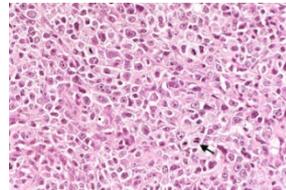
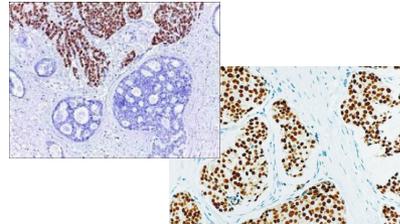


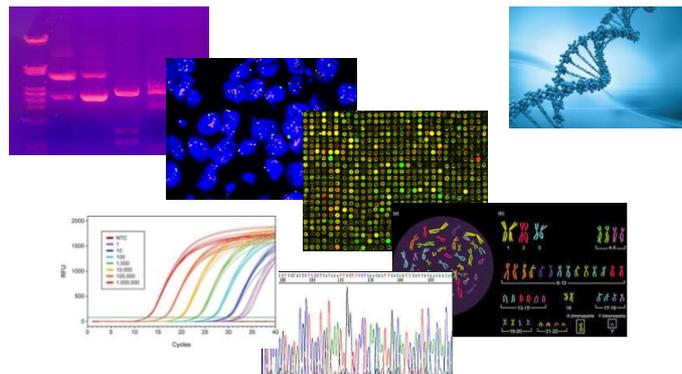
**morfologia**



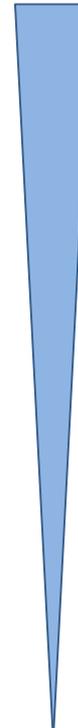
**colorazioni  
immunoistochimiche  
(da anni '80)**



**biologia molecolare  
(da anni '90)**



**DA...  
classificazione delle malattie  
dal punto di vista morfologico**



**A...  
definizione di biomarcatori e  
di alterazioni geniche nei  
tessuti patologici**

## S.C. ANATOMIA ed ISTOLOGIA PATOLOGICA e CITODIAGNOSTICA

### LABORATORIO DI BIOLOGIA MOLECOLARE

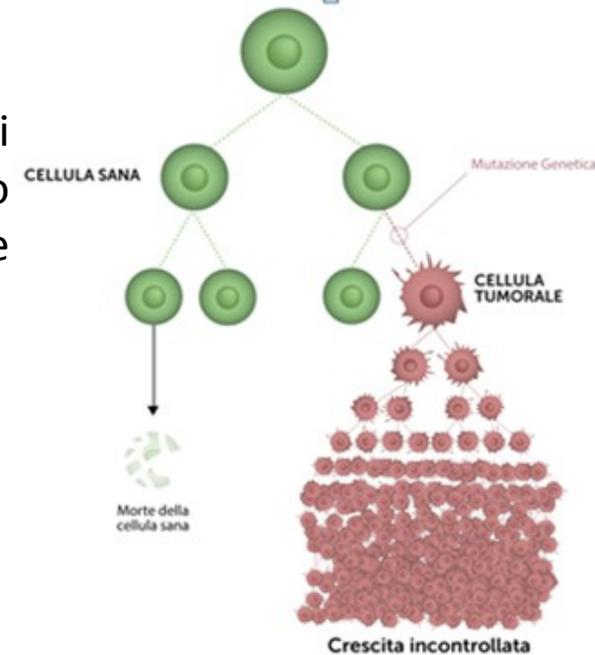
- Il Laboratorio di Biologia Molecolare è una Sezione della SC Anatomia Patologica ed è situato presso il P.O. San Bartolomeo di Sarzana.
- È operante dal 2001, quando è nato anche grazie ad un finanziamento della Fondazione CARISPEZIA.
- È stato costantemente supportato da associazioni onlus del territorio con borse di studio, donazioni di apparecchiature e sostegno per l'aggiornamento del personale.



## Le mutazioni e il cancro

➤ Nelle cellule del nostro organismo, complessi meccanismi di regolazione stabiliscono se la cellula si deve dividere, quando si deve dividere oppure se deve andare incontro a morte programmata.

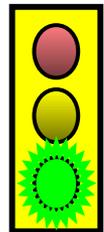
➤ Quando questi meccanismi vengono alterati, la cellula "perde il controllo" e può succedere che inizi a proliferare in maniera sregolata dando origine ad una neoplasia.



➤ Questa "perdita di controllo" è causata in gran parte da alterazioni a livello del DNA (**mutazioni**).

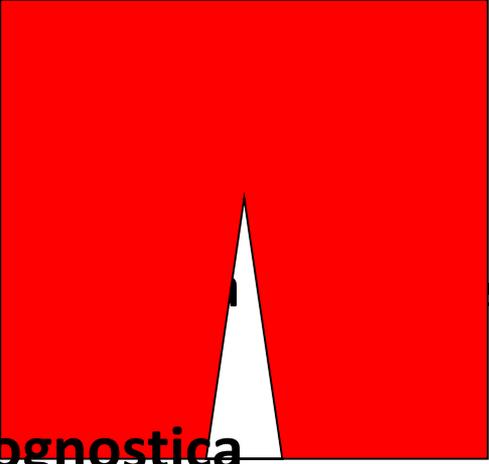


➤ Queste mutazioni del DNA possono essere paragonate ad un semaforo sempre verde che spinge la cellula a proliferare anche quando non dovrebbe.



## Perchè è importante identificare le mutazioni nelle cellule neoplastiche?

### Applicazione

- 
- **Diagnostica** (per la classificazione)
  - **Prognostica**
  - **Predittiva** (*Targeted therapy*)

## MODELLO TRADIZIONALE



Pazienti



terapia



Benefici



Nessun  
beneficio



Effetti  
avversi

## MEDICINA PERSONALIZZATA



Pazienti



analisi mutazionali



terapie differenziate



Ogni paziente trae benefici dal  
trattamento individualizzato

La chemioterapia colpisce le cellule tumorali in attiva replicazione. La selezione della terapia dipende dal tipo di tumore.

Il farmaco colpisce in modo selettivo molecole con specifiche alterazioni.

# Analisi mutazionali....quali tecnologie?

**Tecnologie tradizionali**



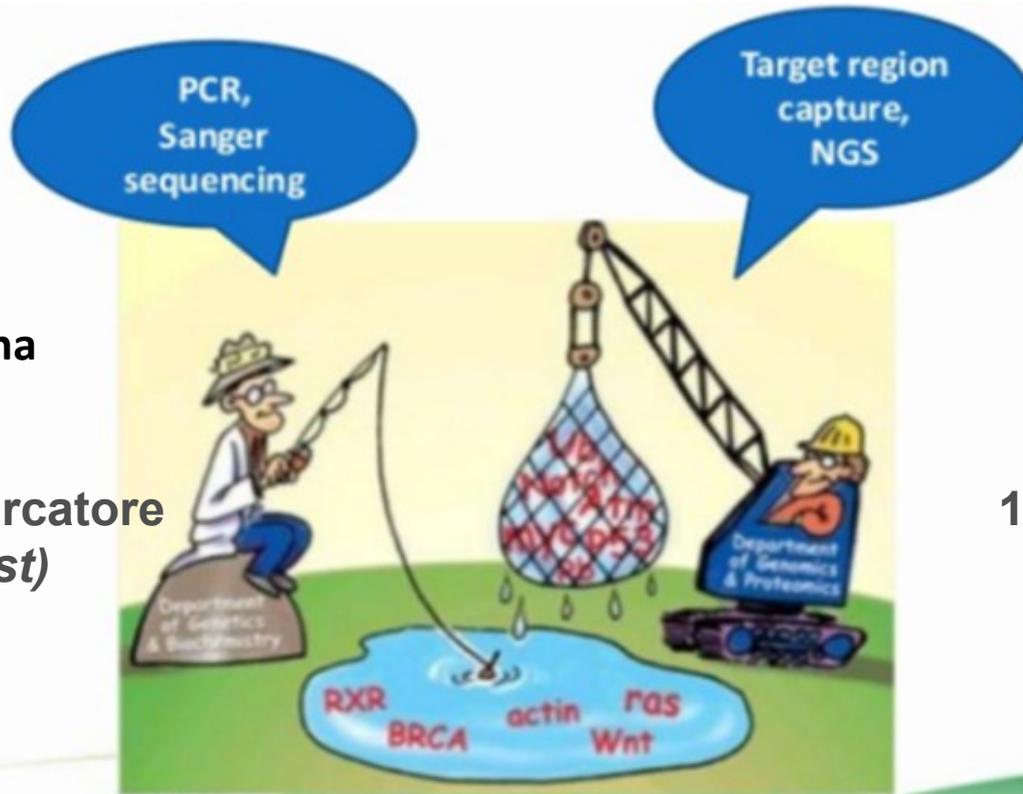
**Reazione polimerasica a catena (PCR)**

**Test a singolo biomarcatore (single-gene test)**



neoplasie per le quali i biomarcatori da ricercare sono in numero limitato

es. adenocarcinoma del colon: KRAS, NRAS, BRAF



**Nuove tecnologie**



**sequenziamento di nuova generazione (NGS)**

**1 singolo test per tutti i biomarcatori (all in one test)**



neoplasie per le quali i biomarcatori da ricercare sono numerosi

es. adenocarcinoma del polmone: EGFR, KRAS, BRAF, ALK, ROS1, RET, MET, NTRK, PD-L1


**Società Europea di Oncologia Medica**


**Associazione Italiana di Oncologia Medica**

# Analisi mutazionali nel nostro laboratorio....

## TECNOLOGIE TRADIZIONALI (PCR)

RICERCA DI MUTAZIONI  
PER DIAGNOSI E  
TERAPIA

- Neoplasie ematologiche
- Tumore del colon
- Melanoma
- Neoplasie tiroidee

RICERCA DI MUTAZIONI  
PER TOSSICITÀ

Ricerca di mutazioni  
che aumentano il  
rischio di sviluppare  
tossicità durante la  
chemioterapia

Circa 500 test all'anno

## NGS

Sequenziamento  
di nuova generazione

+

- Neoplasie polmonari
- Neoplasie bilio-pancreatiche
- GIST (Tumori Stromali  
Gastrointestinali)
- .....

Circa 150 test all'anno



Sequenziatore *Illumina iSeq*





Microtomo rotativo semiautomatico



Piattaforma Idylla Biocartis



ASL 5 SPEZZINO REGIONE LIGURIA OSPEDALE S. ANDREA - LA SPEZIA  
SERVIZIO DI ANATOMIA ED ISTOLOGIA PATOLOGICA E CITODIAGNOSTICA

Direttore facente funzioni Dr. Paolo Dessanti  
S.S. BIOLOGIA MOLECOLARE E CITOLOGIA – Responsabile Dr. Paolo Dessanti  
Laboratorio Biologia Molecolare – Referente Dr.ssa Paola Ferro  
Ospedale San Bartolomeo, Via Cisa loc. Santa Caterina, 19038 Sarzana (SP)  
Tel 0187 604560, email: biologiamolecolare@asi5.liguria.it

### Referto BIOLOGIA MOLECOLARE

Ente: \_\_\_\_\_ Reparto: ONCOLOGIA

Esame n° B/XXX/2024 del 22/12/2023

XXXXX YYYYYY  
Sesso:

Nato il:  
Età:

Medico richiedente: DR.....

Esterno

#### MATERIALE ESAMINATO :

Inclusione in paraffina .....relativa a agobiopsia di adenocarcinoma del polmone.  
Cellularità tumorale presente nel campione: circa 40%.  
Arricchimento: non eseguito.  
Esame eseguito su ma estratto da tessuto tumorale.

**INDAGINI RICHIESTE:** Riarrangiamento geni ALK, ROS1, NTRK1/2/3, RET, MET (exon 14 skipping).

#### RISULTATO ricerca RIARRANGIAMENTI – RNA(NGS):

+	ALK	RILAVATA fusione ENL4 - ALK
	ROS1	Non rilevati <u>riarrangiamenti</u> nelle regioni analizzate
	NTRK 1/2/3	Non rilevati <u>riarrangiamenti</u> nelle regioni analizzate
	RET	Non rilevati <u>riarrangiamenti</u> nelle regioni analizzate
	MET ( <u>exon 14 skipping</u> )	Non rilevati <u>riarrangiamenti</u> nelle regioni analizzate

NOTE: Non sono stati rilevati riarrangiamenti a carico degli altri geni inclusi nel pannello analitico.



ASL 5 SPEZZINO REGIONE LIGURIA OSPEDALE S. ANDREA - LA SPEZIA  
SERVIZIO DI ANATOMIA ED ISTOLOGIA PATOLOGICA E CITODIAGNOSTICA

Direttore facente funzioni Dr. Paolo Dessanti  
S.S. BIOLOGIA MOLECOLARE E CITOLOGIA – Responsabile Dr. Paolo Dessanti  
Laboratorio Biologia Molecolare – Referente Dr.ssa Paola Ferro  
Ospedale San Bartolomeo, Via Cisa loc. Santa Caterina, 19038 Sarzana (SP)  
Tel 0187 604560, email: biologiamolecolare@asi5.liguria.it

Continua referto: B/XXX/2024 del 22/12/2023

#### DATI ANALISI MOLECOLARE:

L'analisi è stata effettuata mediante test NGS (Next Generation Sequencing) su RNA (per la ricerca di riarrangiamenti genici) su piattaforma Illumina "iSeq 100".

#### Metodica utilizzata:

- Estrazione acidi nucleici: l'RNA è stato estratto da sezioni di tessuto FFPE mediante MagCora Total RNA FFPE One Step Kit ed estrattore MagCora HF16 (RBC BioScienza Corp.). Procedure e reagenti certificati CE-IVD.
- Ricerca di riarrangiamenti: eseguita a partire da RNA mediante pannello diagnostico "Myriapod Cancer Panel RNA" amplicon-based (Diatach Pharmacogenetics, CE-IVD).
- Analisi eseguita mediante software "Myriapod NGS Data Analysis software 5.0.4" (Diatach Pharmacogenetics).
- Nomenclatura internazionale: HGVS.

#### Lista dei geni inclusi nel pannello diagnostico utilizzato e cut-off di valutazione molecolare:

Riarrangiamenti dei geni: ALK, FGFR2, FGFR3, MET (skipping esone 14), NTRK1-2-3, PPARG, RET, ROS1.

(L'elenco completo delle regioni analizzate e dei partner di fusione è depositato presso la SC Anatomia Patologica).

Sensibilità analitica = 99%.  
Specificità analitica = 99%.  
Accuratezza = 99%.

Laboratorio certificato per la determinazione di mutazioni (Controllo Qualità Europeo EMQN - External Quality Assessment LUNG CANCER (NSCLC) [Tissue] 2021, Colorectal cancer Scheme 2020)

Si ringrazia il Comitato Assistenza Malati Ing. Peroli per il contributo economico fornito.

Data Referto: 24/12/2023