



## Patologia molecolare di Careggi: efficienza e innovazione al servizio del paziente oncologico

### Descrizione

**Daniela Massi**, Direttore, SODc Istologia Patologica e Diagnostica Molecolare, Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi

**Francesca Castiglione**, SODc Istologia Patologica e Diagnostica Molecolare, Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi

**Camilla E. Comin**, SODc Istologia Patologica e Diagnostica Molecolare, Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi

**Sandra von Borries**, SODc Istologia Patologica e Diagnostica Molecolare, Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi

**Elvira Bianco**, Direttore Sanitario, Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi

**Daniela Matarrese**, Direttore Generale, Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi

La Patologia Molecolare è una disciplina basata sull'uso delle più sofisticate tecniche di biologia molecolare per lo studio delle mutazioni geniche e dei riarrangiamenti cromosomici coinvolti nello sviluppo e nel trattamento dei tumori. Le analisi molecolari predittive in campo oncologico rappresentano una sub-disciplina dell'Anatomia Patologica: una corretta esecuzione tecnica e l'appropriata interpretazione del dato molecolare non possono, infatti, prescindere dalla conoscenza specifica delle alterazioni morfologiche tissutali delle varie patologie oncologiche.

L'identificazione di marcatori molecolari specifici per ogni tipo di tessuto neoplastico è di fondamentale importanza per la gestione clinica del paziente oncologico. La "medicina di precisione" è diventata infatti uno strumento diagnostico e prognostico fondamentale per la classificazione e la stadiazione della malattia oncologica, ma soprattutto per la scelta del trattamento farmacologico più mirato possibile, e cioè più efficace e sicuro nella lotta alla neoplasia. Tecnologie sempre più precise e mirate consentono la caratterizzazione molecolare del tessuto tumorale, individuando i cosiddetti "fattori predittivi", che consentono di prevedere la risposta della neoplasia alle terapie con un preciso bersaglio molecolare (*targeted*).

Le nuove terapie *targeted*, infatti, garantiscono al paziente un miglioramento della aspettativa e della qualità di vita e sono direttamente correlate all'identificazione non solo di biomarcatori genici tumore-specifici, ma anche di eventuali mutazioni di resistenza al farmaco che possono svilupparsi nel corso del trattamento. Il patologo molecolare, coadiuvato dal biologo molecolare, sta diventando una figura di medico sempre più rilevante nell'ambito dei gruppi oncologici multidisciplinari (GOM), poiché genera informazioni cruciali relative alla specifica neoplasia, fornendo gran parte dei dati relativi all'assetto somatico-mutazionale del paziente.

### Gli esami del laboratorio di Patologia Molecolare

Queste nuove tecnologie hanno avuto un enorme impatto sul programma clinico-terapeutico dei pazienti oncologici. Il laboratorio di Biologia Molecolare della SOD Istologia Patologica e Diagnostica Molecolare di Careggi ha eseguito, negli ultimi cinque anni, oltre 11000 prestazioni su pazienti affetti da neoplasie solide implementando una notevole quantità di nuove tecnologie e nuovi biomarcatori, che hanno consentito di potenziare e migliorare i percorsi diagnostico-terapeutici di un'ampia varietà di tumori. La necessità di integrare simultaneamente l'analisi molecolare delle alterazioni somatiche con le procedure diagnostiche convenzionali in tumori solidi richiede un'accurata attività di selezione e triage del materiale, che è oggi parte integrante e strategica dei laboratori di Anatomia Patologica.

L'evoluzione della diagnosi molecolare nel laboratorio di Patologia Molecolare è avvenuta parallelamente alla progressione delle conoscenze in questa sub-disciplina. Già nel 2009 sono state inserite le prime analisi di biomarcatori predittivi delle neoplasie polmonari e dei carcinomi del colon-retto. I geni inizialmente analizzati con tecnica Sanger sono stati EGFR e KRAS. Nel 2015, in seguito alle raccomandazioni AIOM-SIAPEC, la valutazione biomolecolare si è arricchita di nuovi pannelli multigenici analizzati mediante metodica Sequenom Maldi Tof. Dal 2019 il nostro laboratorio esegue l'analisi dei biomarcatori associati a terapie a bersaglio molecolare con tecniche di sequenziamento *Next Generation Sequencing* (NGS) e *Real Time PCR* su DNA ed RNA, estratti da preparati cito-istologici.

Oggi in tutti i pazienti con carcinoma non a piccole cellule del polmone (NSCLC), non a cellule squamose, in stadio localmente avanzato o metastatico vengono eseguite le analisi molecolari. Mentre nei pazienti (giovani, non fumatori) con istotipo a cellule squamose l'analisi viene effettuata solo in casi selezionati o in seguito a specifica richiesta da parte dell'oncologo. Il laboratorio svolge le suddette analisi "*in reflex*" al fine di consentire un più rapido accesso alle attuali strategie terapeutiche ed è parte dei più recenti protocolli clinici che prevedono l'analisi molecolare fin dai primi stadi di malattia, per l'eventuale utilizzo di terapie a bersaglio molecolare già nella fase di un trattamento adiuvante. Nella patologia polmonare la gestione del materiale biologico è complessa, necessitando di un campione incluso in paraffina integrato con campioni citologici strisciati derivati dalla cito-assistenza "on-site" (R.O.S.E.), eseguita nelle sale endoscopiche/radiologiche della AOU-Careggi da parte del personale dell'Istituto per lo Studio e la Prevenzione Oncologica (ISPRO). Al fine di ottimizzare questo percorso è stato implementato un flusso facilitato e rapido di richiesta/consegna del materiale fra ISPRO ed il laboratorio AOU Careggi.

Il laboratorio di Anatomia Patologica di Careggi è stato uno dei primi a livello nazionale a rendere disponibile il test molecolare per la classificazione dei carcinomi endometriali. Già dal 2019 infatti il laboratorio esegue la ricerca delle varianti geniche di interesse clinico dei geni POLE, PTEN, PIK3CA e dell'instabilità dei microsatelliti, nell'ottica di garantire non solo una corretta diagnosi, ma soprattutto un percorso terapeutico efficiente e rapido alle pazienti affette da questa patologia. A partire da marzo 2023, per primi in Italia, abbiamo attivato un servizio dedicato alla definizione dello stato di HRD, test genomico che rileva il Deficit di Ricombinazione Omologa, che insieme allo studio delle mutazioni dei geni BRCA1 e BRCA2, è fondamentale per garantire l'accesso al miglior percorso terapeutico possibile alle pazienti con tumori ovarici non mucinosi e non *borderline* che altrimenti non potrebbero beneficiare di una terapia *targeted*. Dal 2022 il laboratorio effettua il test *Endopredict* per la valutazione predittiva della risposta alla chemioterapia delle pazienti affette da neoplasia mammaria; in casi particolari questo test è affiancato al test *Oncotype di Myriad*, eseguito negli Stati Uniti.

L'Anatomia Patologica di Careggi, centro di riferimento per le patologie cutanee, nel laboratorio molecolare analizza pannelli multigenici con metodica NGS e PCR Real Time per la rivalutazione di casi di melanoma. Analisi multigeniche vengono, inoltre, eseguite sulle neoplasie solide, come quelle del sistema nervoso centrale (SNC), della tiroide e del tratto gastroenterico-pancreatico.

### **Strumentazione e organizzazione dei locali**

In base alle raccomandazioni AIOM-SIAPEC e SIGU, un laboratorio di patologia molecolare deve essere dotato di locali dedicati alle specifiche attività, in modo da limitare al massimo il rischio di contaminazioni incrociate. Il laboratorio di Patologia Molecolare dell'AOU-Careggi consta di vari settori che consentono di separare le varie fasi del lavoro: taglio dei blocchetti, estrazione degli acidi nucleici, pre-PCR, post-PCR. Per stare al passo con il crescente aumento delle richieste di esami molecolari, le numerose nuove tecnologie implementate e i più recenti trattamenti il flusso di lavoro è stato recentemente e profondamente rivisto ottimizzandone l'efficienza e la produttività. Particolare attenzione è stata dedicata agli spazi operativi delle analisi sull'RNA con la realizzazione di una apposita area isolata e sterile per il test NGS RNA, al fine di preservare un materiale facilmente degradabile da analizzare con una tecnica decisamente complessa.

La qualità e la sicurezza del lavoro nel laboratorio di Patologia Molecolare sono garantite da un sistema di tracciabilità di tutte le fasi operative del processo, dall'aggiornamento continuo del personale, dall'utilizzo di procedure interne certificate e

dalla partecipazione a controlli esterni di qualità. Attualmente il laboratorio di Biologia Molecolare della SOD Istologia Patologica e Diagnostica Molecolare di Careggi si avvale di tre diverse professionalità (patologo molecolare, biologo molecolare, tecnico) con competenze specifiche nell'ambito della genetica somatica oncologica. La strumentazione presente nel laboratorio consiste in tre sequenziatori NGS di ultima generazione in grado di analizzare, mediante pannelli diversi, mutazioni geniche e fusioni. Per le analisi in *Real Time PCR*, il laboratorio è dotato di strumenti che, mediante l'uso di kit monogenici e multigenici, consentono analisi mutazionali qualitative sia su DNA che su RNA.

[daniela.massi@unifi.it](mailto:daniela.massi@unifi.it)



Laboratorio di Patologia Molecolare, SODc Istologia Patologica e Diagnostica Molecolare, Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi

L'autore Francesca Castiglione dichiara di aver ricevuto i seguenti finanziamenti o di avere i seguenti contratti in corso, personali o istituzionali, con soggetti pubblici o privati i cui prodotti o servizi sono citati nella pubblicazione: GSK Glaxo Smith

Kline; AstraZeneca.

L'autore Camilla E. Comin dichiara di aver ricevuto i seguenti finanziamenti o di avere i seguenti contratti in corso, personali o istituzionali, con soggetti pubblici o privati i cui prodotti o servizi sono citati nella pubblicazione: Roche; Novartis.

L'autore Sandra Von Borries dichiara di aver ricevuto i seguenti finanziamenti o di avere i seguenti contratti in corso, personali o istituzionali, con soggetti pubblici o privati i cui prodotti o servizi sono citati nella pubblicazione: Diatech Pharmacogenetics srl.

L'autore Daniela Massi dichiara di aver ricevuto i seguenti finanziamenti o di avere i seguenti contratti in corso, personali o istituzionali, con soggetti pubblici o privati i cui prodotti o servizi sono citati nella pubblicazione: Novartis; Sun Pharma; Bayer Healthcare Pharmaceutica Inc; Pierre-Fabre Oncology; MSD Italia srl; Roche; SkylineDx B.V.; Sakura.

## CATEGORY

1. Scienza e professione

## POST TAG

1. Studi e ricerche

## Categoria

1. Scienza e professione

## Tag

1. Studi e ricerche

## Data di creazione

06/06/2024

## Autore

redazione-toscana-medica

## Campi meta

**Nome E Cognome Autore 1** : Daniela Massi

**Nome E Cognome Autore 2** : Francesca Castiglione, Camilla E. Comin, Sandra von Borries, Elvira Bianco, Daniela Matarrese

**Views** : 10637