmla
80131 Napoli
nicnorm@yahoo.it

Introduzione

Nel corso dell'ultimo decennio, la medicina personalizzata (*targeted therapy*) ha conosciuto un notevole sviluppo, grazie soprattutto ad un incremento delle conoscenze riguardanti la biologia molecolare dei tumori e i loro meccanismi di crescita. Queste informazioni hanno infatti consentito lo sviluppo di una nuova classe di farmaci, definiti "a bersaglio molecolare", in grado di bloccare in maniera specifica i processi coinvolti nella progressione tumorale. Pertanto, l'obiettivo di disegnare un piano terapeutico individuale per ogni paziente, basato sulle specifiche alterazioni che fanno parte del corredo genetico del singolo tumore, sta finalmente trovando una sua applicazione clinica.

L'obiettivo di disegnare un piano terapeutico individuale per ogni paziente sta trovando una sua applicazione clinica.

Il carcinoma del polmone non a piccole cellule (NSCLC, Non Small Cell Lung Cancer) è la forma più frequente di neoplasia polmonare, rappresentandone circa l'80% dei casi¹. Recenti sviluppi volti a comprendere i meccanismi molecolari alla base di questa patologia hanno portato alla progettazione di trattamenti specifici, alcuni dei quali si sono poi dimostrati clinicamente efficaci. In particolare, i primi farmaci a bersaglio molecolare ad essere stati approvati per l'impiego clinico nel NSCLC sono stati gli inibitori di tirosino chinasi del recettore per il fattore di crescita dell'epidermide (EGFR, Epidermal Growth Factor Receptor).

Terapie anti-EGFR nel carcinoma polmonare

EGFR è un recettore transmembrana ad attività tirosino-chinasica appartenente alla famiglia dei recettori ErbB (o HER), di cui fanno parte quattro sottotipi recettoriali: EGFR (HER1), ErbB-2 (HER2), ErbB-3 (HER3) ed ErbB-4 (HER4). Il legame di uno dei suoi ligandi, quali ad esempio il fattore di crescita dell'epidermide (EGF), il fattore di crescita trasformante alpha (TGF-alpha) o l'amphiregulina (AR), al dominio extracellulare del recettore, determina l'attivazione del recettore stesso che forma un omodimero con un altro recettore dello stesso tipo, oppure un eterodimero con altre proteine della famiglia. La dimerizzazione comporta l'autofosforilazione del complesso, che a sua volta causa l'attivazione a cascata dei pathway a valle².

EGFR è un recettore transmembrana ad attività tirosino-chinasica appartenente alla famiglia dei recettori ErbB.

I recettori ErbB possono infatti attivare varie vie di trasduzione del segnale alternative; tra queste, le più

importanti sono rappresentate dal pathway di RAS/RAF/MEK/MAPK, che regola la proliferazione e la sopravvivenza cellulare, e dal pathway del fosfatidil inositolo 3-chinasi/AKT (PI3K/AKT), che è coinvolto nella crescita cellulare, nella resistenza all'apoptosi, nell'invivasi e nella migrazione³.

Diversi farmaci diretti contro l'EGFR sono stati sviluppati e sperimentati in pazienti oncologici. Tra questi, gli inibitori del dominio tirosino chinasi (TKI) sono molecole in grado di competere con l'ATP per il legame col recettore, bloccando così l'attivazione dello stesso e tutti i processi a valle che ne derivano⁴.

Diversi farmaci diretti contro l'EGFR sono stati sviluppati e sperimentati in pazienti oncologici.

I farmaci ad oggi approvati per il trattamento del NSCLC in stadio avanzato sono gli inibitori reversibili gefitinib ed erlotinib, cui si è recentemente aggiunto afatinib (inibitore irreversibile del dominio TK)⁵⁻⁷.

La maggior parte dei NSCLC esprimono l'EGFR in elevate quantità, determinando una maggiore attivazione delle vie di trasduzione del segnale ad esso collegate⁸. Tuttavia, l'impiego di TKI per il trattamento di popolazioni non selezionate di pazienti con NSCLC ha dimostrato una limitata efficacia. L'analisi retrospettiva del tessuto tumorale ottenuto da quei pazienti che avevano risposto al trattamento con l'EGFR TKI gefitinib negli studi iniziali di fase II, ha consentito di individuare un biomarcatore associato alla risposta a questi farmaci. Infatti, tutti i pazienti che avevano risposto al trattamento presentavano mutazioni a carico dell'EGFR, che non erano state precedentemente descritte. Le mutazioni identificate sono situate negli esoni tra il 18 ed il 21 del gene che codifica per il recettore e consistono principalmente in mutazioni puntiformi e piccole delezioni in-frame⁴. Nel corso degli anni sono state individuate numerose mutazioni ma, tra queste, le più frequenti sono le delezioni a carico dell'esone 19 (la più comune è rappresentata dalla perdita di 5 aminoacidi: c.2235_2249delELREA) e una mutazione puntiforme a carico dell'esone 21 (p.L858R), che da sole rappresentano circa il 90% di tutte le mutazioni descritte⁴. Una peculiarità delle mutazioni di EGFR è quella di essere correlate ad alcune variabili cliniche e patologiche. Tali mutazioni risultano infatti essere più frequenti in sottogruppi di pazienti ben definiti ed in particolare nei pazienti asiatici piuttosto che nei caucasici (33,4% vs. 5,5%), nelle donne più che negli uomini (38,7% vs. 10%), negli adenocarcinomi più che in altri istotipi (29,4% vs. 1,8%), nei mai fumatori più che nei fumatori o ex fumatori (45,8% vs. 7,1%)².

Le mutazioni di EGFR sono definite "attivanti", in quanto determinano una maggiore attivazione del recettore, indipendentemente dal legame con un ligando endogeno, e delle vie di trasduzione a valle, ma anche "sensibilizzanti" in quanto determinano sensibilità a farmaci inibitori del dominio tirosino-chinasico (TK).

Esistono anche mutazioni, quali la mutazione puntiforme p.T790M ed alcune inserzioni dell'esone 20, che non sono sensibili agli inibitori di tirosino-chinasi di I generazione (gefitinib, erlotinib).

In un importante studio effettuato su pazienti asiatici nel 2009, lo studio IPASS (Iressa Pan Asian Study), è stato dimostrato che il trattamento con gefitinib era più efficace, in termini di *progression-free survival* (PFS, HR 0,48, $p < 0,001$) e *response rate* (RR, 71,2% vs. 47,3%) rispetto al trattamento con la combinazione carboplatino-paclitaxel, in pazienti che presentavano mutazioni attivanti a carico di EGFR (EGFR-M+) ⁵.

Sulla base dei risultati di questo trial, peraltro poi confermati da numerosi studi successivi, l'European Medicine Agency (EMA) ha approvato nel 2009 l'utilizzo di gefitinib in tutte le linee di trattamento del NSCLC avanzato o metastatico che presenti mutazioni attivanti a carico dell'EGFR ⁹. Nel maggio del 2010 il gefitinib è stato approvato anche in Italia per il trattamento del NSCLC localmente avanzato o metastatico EGFR-M+. Nel 2011 erlotinib ha ricevuto la approvazione dell'EMA per il trattamento di I linea dei pazienti con mutazioni attivanti di EGFR ¹⁰, mentre afatinib in monoterapia è indicato nel trattamento di pazienti adulti naïve agli inibitori tirosin-chinasi (EGFR-TKI) con NSCLC localmente avanzato o metastatico con mutazioni attivanti (approvazione EMA del 2013) ¹¹.

Il trattamento di I linea con farmaci TKI è considerato la terapia migliore per pazienti affetti da NSCLC metastatico EGFR-M+.

Alla luce dei dati disponibili, il trattamento di I linea con farmaci TKI è considerato la terapia migliore per pazienti affetti da NSCLC metastatico EGFR-M+. Risulta pertanto indispensabile valutare lo stato mutazionale di EGFR per la scelta della migliore strategia terapeutica nel paziente con NSCLC metastatico.

Analisi mutazionale di EGFR: problematiche e soluzioni

L'approvazione di nuovi farmaci sulla base di analisi mutazionali ha rappresentato una sfida importante soprattutto per l'Italia, dove pochi laboratori di biologia molecolare risultavano in grado di eseguire test di patologia molecolare nell'anno in cui il gefitinib ha ricevuto l'approvazione dell'AIFA. Questi laboratori erano inoltre distribuiti in maniera disomogenea sull'intero territorio nazionale, con maggior frequenza nel Nord piuttosto che nel Sud Italia, con il rischio di limitare la possibilità di accesso ad un trattamento notevolmente attivo ai pazienti residenti in aree del paese dove tali indagini molecolari non venivano effettuate. Infine, mancavano nel nostro paese linee guida e controlli di qualità per la esecuzione del test EGFR.

L'Associazione Italiana di Oncologia Medica (AIOM) e la Società Italiana di Anatomia Patologica e Citologia diagnostica - Divisione Italiana della *International Academy of Pathology* (SIAPEC-IAP) hanno redatto nel 2010 ed aggiornato nel 2013 le linee guida per l'analisi mutazionale del gene EGFR ¹². In base a queste raccomandazioni, l'esame mutazionale del gene EGFR è attualmente suggerito per i pazienti con NSCLC e istotipo adenocarcinoma, carcinoma a grandi cellule, carcinoma misto con adenocarcinoma, e NSCLC non altrimenti specificato (NAS), che presentano la più alta probabilità di riscontro di mutazioni.

L'esame mutazionale del gene EGFR è suggerito per il NSCLC istotipo adenocarcinoma, carcinoma a grandi cellule, carcinoma misto con adenocarcinoma e NSCLC non altrimenti specificato, che presentano la più alta probabilità di mutazioni.

I pazienti non fumatori o deboli fumatori con diagnosi di carcinoma squamoso, soprattutto se effettuata su piccole biopsie o materiale citologico, dovrebbero essere comunque sottoposti al test EGFR, in quanto non è possibile escludere la presenza di una componente di adenocarcinoma in campioni non operatori.

Le analisi possono essere condotte sia su materiale istologico che citologico. Infatti, l'evoluzione delle tecniche di biologia molecolare consente la rilevazione di mutazioni anche in campioni estremamente esigui.

Recentemente è stato anche approvato l'impiego della biopsia liquida (da sangue periferico) quale possibile sorgente di DNA tumorale su cui effettuare l'analisi mutazionale di EGFR ¹³.

Programmi di controllo di qualità per l'esecuzione del test EGFR sono stati anche eseguiti da AIOM e SIAPEC nel 2011 e nel 2013 ¹⁴. A questi programmi hanno partecipato tutti i laboratori italiani che eseguono il test EGFR a scopo diagnostico. Essi hanno pertanto consentito di validare i laboratori italiani che eseguono il test con elevati livelli di qualità. Un elenco di questi laboratori è disponibile sui siti di AIOM e SIAPEC.

Sebbene numerosi laboratori eseguano il test EGFR, vaste aree del paese sono tuttora prive di centri di riferimento per l'analisi mutazionale di EGFR. Allo scopo di consentire anche a pazienti assistiti in centri non dotati di laboratori di patologia molecolare di sottoporsi al test mutazionale e di beneficiare della terapia a bersaglio molecolare, nel 2010 è stato avviato un network (EGFR FASTnet), che permette l'invio e l'analisi dei campioni provenienti da tutta Italia in centri selezionati di biologia molecolare.

Il network, supportato dall'azienda AstraZeneca, ha lo scopo di mettere in contatto oncologi, anatomopatologi e centri di biologia molecolare attraverso un sito web, un corriere ed un call-center.

FASTnet rappresenta quindi un sistema integrato, che si propone di semplificare i processi di iden-

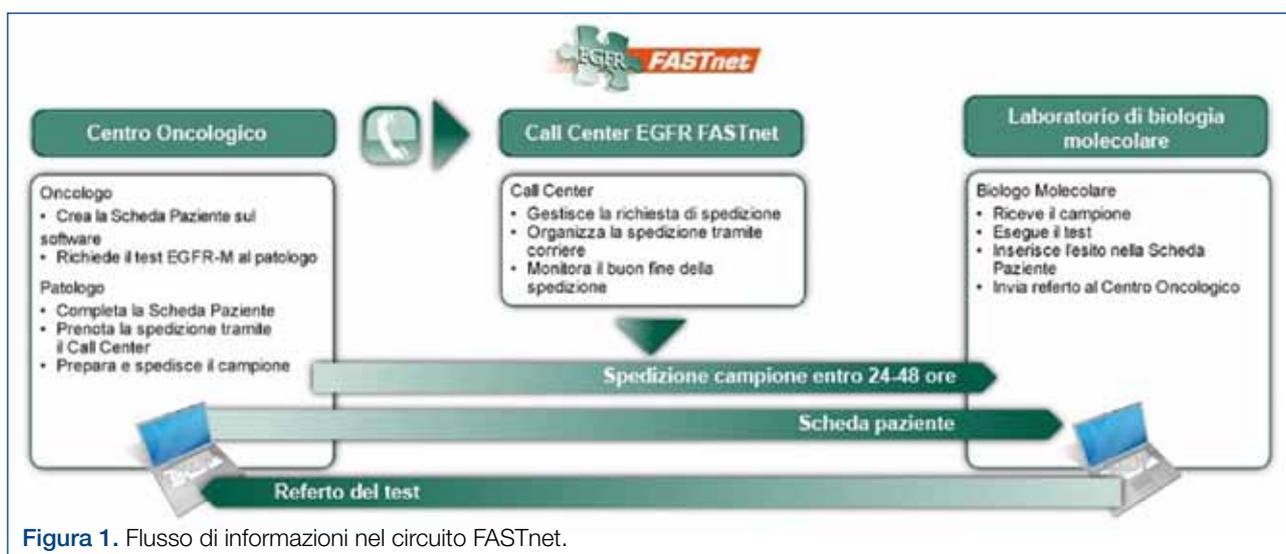


Figura 1. Flusso di informazioni nel circuito FASTnet.

tificazione ed invio dei campioni e, successivamente, di inserimento e valutazione dei risultati, permettendo inoltre una riduzione dei tempi che intercorrono tra la richiesta del test e l'inizio del trattamento.

La procedura prevede l'apertura di una scheda on line da parte dell'oncologo richiedente l'analisi molecolare. L'oncologo stesso inserisce sulla scheda dati inerenti la patologia, quali diagnosi, istotipo tumorale, stadiazione e localizzazione. La richiesta perviene all'anatomopatologo, che ha il compito di selezionare il campione tumorale su cui effettuare il test. L'anatomopatologo compila a sua volta la scheda con le informazioni relative al materiale utilizzabile per l'analisi, quali tipologia di campione (FNAB o campione istologico), provenienza e localizzazione del tessuto e percentuale di cellule tumorali presenti. Se il patologo esegue anche analisi molecolari, provvederà egli stesso ad eseguire i test molecolari e ad inserire i risultati nella scheda. In caso contrario, richiederà tramite un call-center l'intervento di un corriere che provvederà a prelevare il campione e a recapitarlo ad uno dei centri di analisi molecolare partecipanti al circuito. Il laboratorio di biologia molecolare, effettuata l'analisi, provvederà quindi a chiudere la scheda on line con i dati mutazionali ed a produrre un referto ufficiale che sarà inviato all'oncologo e/o al patologo sulla base di accordi locali. L'intero processo viene generalmente completato in circa 10 giorni lavorativi (Figura 1).

Da luglio 2010, anno in cui è stato inaugurato il servizio, fino a metà del 2014 sono state aperte 12.893 schede FASTnet, di cui 2.346 solo nella prima metà del 2014. Dall'avvio del network fino alla fine del 2010 (semestre luglio-dicembre) sono state completate 507 schede, mentre già nel primo semestre del 2011 il numero di campioni inviati tramite circuito è salito a 1.201, raddoppiando all'incirca il numero di prestazioni richieste. Dal 2011 al 2013 sono state analizzate in media 3.346 schede all'anno, con un trend in aumento (Figura 2). Ad oggi, 677 oncologi, 153 patologi e 25 analisti sono iscritti al network e contribuiscono, ciascuno per la sua parte, al flusso di lavoro. Per quanto

riguarda i risultati delle analisi effettuate, lo studio dei primi 3.819 pazienti arruolati ha rivelato che è stato possibile completare l'analisi in 3.567 pazienti (93%). Mutazioni dell'EGFR sono state riscontrate in 520 casi (14,6%), di cui 334 nell'esone 19 (9,4%), 163 nell'esone 21 (4,6%), 7 nell'esone 18 (0,2%) e 16 nell'esone 20 (0,4%)¹⁵.

Conclusioni

Il circuito FASTnet rappresenta un importante mezzo che ha reso possibile a migliaia di pazienti italiani affetti da NSCLC metastatico EGFR M+ di accedere ad una terapia personalizzata di elevata efficacia.

Il circuito FASTnet ha reso possibile a migliaia di pazienti italiani affetti da NSCLC metastatico EGFR M+ di accedere ad una terapia personalizzata di elevata efficacia.

Inoltre, il circuito FASTnet rappresenta di fatto l'unico database che contiene informazioni sulle caratteri-

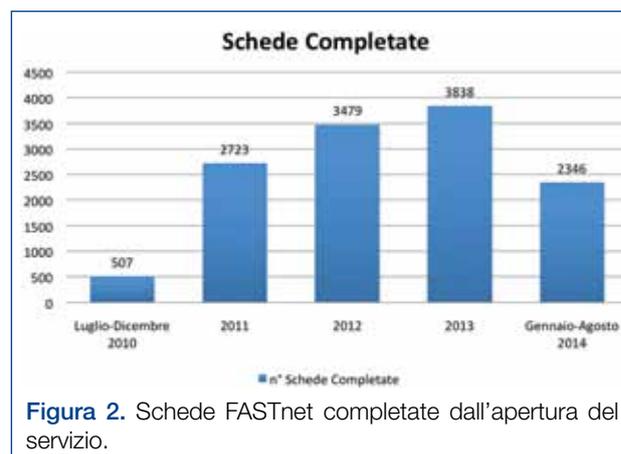


Figura 2. Schede FASTnet completate dall'apertura del servizio.

stiche cliniche e patologiche di un elevato campione di pazienti avviati alla analisi mutazionale. Il database è nella disponibilità delle società scientifiche AIOM e SIAPEC e informazioni importanti sono state già in passato ottenute dall'elaborazione di dati provenienti da questa piattaforma¹⁵.

Bibliografia

- 1 Herbst RS, Heymach JV, Lippman SM. *Lung cancer*. N Engl J Med 2008;359:1367-80.
- 2 Normanno N, De Luca A, Bianco C, et al. *Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer*. Gene 2006;366:2-16.
- 3 De Luca A, Carotenuto A, Rachiglio A, et al. *The role of the EGFR signaling in tumor microenvironment*. J Cell Physiol 2008;214:559-67.
- 4 De Luca A, Normanno N. *Predictive biomarkers to tyrosine kinase inhibitors for the epidermal growth factor receptor in non-small-cell lung cancer*. Curr Drug Targets 2010;11:851-64.
- 5 Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. *Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma*. N Engl J Med 2009;361:947-57.
- 6 Zhou C, Wu YL, Chen G, et al. *Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study*. Lancet Oncol 2011;12:735-42.
- 7 Sequist LV, Yang JC, Yamamoto N, et al. *Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations*. J Clin Oncol 2013;31:3327-34.
- 8 Hirsch FR, Varella-Garcia M, Cappuzzo F. *Predictive value of EGFR and HER2 overexpression in advanced non-small-cell lung cancer*. Oncogene 2009;28(Suppl 1):S32-7.
- 9 EMA: European Medicine Agency, s.v. gefitinib (http://www.ema.europa.eu/docs/it_IT/document_library/EPAR__Product_Information/human/001016/WC500036358).
- 10 EMA: European Medicine Agency, s.v. erlotinib (http://www.ema.europa.eu/docs/it_IT/document_library/EPAR__Summary_for_the_public/human/000618/WC500033989).
- 11 EMA: European Medicine Agency, s.v. afatinib (http://www.ema.europa.eu/docs/it_IT/document_library/EPAR__Product_Information/human/002280/WC500152392).
- 12 Marchetti A, Normanno N. *Recommendations for mutational analysis of EGFR in lung carcinoma*. Pathologica 2010;102:119-26.
- 13 Gruppo di Lavoro di AIOM e SIAPEC-IAP. *Raccomandazioni AIOM e SIAPEC-IAP per l'analisi mutazionale del gene egfr nel carcinoma polmonare*, Marzo 2014.
- 14 Normanno N, Pinto C, Taddei G, et al. *Results of the First Italian External Quality Assurance Scheme for somatic EGFR mutation testing in non-small-cell lung cancer*. J Thorac Oncol 2013;8:773-8.
- 15 Normanno N, Pinto C, Taddei G, et al. *Frequency and clinical correlations of epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations in a large cohort of Italian non-small cell lung cancer (NSCLC) patients (pts) within the EGFR FASTnet program*. J Clin Oncol 2012;30:(suppl; abstr e18021).

Gli Autori dichiarano di non avere alcun conflitto di interesse con l'argomento trattato nell'articolo.