

LE NUOVE FRONTIERE DELLA MEDICINA

# La rivoluzione della biopsia liquida



## Serve solo una goccia di sangue per far diagnosi di cancro

a cura di CARLO SBIROLI

**Il nuovo test si chiama CancerSEEK. Cerca la presenza di cellule tumorali nel sangue. Rintraccia il Dna mutato e le proteine rilasciate nel sangue da cellule di diversi tumori solidi, e ne permette l'identificazione. Un altro passo importante verso un test di screening anti-cancro 'universale'**

**PRESENTATO NEL GENNAIO SCORSO** sulle pagine di *Science*\* dal team di ricercatori della Johns Hopkins University di Baltimora (Usa), guidato da **Nickolas Papadopoulos**, questo test è stato accolto con molto entusiasmo dal mondo medico, perché consente di realizzare non solo una diagnosi precoce, quando il tumore non è ancora clinicamente evidente, ma anche di poter seguire l'andamento delle terapie in presenza di malattia conclamata.

Il test presenta il grande vantaggio di poter essere eseguito su una goccia di sangue (**biopsia liquida**). Questa facilità di prelievo ha aumentato notevolmente l'interesse per quest'esame che da oltre dieci anni molti ricercatori in diversi laboratori di tutto il mondo stavano cercando di mettere a punto.

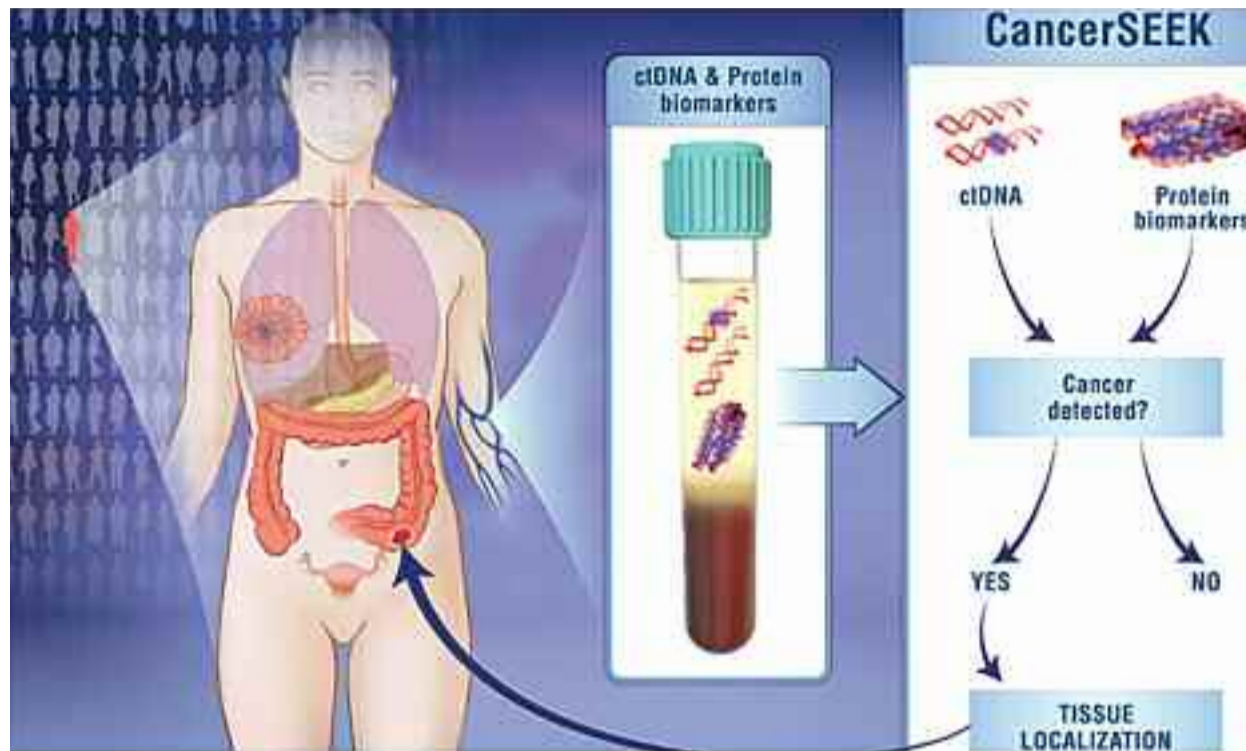
**Il test si basa sul fatto che le mutazioni genetiche** che guidano la crescita delle cellule tumorali, associate alle cellule morenti, versano parte del Dna mutato nel sangue. È difficile però identificare queste piccole tracce di Dna rilasciate da tumori, soprattutto quando questi sono in fase iniziale.

**La grande intuizione dei ricercatori** della Johns Hopkins University è stata quella di migliorare il tasso di individuazione verificando la presenza di mutazioni in 16 geni in diversi tipi di tumore. La sensibilità del test è stata poi aumentata **accoppiando al Dna otto proteine come biomarcatori specifici**. Il tutto è stato sottoposto all'esame di un algoritmo matematico che, mettendo insieme le tracce di Dna e le proteine trovate nel sangue, è giunto alla identificazione del tumore.

**È italiano il padre dell'algoritmo sviluppato per il CancerSeek.** Si tratta di un goriziano, **Cristian Tomasetti**, professore associato di biostatistica e bioinformatica nel dipartimento di oncologia alla Johns Hopkins University. In una intervista alla Bbc ha detto: "da questa ricerca potrebbe derivare un impatto enorme sulla mortalità da cancro. Se tutto procede per il verso giusto tra due anni il test potrà esser usato su larga scala. Questo studio è importante perché dimostra quanto sia fondamentale investire sulla prevenzione. Se ne parla molto, ma si continua a investire di più sulle terapie".

**Il CancerSeek è stato testato su un campione di 1005 pazienti** che avevano già ricevuto una diagnosi di tumore in vari stadi, compresi tra I e III, ma che non presentavano metastasi. Il confronto è stato fatto con pazienti sani. Più precisamente, **la sperimentazione è stata condotta su otto diversi tipi di cancro:** ovaio, mammella, fegato, stomaco, colon-retto, esofago, pancreas e polmoni. Il test ha evidenziato la malattia tra il 33 e il 98 per cento dei casi (Figura 1). **La sensibilità è stata del 69 per cento.** I più sensibili al test sono apparsi i cancri ovarici, epatici, gastrici, pancreatici ed esofagei. "Abbiamo scelto semplicemente i più letali" spiega **Bert Vogel-**

\**"Liquid biopsy" for cancer promises early detection.* Science 19 Jan 2018: Vol. 359, Issue 6373, pp. 259



(foto: Illustration by Elizabeth Cook and Kaitlin Lindsay)

stein del team dei ricercatori della Johns Hopkins. “E per cinque di essi non esistono attualmente tecniche di screening efficaci”.

Come è facilmente intuibile, il test ha mostrato maggiore accuratezza quando la malattia era in fase avanzata (Vedi grafico), quando cioè era possibile rilevare nel sangue dei pazienti una maggiore quantità di tracce di Dna e proteine rilasciate dal cancro: nei pazienti con tumori in fase uno la capacità del test di individuare la malattia si è fermata al 40 per cento. **I falsi positivi sono stati molto rari:** solo sette su 812, meno dell'1 per cento dei controlli sani.

**Le previsioni di costo** dovrebbero aggirarsi intorno ai 500 dollari (poco più di 400 euro al cambio attuale) per esame. “Un costo importante”, ha affermato il patologo molecolare Anirban Maitra del MD Anderson Cancer Center di Houston in Texas, “che però è in linea con altri esami tradizionali per la diagnosi precoce, come colonscopia o la gastroscopia”.

**Il team della Johns Hopkins University**, in collaborazione con il sistema sanitario di Geisinger in Pennsylvania, ha già iniziato sperimentazioni su campioni di sangue di volontari di età compresa tra 65 e 75 anni che non hanno mai mostrato segni di una malattia cancerosa. Il protocollo di studio prevede che si procederà a ulteriori e più approfonditi accertamenti solo nei casi in cui il ▶

# La rivoluzione della biopsia liquida

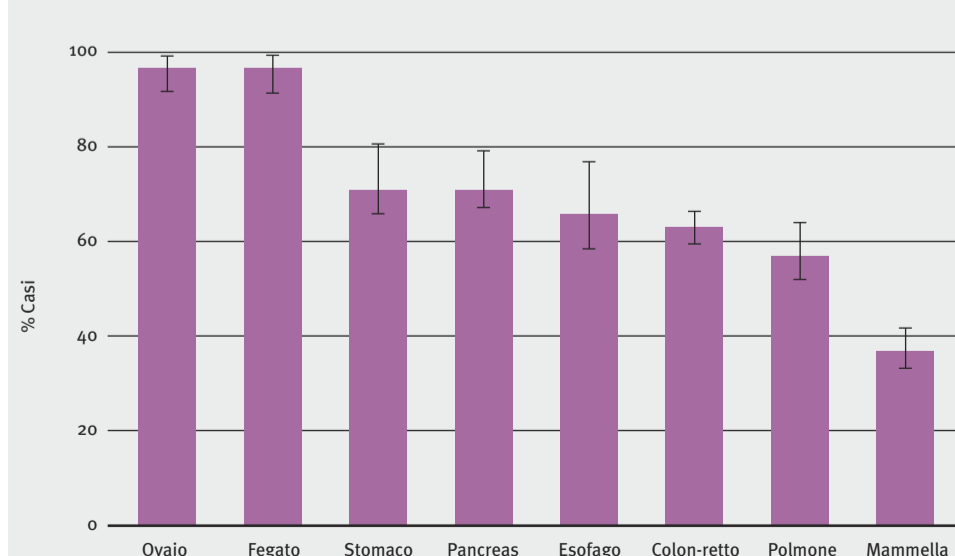


**NICKOLAS PAPADOPOULOS**  
Oncologo alla Johns Hopkins University  
Baltimora (Usa)

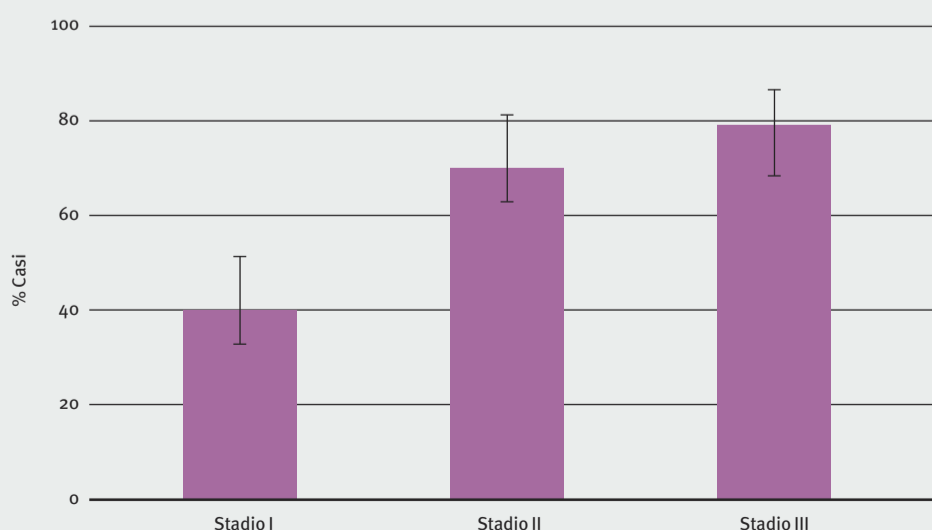
**Il nuovo test messo a punto dai ricercatori della Johns Hopkins University di Baltimora cerca 8 tumori nel sangue**, combinando l'analisi del Dna e delle proteine tumorali. Ha un'affidabilità che varia dal 69 al 98% dei casi a seconda del tipo di cancro. **Il team è riuscito a valutare le mutazioni di 16 geni tumorali**, insieme ai livelli di 10 proteine circolanti nel sangue, per otto tipi di cancro: del seno, fegato, ovaie, polmone, stomaco, pancreas, esofago e colon retto.

“Un test non deve essere perfetto ma utile”

**Figura 1.** Percentuale di precisione del test *CancerSeek* nei diversi tipi di cancro studiati



**Figura 2.** Percentuale di precisione del test *CancerSeek* a seconda dello stadio del tumore



## LE NUOVE FRONTIERE DELLA MEDICINA

► CancerSeek mostri una persistenza di positività nello stesso soggetto in due campioni successivi di sangue. In questi casi i pazienti saranno sottoposti a esami di imaging per confermare o meno l'eventuale presenza del tumore.

**Jocelyn Kaiser nelle news su Science** del gennaio scorso, che segue l'articolo dei ricercatori della Johns Hopkins University, fa notare che, "come spesso avviene con altri test di screening, il CancerSeek identificherà anche piccoli tumori che probabilmente non sarebbero mai cresciuti abbastanza da causare problemi, ma che certamente saranno trattati lo stesso, con costi, rischi e ansie inutili per il paziente". **Papadopoulos** ha risposto a queste osservazioni dicendo che il problema può essere superato facendo gestire la questione da un team di clinici esperti che valuterà attentamente ogni caso. "Semmai il problema non è l'overdiagnosis, sostiene, ma l'over-treatment". Esiste inoltre un ulteriore problema: "i marcatori biologici individuati appaiono anche in pazienti che hanno malattie infiammatorie, come l'artrite". Questo significa che i falsi positivi potrebbero essere più dell'uno per cento individuato nello studio clinico.

**Al di là di queste ultime osservazioni**, il CancerSeek appare comunque un test molto promettente per lo screening oncologico. Sicuramente sono necessari studi più approfonditi e casistiche più ampie. Siamo ancora agli inizi di uno studio che gli stessi ricercatori hanno definito "la semplice dimostrazione che il metodo funziona". Sicuramente i margini di miglioramento sono enormi. "Sogno un futuro – ha detto Tomasetti – in cui ogni anno le persone potranno fare il test del tumore insieme a quello del colesterolo". Allora potrà cambiare il destino dei malati.



**CRISTIAN TOMASETTI**  
Professore associato di Biostatistica e bioinformatica alla Johns Hopkins University di Baltimora (Usa)



Sogno un futuro in cui ogni anno le persone potranno fare il test del tumore insieme a quello del colesterolo"

## I LIMITI

La ricerca riporta risultati positivi senza però sciogliere i dubbi sui falsi positivi e sui tumori destinati a non svilupparsi.

Quella della ricerca e dei tentativi di commercializzazione di varie forme di biopsia liquida per la ricerca dei tumori nascosti è un mercato in fermento: si stima che possa valere decine di miliardi di dollari l'anno, e almeno una dozzina di società di biotecnologie ci lavorano e affermano di essere vicine al risultato. Alcune varianti di questi test vengono già utilizzate, in studi sperimentali, per

monitorare l'andamento dei tumori o la risposta della malattia ai trattamenti. Speranze e dubbi. Ci sono però ancora diversi limiti.

Innanzitutto, anche nello studio in questione, la diagnosi per i pazienti era già stata fatta nel modo tradizionale. Resta da vedere se sulla popolazione generale di persone che non hanno sintomi, e i cui tumori sono ancora più piccoli, il test possa funzionare ugualmente bene. Un problema specifico del test è che i marcatori biologici individuati appaiono anche in persone che hanno malattie infiammatorie come l'artrite: significa che i falsi po-

sitivi potrebbero essere più dell'1 per cento individuato nello studio clinico.

Infine, resta un dubbio più generale che riguarda anche altre forme di diagnosi precoci per le malattie tumorali: il test potrebbe individuare tumori molto piccoli che però non sarebbero mai cresciuti fino a rappresentare un rischio per la salute, e questo comporterebbe ansia, e interventi magari inutili per molti pazienti.

È un tema che si è posto per diversi tipi di screening, per esempio nel caso della ricerca dell'antigene prostatico per la diagnosi precoce del tumore della prostata, che non è raccomandato perché il rischio di falsi positivi è molto alto. Ma anche nel caso della mammografia, in cui il beneficio dello screening sulla popolazione femminile è ritenuto sicuro solo a partire da una certa età.

## La rivoluzione della biopsia liquida

**IL TEAM DELLA JOHNS HOPKINS ritiene che CancerSeek sia pronto per essere testato come strumento di screening. In collaborazione con la Johns Hopkins University, il Geisinger Health System in Pennsylvania ha già iniziato ad utilizzare CancerSeek su campioni di sangue di volontarie tra i 65 e i 75 anni di età che non hanno mai avuto tumore. A finanziare lo studio quinquennale su 50mila donne, per un costo stimato di 50mln di dollari, è l'ente filantropico The Marcus Foundation**



## Sviluppata nei laboratori dell'Iss una innovativa biopsia liquida non invasiva

L'approccio sperimentato finora su pazienti affetti da tumore alla prostata in uno studio pubblicato su Oncogene, e su pazienti colpiti da cancro al polmone e al colon (in due studi in corso di pubblicazione)

**UNA BIOPSIA LIQUIDA PER ANALIZZARE LE VESICOLE**, rilasciate nel sangue dai tumori, che trasportano le aberrazioni molecolari del tessuto tumorale di origine. È questo, in sintesi, l'approccio molecolare sofisticato e innovativo, sviluppato nei laboratori dell'Istituto Superiore di Sanità da un'equipe coordinata da **Désirée Bonci** (Ricercatore al Dipartimento di Ematologia, Oncologia e Medicina Molecolare, Iss) e da **Ruggero De Maria** (Professore Ordinario di Patologia Generale alla Università Cattolica).

Un nuovo approccio sperimentato finora su pazienti affetti da tumore alla prostata in uno studio pubblicato su Oncogene, e su pazienti colpiti da cancro al polmone e al colon (in due studi in corso di pubblicazione).

"L'eterogeneità e complessità delle patologie neoplastiche rende molto difficile individuare una terapia unica ed efficace – ha affermato la Dottoressa Bonci - Inoltre la risposta individuale del paziente ai farmaci è, molte volte, non prevedibile. Ad oggi il "goal" assoluto per combattere questo male è procedere, quanto più possibile, ad un trattamento personalizzato".



Il test consente di realizzare non solo una diagnosi precoce, quando il tumore non è ancora clinicamente evidente, ma anche di poter seguire l'andamento delle terapie in presenza di malattia conclamata

"L'indagine ci ha permesso, per la prima volta di valutare segnali proteici attivati e indicativi di tumore e dello stato aberrante molecolare del cancro in pazienti affetti da neoplasie al polmone, colon e prostata. Questi segnali sono associati alla presenza di cancro, alla progressione tumorale e alla resistenza alle terapie e sono bersagli di nuovi farmaci approvati definiti targeted therapy".

"Questo tipo di biopsia liquida realizzata con tecniche innovative, sofisticate e sensibili – ha dichiarato De Maria – potrà permettere di avere una diagnosi sempre più precoce e certa di tumore. Inoltre, i tumori avanzati spesso cambiano il loro assetto molecolare durante il trattamento con lo sviluppo di resistenze secondarie. Questo tipo di biopsia liquida, adeguatamente sviluppata, ci potrà permettere di avere un metodo non-invasivo per monitorare il tumore fin dall'esordio, per individuare tempestivamente le recidive e l'insorgenza di resistenza alle terapie".

**In uno studio più approfondito sul tumore della prostata**, svolto in collaborazione con Giovanni Muto, Professore Ordinario di Urologia all'Università Campus Bio-Medico, Roma, con l'Ospeda-

le San Giovanni Bosco (Torino) e l'Istituto Nazionale Cancro Regina Elena, IRE (Roma), è stata stabilita una correlazione tra l'attivazione dell'oncogene c-MET, responsabile dello sviluppo di metastasi, e un piccolo gene, il miR-130b, con la progressione tumorale e la resistenza alla terapia ormonale, valutando il meccanismo in vescicole, tessuti di pazienti e in modelli pre-clinici di laboratorio.

**Lo studio, pubblicato dalla rivista internazionale Oncogene e finanziato dal Grant Giovani Ricercatori** di cui è coordinatrice Désirée Bonci, elargito dal Ministero della Salute, descrive un nuovo meccanismo di progressione e resistenza alla terapia ormonale.

"I dati hanno evidenziato – ha spiegato la ricercatrice – un metodo di monitoraggio attraverso le vescicole nel sangue del paziente ed identificato nuovi bio-marcatori di progressione e trattamento con nuovi farmaci, quali per esempio inibitori del gene c-MET ad oggi già approvati per altri tumori. Attualmente stiamo lavorando alla messa a punto di un meccanismo di analisi rapida da trasferire facilmente all'applicazione clinica".