



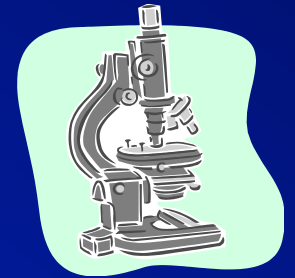
## *II ZOOM JOURNAL CLUB 2012*



# *Fattori prognostici e sottotipi molecolari: interazioni con la RT*

*Cristiana Vidali  
S.C. Radioterapia  
A.O.U. Trieste*

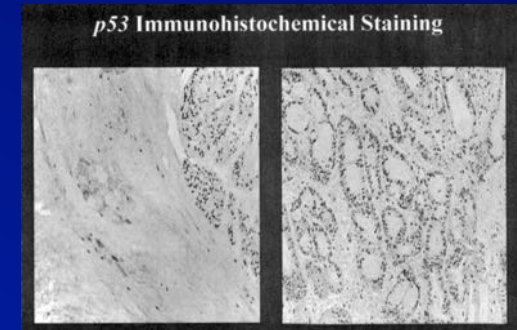
# Carcinoma invasivo della mammella: fattori prognostici clinico-patologici



- Dimensioni del tumore
- Stato dei linfonodi ascellari
- Tipo istologico
- Grado istologico
- Invasione vascolare peritumorale
- Stato dei margini
- Età della paziente
- Gruppo etnico di appartenenza
- Indice di massa corporea

# Carcinoma invasivo della mammella: i markers immunoistochimici

- Recettori estrogeni (ER)
- Recettori progestinici (PR)
- Ki67 (marker di attività proliferativa)
- Espressione di Her-2 (human epidermal growth factor)
- p53 (?)
- Bcl-2 (?)
- Ciclina D1 (?)



# Carcinoma invasivo della mammella: i sottotipi molecolari

Breast Cancer Subtype by gene expression



- In seguito alle indagini di biologia molecolare sul profilo genico sono stati individuati 4 sottotipi:
  - Luminal A
  - Luminal B
  - HER 2+ (non Luminal)
  - Basal like
  
- Nella pratica clinica con una valutazione immunohistochimica di ER, PR, HER 2 e Ki67, si possono identificare dei sottogruppi fenotipici che presentano una buona corrispondenza con i sottotipi classificati in base ai profili di espressione genica

# Caratteristiche dei sottotipi molecolari



# Lo studio del profilo genico

- Sono stati identificati - con la tecnica dei microarrays o con il test quantitativo RT-PCR - dei profili di espressione genica mirati a definire con maggiore precisione la prognosi e a selezionare il trattamento ottimale per la singola paziente
- Alcuni di questi test sono già stati introdotti sul mercato

# Test di analisi del profilo genico

da Miyamoto DT et al. Sem Radiat Oncol, 2011

Variable	MammaPrint	Oncotype DX
Provider	Agendia	Genomic Health
Type of assay	70 gene assay	21 gene recurrence score
Type of tissue sample	Fresh or frozen	Formalin fixed, paraffin-embedded
technique	DNA microarrays	Q-RT-PCR
Centrally certified laboratory	yes	yes
Indication	To aid in prognostic prediction in pts. < 61yr stage I or II, N-, T ≤ 5 cm	To predict the risk of recurrence in pts. ER+, N-, treated with TAM; to identify pts. with a low risk of recurrence who may not need adjuvant CT
Level of evidence	III	II
FDA clearance	yes	no
Availability	Europe and USA	Europe and USA

# L'utilità clinica dei profili molecolari

- Sulla base delle conoscenze acquisite, non si ritiene più  
➤ Sulla base delle conoscenze acquisite, non si ritiene più di doversi confrontare con varianti di una stessa neoplasia, ma con malattie diverse caratterizzate da un ~~prognosi assolutamente peculiare, per cui si~~ ~~prognosi assolutamente peculiare, per cui si~~ prognosi assolutamente peculiari

standardare i profili di espressione genica con i criteri beneficiare della chemioterapia adiuvante oppure no, sulla base del rischio di ripresa di malattia oppure no, sulla base del rischio di ripresa di malattia

**TAILORx**  
Oncotype Dx

**RESPONDER**  
Oncotype Dx

**MINDACT**  
MINDACT





***Fattori prognostici e sottotipi***  
***Fattori prognostici e sottotipi***

# Fattori predittivi di recidiva locale

## Fattori predittivi di recidiva locale

### ❖ Clinici ed istopatologici:

### ❖ Clinici ed istopatologici:

- età > 50 anni
- estrogeni positivi
- dimensioni T elevate
- dimensioni T elevate
- grading elevato
- estesa componente in situ
- assenza del boost radioterapico

### ❖ Immunoistochimici e sottotipi molecolari:

### ❖ Immunoistochimici e sottotipi molecolari:

- p53 (?), bcl-2 (?), Cyclina D1 (?)
- Ki67 > 20%
- p53 (?), bcl-2 (?), Cyclina D1 (?)
- HER2 positivo, Basal-like
- ER, PR: predittivi della risposta alla Targeted-therapy

# Significato predittivo di residuo tumorale Significato predittivo di residuo tumorale

Sioshansi S, et al. *Cancer* 2012; 118:3893-3898

## Invasivo dopo CS

- Stato linfonodale positivo
- Stato linfonodale positivo
- Dimensioni T elevate



- Escissione più ampia?
- Escissione più ampia?
- Boost di RT con dose più

- ❖ Studio retrospettivo
- ❖ Riscossione retrospettiva fondata su protocolli condivisi
- ❖ Riscossione non fondata su protocolli condivisi

tumorale



p53 binding protein (53BP1)

p53 binding protein (53BP1)

marker prognostico indipendente di RL?

- E' il primo studio che dimostra 53BP1 con la OS ( $p = 0.02$ ) e della RAS (piazioni) dell'espressione di nelle pazienti

sottoposte a CS + RT (477 casi)

- ❖ E' uno studio retrospettivo con una raccolta incompleta dei
- ❖ E' uno studio retrospettivo con una raccolta incompleta dei
- parametri eterogenei (età e la reazione sistemica) in 20% dei

# loco-regionale dopo mastectomia

- dimensioni T elevate
- grading elevato
- infiltrazione della fascia
- ca lobulare invasivo
- invasione linfovaskolare
- N. elevato LN+
- estensione extracapsulare
- N. limitato LN asportati

## sottotipi molecolari:

- HER2 positivo
- Basal-like
- ER, PR, CK: predittivi della

risposta alla targeted-

# Sottotipi molecolari e Ki67 dopo mastectomia $\pm$ RT in pazienti N-

Selz J et al. *IJROBP* 2012, 84: 1123-1132

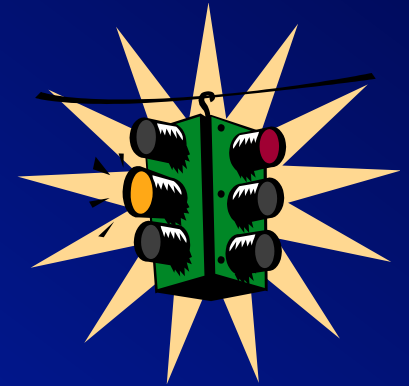
- L'espressione di Ki67 risulta predittiva di LRR ( $p < 0.0215$ ) mentre non lo sono i sottotipi molecolari

# Sottotipi molecolari in pazienti N+ ( $\geq 4$ ) dopo mastectomia $\pm$ RT

Wu S-G et al. *The Breast* 2012, 21: 657-661

- Analisi dei sottotipi molecolari:
  - > RFS e OS nei casi Luminal A con RT
  - > RFS nei casi Luminal B con RT

# Pro e contro



- Studi retrospettivi con FU breve
- Definizione dei sottotipi molecolari basata sull'analisi IHC e non sui profili di espressione genica
- In pochi casi HER2 positivi trattamento con Trastuzumab

➤ Potrebbero essere utili nuovi studi prospettici per indagare il potenziale beneficio della RT postoperatoria dopo mastectomia nei casi N- ad alto rischio (Ki67 >20%)

# Proposta di un nuovo score prognostico in pazienti con metastasi cerebrali

Le Scodan R et al. *J Neurooncol* 2012, 106: 169-176

- E' il **primo score prognostico** specifico per pazienti con metastasi cerebrali da ca mammario che include **parametri biologici** oltre che clinici ( ~~Classificazione~~ RPA basata su indicatori clinici)
- Conferma che le pazienti con **sottotipo molecolare HER2+ trattate con Trastuzumab** hanno una **sopravvivenza più lunga** (mediana: 19.5 mm.)
- Questo score potrebbe avere anche implicazioni terapeutiche:
  - **WBRT con frazionamento diverso**



# Risk for central nervous system metastasis development in HER-2 + patients treated with Trastuzumab

Univariate analysis		
Variable	CNS M+	p
Menopausal status		
Premenopausal	50.0%	
Postmenopausal	21.0%	.001
Age		
≤ 50 years	46.4%	.003
> 50 years	20.8%	
ER status		
Negative		
Positive	43.3%	.047
Visceral M+ at relapse		
Yes	41.5%	.04
No	22.5%	

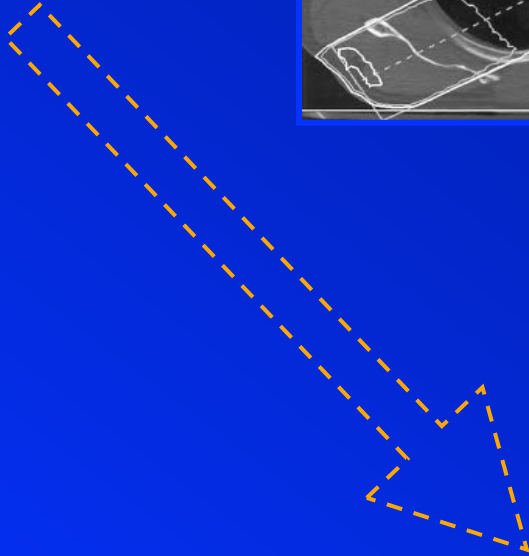
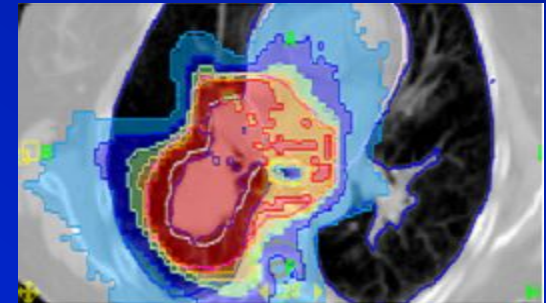
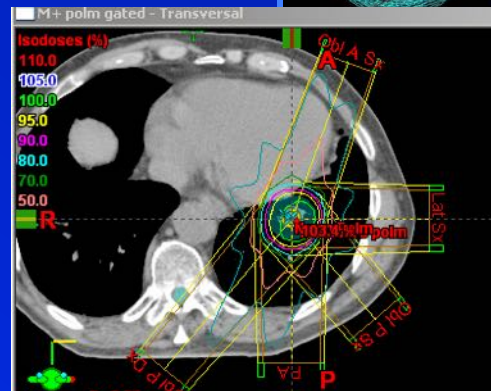
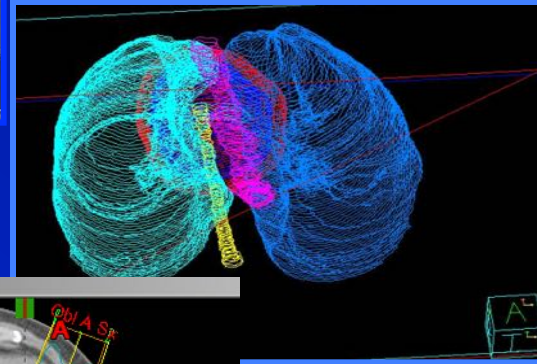
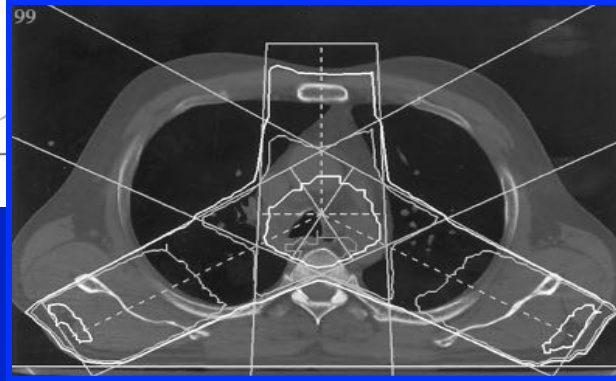
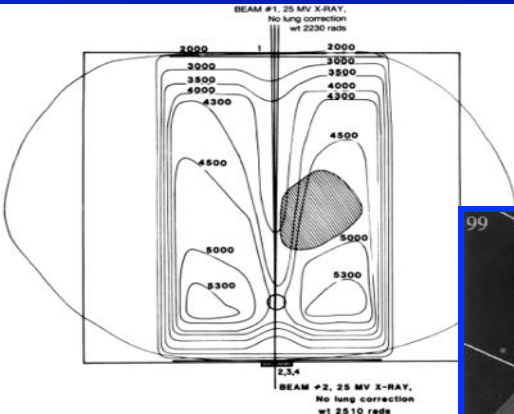
## ➤ Proposte terapeutiche:

- Chirurgia
- WBRT
- RT stereotassica
- Terapia con Trastuzumab per mantenere il controllo delle altre sedi M+

## ➤ Nei sottogruppi a rischio:

- Sorveglianza attiva?
- WBRT a scopo profilattico?
- Terapia sistemica con Lapatinib?

# Evoluzione tecnologica in Radioterapia



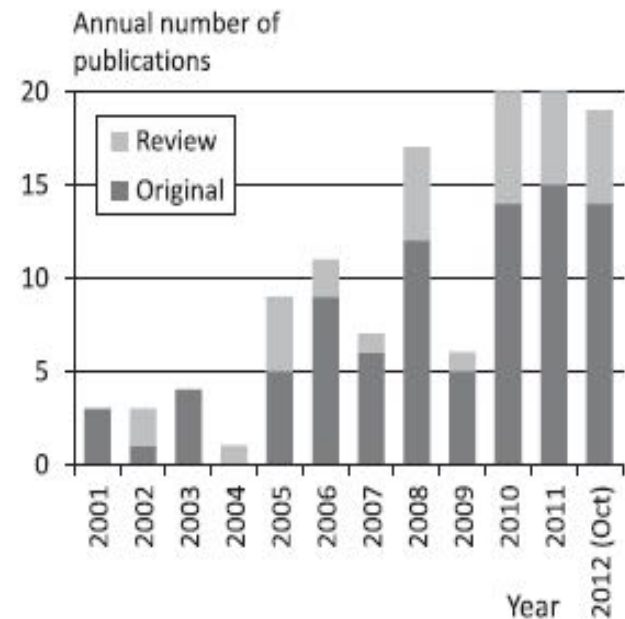
# Fattori predittivi di radiotossicità

- Il danno ai tessuti sani rappresenta tuttora un fattore limitante per la RT
- Notevole variabilità interindividuale sia per i danni acuti che per quelli tardivi
- Soltanto il 30% delle variazioni della risposta dei tessuti sani alla RT attribuibili a modificazioni dei parametri di trattamento, il 70% alle differenze di radiosensibilità su base genetica



# Fattori predittivi di radiotossicità

- Studi sulla capacità di riparazione della doppia elica del DNA ( → BRCA1/2)
- Studi del profilo di espressione genica in vitro e in vivo
- Ricerca di markers genetici come gli SNPs



**Fig. 1.** Histogram showing the annual number of publications addressing SNPs and normal tissue radiosensitivity. The 120 publications (88 original papers and 32 reviews) were identified by means of a Medline search using the key words 'radiotherapy' and 'polymorphisms'. Papers that did not address normal tissue reactions were excluded.

# SNPs e radiotossicità

Falvo E. et al. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 2012, 31: 7

- Valuta l'associazione tra SNPs e radiotossicità tardiva dopo PBI con 3D-CRT/ 1 fr. in 57 pazienti, con FU di 38 mm.
- rischio maggiore di fibrosi  $\geq$  G2 o di necrosi del tessuto adiposo con la variante polimorfica di GSTP1 (Ile105Val) (OR=2.9 p= 0.047)

# SNPs ed eritema radioindotto

Raabe A. et al. *Radiation Oncology* 2012, 7: 65

- Lo studio retrospettivo dimostra una correlazione tra grado di eritema (RTOG score) e volume mammario (OR=2.55 p=0.041)
- Nell'intera casistica (83 pazienti) nessuna correlazione statisticamente significativa tra i 5 SNPs analizzati (ATM, GSTP1, TGFB1, XPD e XRCC1) ed il rischio di eritema

# Analisi dei 5 SNPs in relazione al rischio di eritema o di fibrosi

- ❖ Il profilo di rischio per l'eritema risulta diverso da quello per la fibrosi: la tossicità acuta e tardiva seguono percorsi molecolari e cellulari differenti

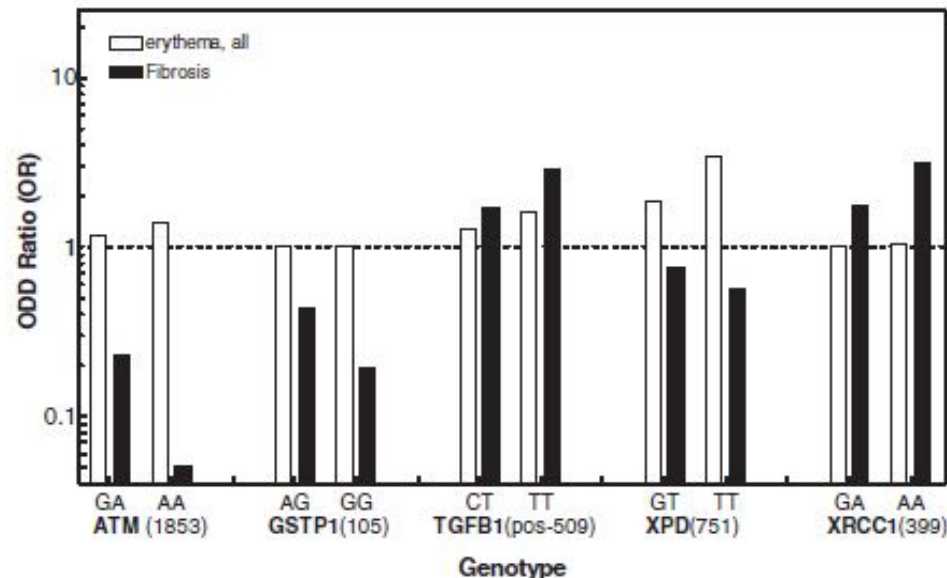


Figure 2 Association of SNPs in *ATM*, *GSTP1*, *TGFβ1*, *XPD* and *XRCC1* with risk of either erythema or fibrosis for breast cancer patients treated by conserving radiotherapy. Odd ratios (ORs) obtained are plotted vs. the respective gene variants. Data shown for fibrosis are taken from [22].

# SNPs e radiotossicità

Barnett GC et al. *Radiotherapy and Oncology* 2012, 105: 289–295



- La metanalisi non ha confermato l'associazione tra lo SNP rs1800469 di TGFB1 e l'aumentato rischio di fibrosi radioindotta
  - E' il primo lavoro con potere statistico sufficientemente ampio (2782 pz.) che valuta la correlazione di uno SNP con il danno da radiazioni nei tessuti normali
  - Deriva dalla collaborazione dei gruppi di ricerca aderenti al Radiogenomics Consortium
- 
- La fibrosi da radiazioni è un processo multifattoriale che implica un'interazione complessa tra diverse proteine
  - La sua genesi è verosimilmente correlata a variazioni genetiche in più proteine coinvolte in questo processo

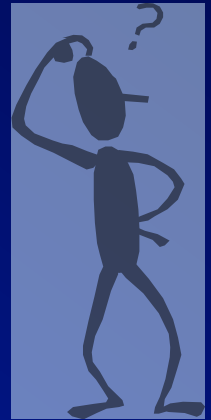
# *Fattori prognostici e sottotipi molecolari: quali interazioni con la RT?*



- Diversi markers molecolari sono stati esaminati per ricercare una correlazione con la risposta del tumore mammario alla RT o con la radiotossicità acuta e tardiva dei tessuti normali, con risultati spesso discordanti e comunque non conclusivi



# E' importante proseguire la ricerca dei markers molecolari?



- ❖ I markers molecolari potrebbero essere particolarmente utili nell'identificare:
  - ✓ le pazienti in cui la RT dopo CS non è in grado di aggiungere alcun beneficio
  - ✓ Le pazienti con 1-3 N+ che potrebbero trarre vantaggio dalla RT post-mastectomia
  - ✓ Le pazienti in cui sarebbe preferibile la mastectomia al trattamento conservativo

# Conclusioni

- Lo studio dell'espressione del profilo genico rappresenta uno strumento volto ad integrare e non a sostituire i criteri clinici e patologici tradizionali
- Le evidenze scientifiche attuali non giustificano un suo uso indiscriminato nella pratica clinica
- Si rendono indispensabili studi prospettici, su grandi coorti di pazienti, per dimostrarne la validità, condotti da gruppi cooperativi di ricerca

RAPPER                      gene-PARE                      ESTRO GENEPI  
RGC (International Radiogenomics Consortium)

- Trial multicentrico europeo in corso:  
**Preoperative Accelerated Partial Breast Irradiation trial:**
  - la risposta clinica alla RT verrà analizzata assieme ai profili di espressione genica dei tumori