

## II SESSIONE

### IMAGING E MARCATORI BIOMOLECOLARI

**Luca Vaggelli**

Medicina Nucleare  
Azienda Ospedaliero-Universitaria  
Careggi, Firenze

#### IL RUOLO PET-TC NEL TUMORE POLMONARE

Nonostante gli sviluppi clinico-strumentali nella diagnosi, staging e trattamento del tumore polmonare non a piccole cellule (NSCLC), la sopravvivenza globale a 5 anni dei pazienti con NSCLC operabile è meno del 50 %.

Una così bassa sopravvivenza dei pazienti affetti da questo tumore è dipendente da molteplici fattori (tipo aggressività del fenotipo), ma uno dei principali è sicuramente l'effettuare un'accurata stadiazione clinica, mancando la quale si viene a perdere fattori importanti per l'incremento della sopravvivenza (corretta selezione dei pazienti operabili, terapia neo-adiuvante ecc.). Nel management del NSCLC l'FDG-PET-TC è una tecnica di recente utilizzo nella pratica clinica che ha enormi potenzialità di sviluppo. Il suo vantaggio, rispetto alle altre tecniche radiologiche (ECO, RNM e TC), è legato alla capacità di evidenziare alterazione del metabolismo glicidico della cellula, caratteristica che assieme ad altre alterazioni, caratterizza la cellula tumorale rispetto a quelle sane.

Nel NSCLC la FDG-PET-TC trova il suo utilizzo in varie fasi come la caratterizzazione funzionale del nodulo polmonare isolato, lo staging linfonodale, il follow up (sospetta ripresa di malattia e metastasi a distanza), valutazione efficacia della terapia e più recentemente anche come guida nella pianificazione del centraggio in radioterapia.

Per quanto riguarda la caratterizzazione del nodulo polmonare isolato la FDG-PET-TC già nel 2001 con Gould <sup>(1)</sup> evidenziava un'elevata sensibilità (Se), specificità (Sp) ed accuratezza con valori rispettivamente del 96%, 78% e 91 %. Questi dati sono confermati anche da studi più recenti del 2008 <sup>(2)</sup>, evidenziando la concretezza dei risultati anche dopo l'ampia diffusione dell'apparecchiatura nel mondo.

Studi non recenti, ma che per primi hanno evidenziato la diversa accuratezza della tecnica FDG-PET-TC in relazione alle dimensioni del nodulo polmonare <sup>(3)</sup>, mostrano come noduli al di sotto del centimetro di diametro (< 8-10 mm) hanno Se molto ridotte (69%) rispetto a quelli > 10 mm dove la Se si conferma superiore al 90% (95%). In particolare si pone molta attenzione nel valutare come deboli alterazioni del metabolismo glicidico, in noduli di diametro inferiore a 6 mm, debbano essere considerate come fortemente sospette per presenza di neoplasia maligna. La tecnica FDG-PET-TC presenta comunque dei limiti diagnostici che possiamo ritrovare in numerosi lavori rappresentati da falsi positivi (FP) e falsi negativi (FN). In particolare le principali cause di FP sono principalmente foci infiammatori di granulomatosi (tubercolari, fungine, sarcoidotiche) o esiti post intervento o RT, le forme autoimmuni, la placca ateromatosa. Viceversa le principali cause di FN possono essere adenocarcinomi ben differenziati, ca. bronchiolo-alveolari (60%), carcinoidi (85%).

Per quanto concerne l'imaging diagnostico nello staging mediastinico del NSCLC l'American College of Chest Physicians <sup>(4)</sup> ha pubblicato su Chest 2007 l'Evidence Based Clinical practice-Linea Guida riportando dati di Se e Sp della FDG-PET/TC rispettivamente di 74% e 85% che confrontati con quelli della sola TC (Se 51% e Sp 85%) appaiono molto interessanti anche se sono valori medi fra studi con casistica selezionata molto diversa fra loro. Quello che si evidenzia in questo lavoro, peraltro già noto all'inizio dell'utilizzo della PET-TC, è la diversa accuratezza diagnostica della PET-TC in base al diametro massimo dei linfonodi studiati. Infatti si conferma come la PET-TC abbia valori elevati di Se, ma più bassi di Sp quando i linfonodi hanno diametri maggiori al centimetro; viceversa quando i diametri sono inferiori al centimetro si innalza la Sp, riducendosi i valori di Se a tal punto che linfonodi sotto il centimetro che mostrano un focus di accumulo del radio farmaco, anche minimo, sono con un'alta probabilità con caratteristiche maligne.

Un aiuto al miglioramento dell'accuratezza nella diagnosi linfonodale mediastinica è venuto dall'utilizzare la tecnica PET-TC in due fasi, cioè valutando l'accumulo del radio farmaco a livello

mediastinico linfonodale sia nella fase standard di acquisizione (1 ora dall'iniezione del radiofarmaco) che a 3 ore dopo la somministrazione <sup>(5)</sup>.

Questa tecnica si basa sul calcolo matematico dell'"indice di ritenzione" (RI) sul SUV delle lesioni a 1 ora e 3 ore. Il suo utilizzo porta ad un incremento importante della Sp dell'esame. Ovviamente questo metodo incide sulla normale routine della tecnica PET-TC e sul tempo in cui il paziente sosta nella Medicina Nucleare, ma sicuramente applicato su pazienti selezionati può essere molto utile per migliorare il management del paziente.

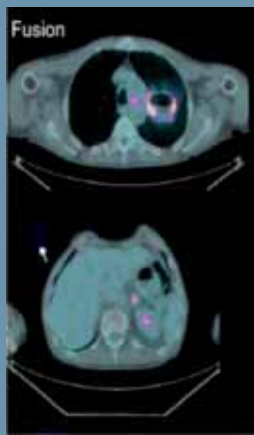
Nella stadiazione del M nel NSCLC i dati di letteratura ci fanno vedere come la FDG-PET-TC cambia il management del paziente almeno nel 18 % dei casi <sup>(7)</sup> e questo è quello che nei nostri Centri PET vediamo quotidianamente e cioè l'evidenza di sedi di metastasi a distanza che fino ai precedenti accertamenti clinici non si era manifestata. Per quanto concerne la ricerca di sedi di malattia a livello surrenalico i dati di letteratura ci indicano un'ottima accuratezza della PET-TC a tal punto che si è oramai convenuto che in caso di PET-TC positiva per malattia si invia il paziente alla biopsia, mentre nei casi negativi alla PET-TC si considera il paziente negativo per metastasi surrenalica <sup>(7)</sup>.

A livello epatico la PET-TC ha un ruolo esclusivamente nei casi in cui le metodiche diagnostiche cosiddette tradizionali, rimangono dubbie. Si considera che esistano circa un 2% di casi in cui la FDG-PET-TC evidenzia sedi di malattia in sede epatica non diagnosticate con altre metodiche. Un punto molto discusso in letteratura è quale tecnica medico nucleare utilizzare da parte del clinico quando vuole valutare la struttura scheletrica nella ricerca di eventuali metastasi ossee. C'è un lavoro di Fogelman del 2005 <sup>(8)</sup> che mette in risalto le diverse caratteristiche della FDG-PET-TC rispetto alla scintigrafia ossea con 99mTc-MDP (BS). Infatti come sappiamo la BS vede la reazione osteoblastica che si determina ogni qual volta una formazione neoplastica si forma all'interno dell'osso come processo riparativo, mentre la FDG-PET evidenzia proprio l'alterazione metabolica che caratterizza le cellule della formazione neoplastica. In questo senso si evince dal lavoro di Fogelman come la FDG-PET-TC sia molto più accurata nel definire le lesioni ossee osteolitiche (92% vs 73%), mentre la BS evidenzia meglio quelle osteoblastiche (95% vs 74%). Negli ultimi anni in letteratura, ma anche nei nostri centri ospedalieri locali, si sta sempre più evidenziando la voglia di utilizzare nella diagnostica dell'osso una sola metodica medico nucleare. In questo senso c'è un recente studio <sup>(9)</sup> che confronta la BS con la PET-TC eseguita con FDG mettendo in rilievo i possibili FN (21%) della BS e concludendo che FDG-PET/TC può sostituire l'esecuzione del BS nello staging del NSCLC con significativa riduzione dei costi (Figura 1).

Figura 1



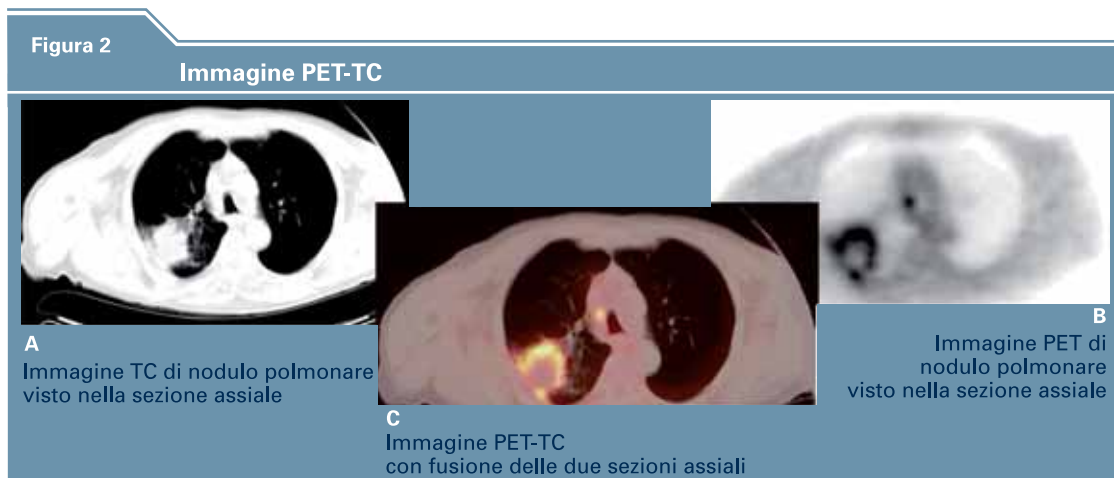
Immagine coronale FDG-PET con evidenziazione di tre foci di accumulo rispettivamente a livello del lobo superiore del polmone sn, in sede ilare sn e surrenalica sn



Due immagini assiali con fusione PET-TC che mostrano due sedi di accumulo del radiofarmaco rispettivamente in sede polmonare sn ed ilare sn (foto in alto) e surrenalica sn (foto in basso)

Infine un punto importante nell'iter diagnostico del NSCLC è rappresentato dalla valutazione dell'efficacia di chemio o radioterapia in corso di FU di pazienti su eventuali sedi di malattia. In questo caso la letteratura riporta dati di Se e Sp molto elevati (Se 93-100%; Sp 89-92%), ma spesso questa efficacia diagnostica si scontra con la mancanza di terapie alternative efficaci nel bloccare o far regredire la malattia <sup>(8)</sup>.

Un nuova applicazione della FDG-PET è senza dubbio quella di affiancarsi alla TC nel pianificare il campo per il trattamento radioterapico (Figura 2).



Questo ha consentito l'introduzione di un nuovo concetto: BTV (Biological Target Volume) cioè quello di definire il volume da irradiare tenendo conto non solo delle dimensioni della lesione, ma anche del suo metabolismo all'interno. Recenti lavori mostrano come con l'avvento della PET ci sia stato un cambiamento del volume calcolato del 20% rispetto al volume evidenziato con la sola TC (7). Non solo ma questo ha permesso di evidenziare anche sedi di malattia sconosciute al momento dell'invio al piano di centraggio che conseguentemente hanno modificato il management terapeutico del paziente.

La PET-TC è oramai un punto fermo nelle varie fasi dell'imaging diagnostico del NSCLC e con l'avvento di nuovi radio farmaci PET, sempre più specifici per i singoli metabolismi cellulari, come 18F e 11C- timidina (indice di proliferazione cellulare), 18F MISO (marcatore dell'ipossia cellulare) e 11C Metionina (metabolismo proteico) potrà divenire la tecnica "gold standard" per lo studio funzionale cellulare. In questi ultimi anni la sua potenzialità funzionale cellulare sta portando all'utilizzo della PET negli studi sperimentali per lo sviluppo di nuovi farmaci per terapie oncologiche.

#### Bibliografia

- 1) Gould MK, Maclean CC, Kuschner WG, et al. *Accuracy of positron emission tomography for diagnosis of pulmonary nodules and mass lesions: a meta-analysis.* JAMA 2001;285(7):914-24.
- 2) Cronin P, Dwamena BA, Kelly AM, et al. *Solitary pulmonary nodules and masses: a meta-analysis of the diagnostic utility of alternative imaging tests.* Eur Radiol 2008;18(9):1840-56. Epub 2008 Jul 8.
- 3) Bastarrika G, Garcia-Velloso MJ, Lozano MD, et al. *Early lung cancer detection using spiral computed tomography and positron emission tomography.* Am J Respir Crit Care Med 2005;171(12):1378-83. Epub 2005 Mar 24.
- 4) Silvestri GA, Gould MK, Margolis ML, et al. *Noninvasive staging of non-small cell lung cancer: ACCP evidenced-based clinical practice guidelines (2nd edition).* Chest 2007;132(3 Suppl):178S-201S.
- 5) Uesaka D, Demura Y, Ishizaki T, et al. *Evaluation of dual-time-point 18F-FDG PET for staging in patients with lung cancer.* J Nucl Med 2008;49(10):1606-12. Epub 2008 Sep 15.
- 6) Baum RP, Hellwig D, Mezzetti MQ, et al. *Position of nuclear medicine modalities in the diagnostic workup of cancer patients: lung cancer.* Q J Nucl Med Mol Imaging 2004;48(2):119-42.
- 7) Behzadi A, Ung Y, Lowe V, Deschamps C. *The role of positron emission tomography in the management of non-small cell lung cancer.* Can J Surg. 2009;52(3):235-42.
- 8) Fogelman I, Cook G, Israel O, et al. *Positron emission tomography and bone metastases.* Semin Nucl Med 2005;35(2):135-42.
- 9) Krüger S, Buck AK, Mottaghy FM, et al. *Detection of bone metastases in patients with lung cancer: 99mTc- MDP planar bone scintigraphy, 18F-fluoride PET or 18F-FDG PET/CT.* Eur J Nucl Med Mol Imaging 2009;36(11):1807-12. Epub 2009 Jun 6.

## MARCATORI BIOMOLECOLARI NEL CARCINOMA POLMONARE NON A PICCOLE CELLULE (NSCLC): FATTORI PREDITTIVI, PROGNOSTICI E METODICHE DI RILEVAZIONE

Per marcatori biomolecolari si intendono delle molecole, al cui stato od espressione, oggettivamente misurabile, si associa un chiaro significato biologico. Questo può essere prognostico, legato cioè alla evoluzione della patologia o predittivo, legato alla riuscita o meno della terapia. Qui vogliamo fare brevemente il punto sullo stato dell'arte relativo alle diverse metodologie utilizzate per identificare marker predittivi di risposta alla terapia biologica anti-EGFR con inibitori delle tirosin-chinasi (EGFR TKIs) del carcinoma a cellule non piccole del polmone (NSCLC). Poiché solo una piccola parte dei pazienti beneficiano di tale trattamento, è importante identificare marker predittivi di risposta alla terapia. Vediamo quali sono gli approcci a nostra disposizione.

### Immunoistochimica

L'approccio immunoistochimico presenta notevoli vantaggi, consentendo la contemporanea valutazione dell'espressione e della localizzazione del segnale e considerando il fatto che la maggior parte dei tessuti è conservata sotto forma di inclusi in paraffina. Tale metodica inoltre è pratica routinaria per gli anatomo-patologi. Purtroppo la variabilità delle condizioni di fissazione dei tessuti, dei cloni anticorpali usati e dei sistemi di scoring utilizzati rendono tale tecnologia non ottimale nel determinare i pazienti responsivi <sup>(1)</sup>.

### FISH

L'associazione fra incremento delle copie del gene EGFR osservate con le indagini di fluorescenza <sup>(2)</sup> e la risposta clinica è stata studiata in numerosi lavori. In Italia, l'Italian Expanded Access Study sul gefitinib ha mostrato una associazione fra l'incremento delle copie di EGFR, la frequenza di risposta alla terapia ed una maggiore sopravvivenza <sup>(3)</sup>. Studi su pazienti asiatici non hanno riscontrato tale associazione, suggerendo discrepanze fra genotipo asiatico e caucasico. L'I-PASS study group potrebbe chiarire tali discrepanze.

### qPCR

Grazie alla Polimerase Chain Reaction quantitativa, usando diversi primer marcati con fluorofori si può ottenere la quantificazione simultanea di multipli geni inclusi quelli di controllo. Il maggiore svantaggio della qPCR è rappresentato dalla contaminazione da parte di cellule non tumorali e nella diluizione della mutazione, problema che può essere ridotto con la microdissezione laser dell'area neoplastica. Purtroppo due studi su dosaggio del gene EGFR con PCR quantitativa e risposta alla terapia non hanno dimostrato predittività nella risposta al trattamento <sup>(4,5)</sup>.

### Mutazioni somatiche del gene EGFR

La delezione dell'esone 19 e la mutazione L858R nell'esone 21 sono responsabili di circa l'85-90% delle mutazioni attivanti il dominio tirosin-chinasico di EGFR e legate alla responsività alla terapia con EGFR TKIs negli NSCLC <sup>(6)</sup>. Queste mutazioni sono più comuni negli adenocarcinomi, negli asiatici, nelle donne e nei non fumatori. L'associazione di queste mutazioni e la risposta alla terapia con inibitori del dominio tirosin-chinasico sono state dimostrate in numerosi studi di fase II. La risposta globale alle terapie con EGFR TKIs è dell'80% dei pazienti portatori di mutazioni attivanti contro meno del 10% dei pazienti con EGFR wild-type. Una mutazione secondaria che coinvolge il codone 790 (T790M) è presente nel 50% dei casi di resistenza acquisita durante la terapia <sup>(7)</sup>. Questi risultati suggeriscono che la sostituzione T790M potrebbe essere un biomarker promettente per quei pazienti che non beneficeranno di una risposta agli EGFR TKI a lungo termine.

### Polimorfismi genici e EGFR TKI

Il gene EGFR presenta numerosi polimorfismi genetici, alcuni dei quali sono associati ad alterazioni dell'espressione di mRNA. Uno dei loci genici enhancer è localizzato nell'introne Uno e presenta polimorfismi di ripetizione del dinucleotide CA. Ripetizioni corte del dinucleotide CA sono associate a scarsa sopravvivenza in assenza di terapia con EGFR TKIs <sup>(8)</sup>, mentre polimorfismi nel multidrug transporter ABCG2, implicato nella rimozione dal citoplasma del gefitinib, sono associati all'aumento delle concentrazioni cellulari del farmaco con incremento della tossicità <sup>(9)</sup>. Sebbene le evidenze

Claudio Bellevicine  
Umberto Malapelle  
Valeria Varone

**Giancarlo Troncione**

*Dipartimento di Scienze  
Biomorfologiche e Funzionali,  
Università degli Studi di Napoli  
Federico II*

attuali siano contraddittorie, i polimorfismi genici possono rappresentare fonte di variabilità alla risposta e alla tossicità degli EGFR TKI.

### Mutazioni dell'oncogene KRAS

Negli NSCLC, più del 90% delle mutazioni dell'oncogene KRAS coinvolge i codoni 12 e 13. Nello studio TRIBUTE pazienti con mutazioni del gene KRAS trattati con associazioni di chemoterapici ed erlotinib hanno mostrato scarsa sopravvivenza rispetto ai pazienti trattati con i soli chemoterapici e ai pazienti wild-type<sup>(10)</sup>. Tali risultati suggeriscono che pazienti con mutazioni nei codoni 12 e 13 del gene KRAS non rispondano in modo ottimale ai trattamenti con EGFR TKIs.

### Conclusioni

Diventa sempre più chiaro il nesso tra la corretta identificazione di alterazioni morfo-molecolari e la selezione adeguata delle popolazioni di pazienti potenzialmente responsivi al trattamento con farmaci biologici. Bisogna, inoltre, stabilire linee guida capaci di indirizzare l'impiego delle varie tecniche a disposizione.

### Bibliografia

- 1) Ciardiello F, Tortora G. *EGFR antagonists in cancer treatment*. N Engl J Med 2008; 358(11):1160-74. Review. Erratum in: N Engl J Med 2009;360(15):1579.
- 2) Cappuzzo F, Hirsch FR, Rossi E, et al. *Epidermal growth factor receptor gene and protein and gefitinib sensitivity in non-small-cell lung cancer*. J Natl Cancer Inst 2005;97(9):643-55.
- 3) 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.
- 4) Bell DW, Lynch TJ, Haserlat SM, et al. *Epidermal growth factor receptor mutations and gene amplification in non-small-cell lung cancer: molecular analysis of the IDEAL/INTACT gefitinib trials*. J Clin Oncol 2005;23(31):8081-92.
- 5) Dziadziuszko R, Witta SE, Cappuzzo F, et al. *Epidermal growth factor receptor messenger RNA expression, gene dosage, and gefitinib sensitivity in non-small cell lung cancer*. Clin Cancer Res 2006;12(10):3078-84.
- 6) Riely GJ, Politi KA, Miller VA, et al. *Update on epidermal growth factor receptor mutations in non-small cell lung cancer*. Clin Cancer Res 2006;12(24):7232-41.
- 7) Gazdar AF. *Activating and resistance mutations of EGFR in non-small-cell lung cancer: role in clinical response to EGFR tyrosine kinase inhibitors*. Oncogene 2009; 28 Suppl 1:S24-31.
- 8) Dubey S, Stephenson P, Levy DE, et al. Eastern Cooperative Oncology Group. *EGFR dinucleotide repeat polymorphism as a prognostic indicator in non-small cell lung cancer*. J Thorac Oncol 2006; 1(5):406-12.
- 9) Rudin CM, Liu W, Desai A, et al. *Pharmacogenomic and pharmacokinetic determinants of erlotinib toxicity*. J Clin Oncol 2008;26(7):1119-27.
- 10) Eberhard DA, Johnson BE, Amler LC, et al. *Mutations in the epidermal growth factor receptor and in KRAS are predictive and prognostic indicators in patients with non-small-cell lung cancer treated with chemotherapy alone and in combination with erlotinib*. J Clin Oncol 2005; 23(25):5900-9.

## NUOVA STADIAZIONE TNM

### Carmine Santomaggio

Salvatore Caruso

Carmine Cerullo

Valentina Baldazzi

Alice Lunghi

Roberto Mazzanti

Oncologia medica II,

Azienda Ospedaliero-Universitaria

Careggi, Firenze

Le differenze, in sopravvivenza, rilevate dalle analisi del T, N e M di 68.463 pazienti, affetti da NSCLC, hanno indotto l'ISC (International Staging Committee) e lo IASLC (International Association for the Study of Lung Cancer) a modificare e quindi proporre una nuova classificazione di Staging TNM. La componente T, ovvero le dimensioni del tumore, ha un rilevante significato prognostico. Pertanto T1 viene suddiviso in T1a ( $\leq 2$  cm) e T1b ( $> 2 - \leq 3$  cm), T2 in T2a ( $> 3 - \leq 5$ ) e T2b ( $> 5 - \leq 7$ ), il tumore T2  $> 7$  cm diventa T3. La Tabella 1 mostra come le dimensioni del T modificano lo Stadio, nella 7° Edizione.

Tabella 1

### Cambio di stadio in funzione delle dimensioni del "T" (Ia-IIb)

Raggruppamento in Stadi di Malattia	6° Ediz.	7° Ediz.
Stadio Ia	T1, N0, M0	T1a<2cm // T1b<3cm (N0,M0)
Stadio Ib	T2, N0, M0	T2a>3cm<5cm (N0,M0)
Stadio IIa	T1, N1, M0	T1a-b/T2a (N0,M0) T2b(>5cm), (N0,M0)
Stadio IIb	T3, N0, M0 T2, N1, M0	T3>7cm, (N0,M0) T2b, (N1, M0)

Altro importante cambiamento è dato dai noduli metastatici nello stesso lobo del tumore primitivo che da T4 sono riclassificati a T3 e i noduli metastatici in altri lobi del polmone ipsilaterale che da M1 diventa T4. Il versamento pleurico con citologia positiva da T4 diventa M1a. L'N1, N2, e N3, ovvero la metastatizzazione alle stazioni linfonodali non subisce alcun cambiamento con la 7° Edizione.

L' M viene suddiviso in M1a (noduli metastatici nel polmone contro-laterale e disseminazione alla pleura) e M1b (metastasi extra-toraciche e/o a distanza) (Tabella 2).

Tabella 2

**Cambio di stadio in funzione del "T" e "M" (IIIa - IV)**

Raggruppamento in Stadi di Malattia	6° Ediz.	7° Ediz.
Stadio IIIa	T1-3, N2, M0 T3, N1, M0	T1a<2cm // T1b<3cm (N0,M0) T1-T2, N2 // T3, N1-2, M0 T3 (noduli-stesso lobo), N0-1, M0
Stadio IIIb	T4, ogni N, M0	T4 (noduli-stesso polmone), N2, M0 T1a-T4, N3, M0
Stadio IV	Ogni T, ogni N, M1 M1	Ogni T, ogni N, M1a (intra-torace) M1b (extra-torace)

**Carcinoma polmonare a piccole cellule**

La stessa classificazione TNM (7° Ediz.) e suddivisione in stadi dovrà essere utilizzata anche per il carcinoma polmonare a piccole cellule. In effetti, il TNM ha significato prognostico anche in questa variante istologica, ed ha il vantaggio di fornire un'uniforme e dettagliata classificazione della diffusione tumorale. Le precedenti categorie di carcinoma polmonare a piccole cellule "limitato" ed "esteso" sono state definite ed usate in maniera varia ed inconsistente. La categoria "malattia limitata", come usata nel Veterans Administration Lung Cancer Study Group System, corrisponde agli stadi I-IIIa, e la "malattia estesa" corrisponde allo stadio IIIB e IV.

**Conclusione**

Le modifiche stadiative apportate dalla 7° Edizione del TNM hanno introdotto nuovi e più precisi elementi che permetteranno di definire gli Stadi in modo più omogeneo e quindi meglio confrontabili. Di conseguenza la formulazione prognostica, sulla scorta di un TNM più accurato, e le scelte terapeutiche o meglio le strategie terapeutiche acquisteranno un valore maggiore in quanto più aderenti al "reale" comportamento della malattia ed uniformità di trattamenti adottati.

**Bibliografia consigliata**

Goldstraw P. *The 7th edition of TNM in Lung Cancer: What Now?* J Thorac Oncol 2009; 4:671-673.