

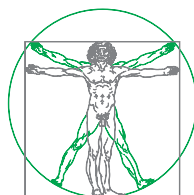


ONCOREVOLUTION

TISSUE

Revolution Oncology Diagnostics

Relazione Tecnica



AMES
Group

GENETICA MEDICA • MICROBIOLOGIA • PATOLOGIA CLINICA

ONCOREVOLUTION TISSUE (Biopsia solida)

Il cancro rappresenta la principale causa di morte in tutto il mondo e può potenzialmente svilupparsi in qualsiasi tessuto. Comprendere i meccanismi genetici alla base dello sviluppo tumorale è importante sia per prevedere la progressione tumorale sia per mettere a punto nuovi metodi di diagnosi e trattamento. Sebbene ad oggi siano stati identificati numerosi geni coinvolti nello sviluppo e nella progressione tumorale, la maggior parte dei tumori è eterogeneo dal punto di vista genetico, ossia presenta mutazioni multiple in geni diversi. La funzione genica può essere alterata da vari tipi di mutazioni che comprendono: variazioni di singolo nucleotide (SNVs), variazioni di nucleotide-multiple (MNVs), piccole inserzioni o delezioni, amplificazioni, varianti di splicing, fusioni geniche. Tutto ciò rende estremamente difficile l'analisi tumorale ed i metodi attualmente disponibili sono in grado di coprire solo una parte di queste mutazioni.

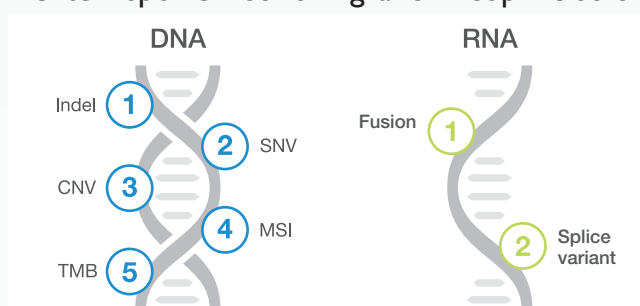


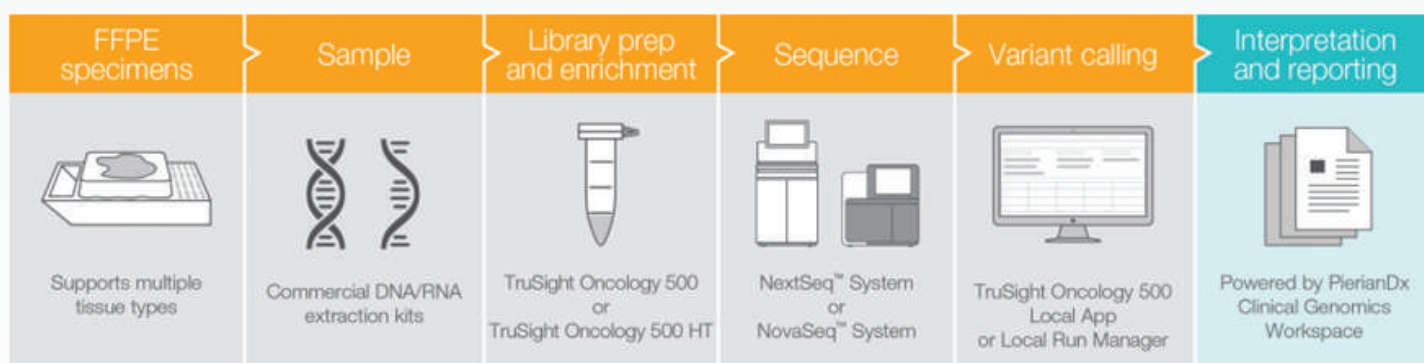
Figura 1. Di seguito sono elencate le classi di varianti identificate dal TSO500, insieme ai nuovi biomarcatori pan-tumoriali

I recenti progressi in campo oncologico hanno permesso l'individuazione di un numero crescente di biomarcatori predittivi di risposta a specifici trattamenti con farmaci biologici antineoplastici che hanno modificato notevolmente i protocolli oncologici e l'esito della patologia. La medicina di precisione in questi ultimi anni con l'avvento del sequenziamento massivo parallelo ha assunto un ruolo centrale nella comprensione, cura e gestione del paziente. In ambito oncologico si rende necessario quindi adottare queste misure data la grande variabilità delle patologie per consentire una efficace azione di tutela della salute del paziente, ma anche perché la variabilità genetica naturale può influenzare in maniera importante l'esito del trattamento e di conseguenza della malattia. La divisione di genetica dedicata all'oncologia del Centro AMES mette a disposizione del paziente oncologico e di quello ad alto rischio di sviluppare neoplasie numerosi test diagnostici: il **TrusightOncology500** per l'analisi delle varianti genetiche su DNA e il **TrusightTumor170** per l'analisi delle mutazioni su RNA, a partire da tessuto tumorale. Il Trusight Oncology 500 permette di analizzare simultaneamente DNA e RNA e di coprire 523 geni selezionati sulla base delle linee guida fornite da organizzazioni internazionali quali il National Comprehensive Cancer Network (NCCN) e la Società Europea di Oncologia Medica (ESMO). Nell'analisi sono stati inseriti anche due nuovi biomarcatori che stanno assumendo un significato diagnostico sempre maggiore nel monitoraggio e nella prognosi delle patologie tumorali quali, il carico mutazionale del tumore (Tumor Mutational Burden TMB) e l'instabilità microsatellitare (Microsatellite Instability MSI). L'analisi viene effettuata in NGS (Next Generation Sequencing) su sequenziatore Illumina NovaSeq6000, una nuova piattaforma che consente, grazie alla produzione simultanea di miliardi di sequenze di DNA, di costruire una mappa dei geni coinvolti in numerose patologie per un alto numero di campioni in contemporanea.

Come funziona il test

A partire da tessuto incluso in paraffina, il Trusight Oncology 500 offre un metodo di analisi integrato per l'identificazione delle varianti somatiche, ovvero quelle presenti solo nel tessuto tumorale sfruttando una tecnologia ad arricchimento di sequenze, analizzando DNA e RNA simultaneamente dello stesso tessuto. Il metodo di arricchimento consiste nell'ibridizzare le regioni di interesse con delle sonde che vengono catturate su biglie magnetiche ricoperte di streptavidina ed, infine, eluite per arricchire il pool della libreria. Le librerie così ottenute vengono quindi raggruppate e sequenziate. Questo permette di migliorare sensibilmente l'affidabilità dei dati ottenuti.

Figura 2. Il test Trusight Oncology 500 si integra nei flussi di lavoro di laboratorio attuali, passando dagli acidi nucleici all'identificazione delle varianti in 3-5 giorni.

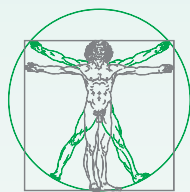


Analisi del TMB ed MSI

Il Trusight Oncology 500 è studiato per ottenere informazioni su TMB ed MSI, marcatori di fondamentale importanza nel trattamento delle neoplasie in quanto correlati con la risposta a immunoterapie. Entrambi i tipi di marcatori si basano sull'analisi simultanea di più loci genomici. In particolare, il Tumor mutational burden (TMB) è un valore che indica il numero di mutazioni non sinonime entro la regione codificante di un genoma tumorale e costituisce uno dei marcatori prognostici emergenti che correla più strettamente con la risposta immunoterapica. L'instabilità microsatellitare (MSI) deriva da difetti nei geni del riparo (mismatch repair, MMR) ed è tradizionalmente analizzata tramite PCR e immunoistochimica. Grazie alle tecniche di sequenziamento di nuova generazione, quali il TSO500, è possibile eseguire l'analisi di un maggior numero di microsatelliti, con la possibilità, pertanto, di offrire la più alta risoluzione al momento disponibile e di identificare così, nuovi profili di instabilità microsatellitare (130 omopolimeri in simultanea vs 5 del pannello Bethesda).

Capacità nell'identificare, fusioni e varianti di splicing in campioni di FFPE

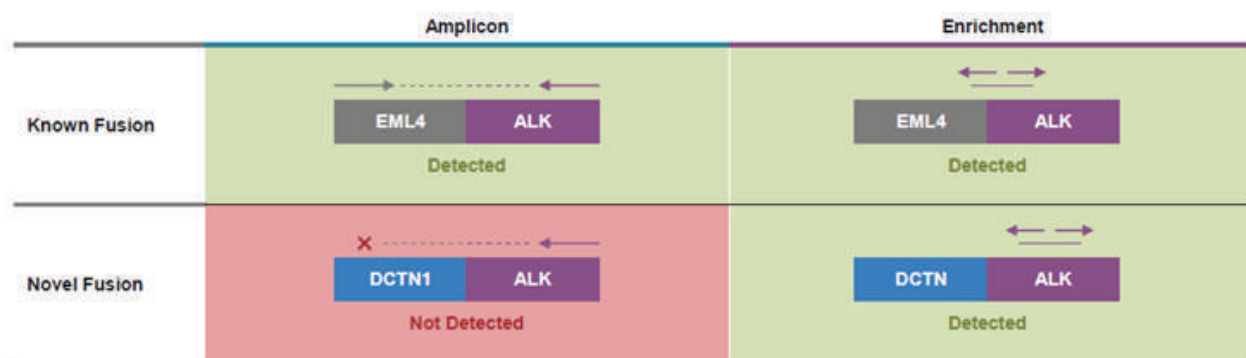
Trusight Oncology 500 combina la sensibilità dei sistemi di sequenziamento Illumina con una nuova piattaforma di software capace di rilevare, fusioni e varianti di splicing. **Risulta importante sottolineare come questo kit sia l'unico al momento in grado di rilevare le fusioni di NTRK già descritte in letteratura, ma anche quelle non ancora note**, offrendo una possibilità in più al paziente di un



percorso di cura alternativo. Il gene **NTRK** che è noto dalla letteratura essere un marcatore pan-tumorale, ovvero presente all'incirca nell'1 per cento di tutti i tumori solidi, costituisce quindi il principale obiettivo per nuove terapie a bersaglio molecolare.

TruSight™ Oncology 500 | Ability to Detect Novel Fusions*

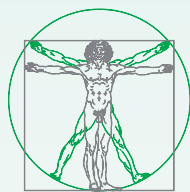
Enrichment based assay combined with probe design algorithm



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5624911/>

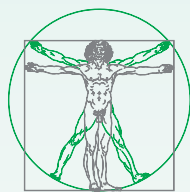
* The products to evaluate DNA + RNA variants are the TSO500 DNA+ TST170 RNA bundle (PN: 20028215 / 20028216) – commercially available in Q1 -2019

Figura 3. Il TSO500 è in grado di rilevare fusioni geniche già note in letteratura, ma anche nuove fusioni potenzialmente “actionable”

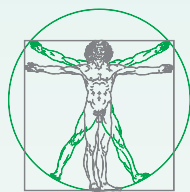


Geni inclusi in TruSight Oncology 500, in verde le CNV

ABL1	BRD4	CUX1	FAM175A	GATA6	IGF1	MAP3K13	NOTCH4	POLE	RPTOR	TAF1
ABL2	BRIP1	CXCR4	FAM46C	GEN1	IGF1R	MAP3K14	NPM1	PPARG	RUNX1	TBX3
ACVR1	BTG1	CYLD	FANCA	GID4	IGF2	MAP3K4	NRAS	PPM1D	RUNX1T1	TCEB1
ACVR1B	BTK	DAXX	FANCC	GLI1	IKBKE	MAPK1	NRG1	PPP2R1A	RYBP	TCF3
AKT1	C11orf30	DCUN1D1	FANCD2	GNA11	IKZF1	MAPK3	NSD1	PPP2R2A	SDHA	TCF7L2
AKT2	CALR	DDR2	FANCE	GNA13	IL10	MAX	NTRK1	PPP6C	SDHAF2	TERC
AKT3	CARD11	DDX41	FANCF	GNAQ	IL7R	MCL1	NTRK2	PRDM1	SDHB	TERT
ALK	CASP8	DHX15	FANCG	GNAS	INHA	MDC1	NTRK3	PREX2	SDHC	TET1
ALOX12B	CBFB	DICER1	FANCI	GPR124	INHBA	MDM2	NUP93	PRKAR1A	SDHD	TET2
ANKRD11	CBL	DIS3	FANCL	GPS2	INPP4A	MDM4	NUTM1	PRKCI	SETBP1	TFE3
ANKRD26	CCND1	DNAJB1	FAS	GREM1	INPP4B	MED12	PAK1	PRKDC	SETD2	TFRC
APC	CCND2	DNMT1	FAT1	GRIN2A	INSR	MEF2B	PAK3	PRSS8	SF3B1	TGFBR1
AR	CCND3	DNMT3A	FBXW7	GRM3	IRF2	MEN1	PAK7	PTCH1	SH2B3	TGFBR2
ARAF	CCNE1	DNMT3B	FGF1	GSK3B	IRF4	MET	PALB2	PTEN	SH2D1A	TMEM127
ARFRP1	CD274	DOT1L	FGF10	H3F3A	IRS1	MGA	PARK2	PTPN11	SHQ1	TMPRSS2
ARID1A	CD276	E2F3	FGF14	H3F3B	IRS2	MITF	PARP1	PTPRD	SLIT2	TNFAIP3
ARID1B	CD74	EED	FGF19	H3F3C	JAK1	MLH1	PAX3	PTPRS	SLX4	TNFRSF14



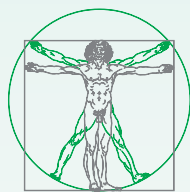
ARID2	CD79A	EGFL7	FGF2	HGF	JAK2	MLL	PAX5	PTPRT	SMAD2	TOP1
ARID5B	CD79B	EGFR	FGF23	HIST1H1C	JAK3	MLLT3	PAX7	QKI	SMAD3	TOP2A
ASXL1	CDC73	EIF1AX	FGF3	HIST1H2B D	JUN	MPL	PAX8	RAB35	SMAD4	TP53
ASXL2	CDH1	EIF4A2	FGF4	HIST1H3A	KAT6A	MRE11A	PBRM1	RAC1	SMARCA 4	TP63
ATM	CDK12	EIF4E	FGF5	HIST1H3B	KDM5A	MSH2	PDCD1	RAD21	SMARCB 1	TRAF2
ATR	CDK4	EML4	FGF6	HIST1H3C	KDM5C	MSH3	PDCD1L G2	RAD50	SMARCD 1	TRAF7
ATRX	CDK6	EP300	FGF7	HIST1H3D	KDM6A	MSH6	PDGFRA	RAD51	SMC1A	TSC1
AURKA	CDK8	EPCAM	FGF8	HIST1H3E	KDR	MST1	PDGFRB	RAD51B	SMC3	TSC2
AURKB	CDKN1A	EPHA3	FGF9	HIST1H3F	KEAP1	MST1R	PDK1	RAD51C	SMO	TSHR
AXIN1	CDKN1B	EPHA5	FGFR1	HIST1H3 G	KEL	MTOR	PDPK1	RAD51D	SNCAIP	U2AF1
AXIN2	CDKN2A	EPHA7	FGFR2	HIST1H3H	KIF5B	MUTYH	PGR	RAD52	SOCS1	VEGFA
AXL	CDKN2B	EPHB1	FGFR3	HIST1H3I	KIT	MYB	PHF6	RAD54L	SOX10	VHL
B2M	CDKN2C	ERBB2	FGFR4	HIST1H3J	KLF4	MYC	PHOX2B	RAF1	SOX17	VTCN1
BAP1	CEBPA	ERBB3	FH	HIST2H3A	KLHL6	MYCL1	PIK3C2B	RANBP2	SOX2	WISP3
BARD1	CENPA	ERBB4	FLCN	HIST2H3C	KMT2B	MYCN	PIK3C2G	RARA	SOX9	WT1
BBC3	CHD2	ERCC1	FLI1	HIST2H3D	KMT2C	MYD88	PIK3C3	RASA1	SPEN	XIAP
BCL10	CHD4	ERCC2	FLT1	HIST3H3	KMT2D	MYOD1	PIK3CA	RB1	SPOP	XPO1
BCL2	CHEK1	ERCC3	FLT3	HLA-A	KRAS	NAB2	PIK3CB	RBM10	SPTA1	XRCC2



BCL2L1	CHEK2	ERCC4	FLT4	HLA-B	LAMP1	NBN	PIK3CD	RECQL4	SRC	YAP1
BCL2L11	CIC	ERCC5	FOXA1	HLA-C	LATS1	NCOA3	PIK3CG	REL	SRSF2	YES1
BCL2L2	CREBBP	ERG	FOXL2	HNF1A	LATS2	NCOR1	PIK3R1	RET	STAG1	ZBTB2
BCL6	CRKL	ERRF1	FOXO1	HNRNPK	LMO1	NEGR1	PIK3R2	RFWD2	STAG2	ZBTB7A
BCOR	CRLF2	ESR1	FOXP1	HOXB13	LRP1B	NF1	PIK3R3	RHEB	STAT3	ZFHX3
BCORL1	CSF1R	ETS1	FRS2	HRAS	LYN	NF2	PIM1	RHOA	STAT4	ZNF217
BCR	CSF3R	ETV1	FUBP1	HSD3B1	LZTR1	NFE2L2	PLCG2	RICTOR	STAT5A	ZNF703
BIRC3	CSNK1A1	ETV4	FYN	HSP90AA1	MAGI2	NFKBIA	PLK2	RIT1	STAT5B	ZRSR2
BLM	CTCF	ETV5	GABRA6	ICOSLG	MALT1	NKX2-1	PMAIP1	RNF43	STK11	
BMPR1A	CTLA4	ETV6	GATA1	ID3	MAP2K1	NKX3-1	PMS1	ROS1	STK40	
BRAF	CTNNA1	EWSR1	GATA2	IDH1	MAP2K2	NOTCH1	PMS2	RPS6KA4	SUFU	
BRCA1	CTNNB1	EZH2	GATA3	IDH2	MAP2K4	NOTCH2	PNRC1	RPS6KB1	SUZ12	
BRCA2	CUL3	FAM123B	GATA4	IFNGR1	MAP3K1	NOTCH3	POLD1	RPS6KB2	SYK	

RNA content (fusioni e splice variant)

ABL1	BCL2	CSF1R	ESR1	EWSR1	FLI1	KIF5B	MSH2	NRG1	PAX7	RAF1
AKT3	BRAF	EGFR	ETS1	FGFR1	FLT1	KIT	MYC	NTRK1	PDGFRA	RET
ALK	BRCA1	EML4	ETV1	FGFR2	FLT3	MET	NOTCH1	NTRK2	PDGFRB	ROS1
AR	BRCA2	ERBB2	ETV4	FGFR3	JAK2	MLL	NOTCH2	NTRK3	PIK3CA	RPS6KB1



Report TruSight Oncology 500

I dati dei campioni analizzati mediante TruSight Oncology 500 vengono elaborati attraverso una piattaforma web all'avanguardia fornita da PierianDx, che automatizza l'intero processo di analisi evitando interferenze tecniche e producendo come risultato finale un cancer report disegnato specificamente per andare incontro alle esigenze dell'oncologo. Questo documento riporta in prima pagina sinteticamente, tramite un sommario, i risultati più importanti dell'analisi quali: i biomarcatori quali TMB ed MSI, nonché le mutazioni "actionable" (ovvero potenziali bersagli di farmaci molecolari) e gli studi clinici in corso in tutto il mondo sulle mutazioni riscontrate.

La stima del Tumor mutational burden (TMB) ovvero il numero di mutazioni non sinonime nella regione codificante del genoma tumorale, è un parametro che permette di valutare la responsività del tumore all'immunoterapia (espresso come mutazioni/Mb). Il TMB, generalmente è calcolato per il Whole Exome Sequencing (WES) ma comparando i risultati ottenuti dal WES con quelli ottenuti con il pannello TruSight Oncology 500 si è osservato come questo approccio sia in grado di calcolare il TMB per i campioni tumorali in maniera altamente efficace e paragonabile all'analisi dell'intero esoma. Nel TruSight Oncology 500 il calcolo del TMB è stato reso più affidabile grazie a diversi criteri di valutazione delle varianti:

- rimozione delle varianti nelle regioni a bassa confidenza
- rimozione delle varianti driver che possono creare una distorsione nella stima del TMB
- filtraggio delle varianti germinali tramite comparazione con database contenenti varianti di popolazione

Report Summary

GENOMIC FINDINGS BY TIER + LEVEL

2
1A

0
1B

1
1C

0
1D

TMB

24
muta/Mb

high
status

MSI

5%
Unstable Sites

stable
status

CLINICAL TRIALS

13

SPECIMEN & ORDER

PATIENT

DATE OF BIRTH 02/04/1981
SEX Male
ETHNICITY Not Hispanic or Latino
RACE White

PHYSICIAN

ORDERING PHYSICIAN Bruce Banner
FACILITY Organization Name

SPECIMEN

SPECIMEN TYPE Specimen from lung
EXT. SPECIMEN ID 4898243
DATE COLLECTED 02/05/2019 13:53
DATE RECEIVED 02/08/2019 12:44
% TUMOR IN SELECTED AREA 25

CASE

REVIEW STATUS Final
DATE ACCESSIONED 02/15/2019
DATE REPORTED Not Available
ACCESSION # ILMN_447

GENOMIC FINDINGS

Tier I - Strong Clinical Significance

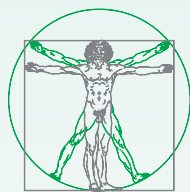
VARIANT	LEVEL	VAF %	CLINICAL IMPACT
NCOA4-RET fusion	A	-	Responsive To - Cabozantinib, Vandetanib in non-small cell lung cancer
KRAS p.G12D c.35G>A	A	10.0	Non-Responsive To - Erlotinib, Gefitinib, Afatinib, Osimertinib, Dacomitinib Unfavorable Prognosis in - non-small cell lung cancer

Tier II - Potential Clinical Significance

VARIANT	LEVEL	VAF %	CLINICAL IMPACT
PDGFRA p.D842V c.2525A>T	C	15.0	Responsive To - Dasatinib in gastrointestinal stromal tumor Non-Responsive To - Sunitinib, Imatinib in gastrointestinal stromal tumor

Other Biomarkers

BIOMARKER	STATUS	VALUE	CLINICAL IMPACT
TMB	High	24 muta/Mb	Responsive To - Nivolumab, Nivolumab + Ipilimumab in non-small cell lung cancer
MSI	Stable	5% Unstable Sites	



Nelle pagine successive del report, i risultati riassunti nel sommario sono esposti in maniera più dettagliata mostrando la classificazione delle varianti identificate in più gruppi basati sulla significatività clinica (**classificazione Tier**) e riportando anche i riferimenti ai dati di letteratura. Per ogni mutazione riscontrata, il report fornisce informazioni sul significato clinico della stessa, indicando il numero di evidenze prognostiche, diagnostiche, predittive di risposta alla terapia, rilevate in letteratura. Queste informazioni sono di estrema importanza per l'oncologo che in questo modo può decidere di intraprendere una strategia mirata ed efficace per il trattamento del tumore.

Nella sezione Tier IA sono presenti, varianti dal forte significato clinico nel tumore in analisi, per le quali esistono trattamenti approvati dalla Food And Drug Administration (FDA). Nella sezione Tier I B, invece, sono indicate le varianti per cui non è ancora disponibile alcun trattamento approvato, ma in corso di studi per l'approvazione. In questa sezione è possibile trovare anche eventuali mutazioni di resistenza verso terapie già disponibili.

CLINICALLY RELEVANT RESULTS

Tier I - Strong Clinical Significance

VARIANT INTERPRETATION

NCOA4-RET
fusion

A

RET encodes a receptor tyrosine kinase involved in cell growth and differentiation which is known to undergo oncogenic activation in vivo and in vitro by cytogenetic rearrangement (provided by RefSeq, Jul 2008). NCOA4 encodes an androgen receptor coactivator which interacts with the androgen receptor in a ligand-dependent manner to enhance its transcriptional activity. Chromosomal translocations between NCOA4 and RET, both located on chromosome 10, have been associated with papillary thyroid carcinoma (provided by RefSeq, Feb 2009).

RET rearrangements resulting in fusion with partner genes including KIF5B, CCDC6 and NCOA4 have been reported in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients (PMID- 29128428). A NCOA4-RET fusion is identified in this case. The N terminus of the NCOA4 gene fuses with the C terminus of the RET gene in this fusion (PMID- 28011461). In PCCL3 cells, expression of NCOA4-RET fusion was reported to simultaneously activate DNA synthesis and apoptosis apart from interfering with thyroid differentiation at steps distal to the TSH-R (PMID- 12690093, 2003). The NCOA4-RET fusion has been reported in patients with NSCLC specifically in lung adenocarcinoma patients (COSMIC, February 2019, PMID- 23150706). RET rearrangements are one of the emerging biomarkers to identify novel therapies for patients with metastatic NSCLC (NCCN, NSCLC v.3.2019). NCCN recommends cabozantinib and vandatinib (category 2A) as targeted agents for NSCLC patients harbouring RET rearrangements (NCCN, NSCLC v.3.2019).

Nella sezione Tier IIC del report vengono riportate informazioni sulle mutazioni che sono annoverate tra quelle dal potenziale significato clinico, per la quali esistono evidenze di patogenicità in altri tipi di tumori ma non in quello in oggetto. Tutte queste informazioni possono essere utili al medico per capire in che modo il tumore potrebbe evolvere e per la scelta di farmaci off-labels.

Tier II - Potential Clinical Significance

VARIANT INTERPRETATION

PDGFRA
p.D842V
c.2525A>T

C

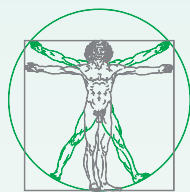
NM_006206.4
VAF % 15.0
DEPTH 7985

PDGFR-alpha (PDGFRA) is a receptor protein kinase that activates the PI3K/AKT/mTOR and MAPK/ERK pathways and promotes activation of STAT family members STAT1, STAT3 and STAT5A and/or STAT5B (UniProt.org).

A missense alteration in PDGFRA, D842V, is identified in this case. Codon 842 lies in exon 18, within the protein kinase domain of PDGFRA (UniProt.org). PDGFRA D842V is reported to be an activating, in vitro (PMID- 27349873; 12949711, 2003). In ClinVar, somatic PDGFRA D842V is reported as "Pathogenic" in gastrointestinal stromal tumor (GIST) (Variation ID: 13543).

PDGFRA D842V has been reported in Non-small cell lung cancer (COSMIC, February 2019). About 5% to 10% of GISTs have a mutation in the gene encoding PDGFRA receptor tyrosine kinase and PDGFRA exon 18 mutations are common in gastric GISTs (NCCN, Soft Tissue Sarcoma, v1.2019). Identification of activating kinase mutations in PDGFRA is an ancillary technique useful in the diagnosis of sporadic and familial GIST (NCCN, Soft Tissue Sarcoma, v1.2019).

PDGFRA exon 18 mutations (including D842V) are associated with a better prognosis in GIST patients (NCCN, Soft Tissue Sarcoma, v1.2019). Primary imatinib resistance is commonly seen in GIST patients with mutations including PDGFRA D842V (NCCN, Soft Tissue Sarcoma, v1.2019; PMID- 30506540). A small number of GIST patients with a primary or secondary D842V mutation did not respond to sunitinib treatment (NCCN Soft Tissue Sarcoma v1.2019; PMID- 30224936). Dasatinib has demonstrated activity against PDGFRA D842V mutation, and it could be an effective treatment option for imatinib-resistant GIST patients (NCCN, Soft Tissue Sarcoma v1.2019).



Nella sezione Tier IID vengono riportate ulteriori varianti riscontrate in studi preclinici dal potenziale significato clinico.

Nella sezione Tier III vengono riportate mutazioni per cui non è noto il significato clinico (VUS, Variant of Unknown Significance).

Nella sezione Tier IV sono riportate le mutazioni che ricadono in regioni non codificanti e pertanto ritenute benigne o verosimilmente benigne.

CLASSIFICATION AND LEVELS OF EVIDENCE			
The variant classification system used in this report is based on joint consensus recommendations of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and the College of American Pathologists (J Mol Diagn 2017, 19:4-23). Tiers IA, IB, IIC, IID, III and IV describe variant categories of descending clinical significance in the patient. Variants in Tier IV are not reported in accordance with the consensus recommendations.			
IA	IB	IIC	IID
Variant of strong clinical significance, Level A evidence (FDA approved therapy or practice guideline in patient's tumor type)	Variant of strong clinical significance, Level B Evidence (consensus in the field based on well-powered studies in patient's tumor type)	Variant of potential clinical significance, Level C evidence (FDA approved therapy or practice guideline in other tumor type(s), evidence from multiple small published studies, or based on availability of investigational therapies)	Variant of potential clinical significance, Level D evidence (case reports or preclinical studies)
III	IV		
Variant of unknown clinical significance	Benign or likely benign variant		

Il report viene fornito sia in forma cartacea che digitale, in questa ultima versione è possibile interagire con i vari elementi presenti in esso. Le mutazioni rilevate si possono visualizzare nei database di origine che forniscono i dettagli completi e i vari significati, nonché gli articoli scientifici in cui sono state menzionate, ma soprattutto per i trial clinici rilevati è presente il link del sito ufficiale che permette una più semplice verifica e un eventuale arruolamento del paziente.

CLINICAL TRIALS			
TITLE	TRIAL IDENTIFIER	PHASE	VARIANT
Randomized Phase III Trial of Local Consolidation Therapy (LCT) After Nivolumab and Ipilimumab for Immunotherapy-Naïve Patients With Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer (LONESTAR) - Strategic Alliance: BMS	NCT03391869 https://clinicaltrials.gov/show/NCT03391869	III	NCOA4-RET fusion
A Phase II Study of Cabozantinib in Patients With RET Fusion- Positive Advanced Non- Small Cell Lung Cancer and Those With Other Genotypes: ROS1 or NTRK Fusions or Increased MET or AXL Activity	NCT01639508 https://clinicaltrials.gov/show/NCT01639508	II	NCOA4-RET fusion
Study of Regorafenib in Combination With Oral Methotrexate for KRAS Mutated Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC)	NCT03520842 https://clinicaltrials.gov/show/NCT03520842	II	KRAS p.G12D c.35G>A
Molecular Profiling and Targeted Therapy for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer, Small Cell Lung Cancer, and Thymic Malignancies	NCT01306045 https://clinicaltrials.gov/show/NCT01306045	II	PDGFRA p.D842V c.2523A>T
A Pilot Study of Pazopanib in Molecularly Selected Patients With Advanced Non- Small Cell Lung Cancer (NSCLC)	NCT02193152 https://clinicaltrials.gov/show/NCT02193152	I	NCOA4-RET fusion
A Pilot Study of Nintedanib in Molecularly Selected Patients With Advanced Non- Small Cell Lung Cancer (NSCLC)	NCT02299141 https://clinicaltrials.gov/show/NCT02299141	I	NCOA4-RET fusion

In conclusione, possiamo affermare che il Cancer Genome report ottenuto dall'analisi TruSight Oncology 500 è uno strumento dinamico che fornisce all'oncologo tutte le informazioni necessarie per poter mettere a punto strategie terapeutiche mirate in base alla mutazione riscontrata o alle eventuali molteplici mutazioni, di fare previsioni sulla prognosi e inoltre di poter essere utilizzato per monitorare nel tempo l'andamento della risposta terapeutica.

A chi è rivolto il TruSight Oncology 500?

Questo test può essere eseguito in pazienti a cui è già stato diagnosticato un tumore:

- Per fornire un trattamento farmacologico personalizzato
- Fornire un aiuto fondamentale all'oncologo per quei pazienti che sviluppano una resistenza alla terapia in corso con nuove opzioni di trattamento
- Per fornire informazioni prognostiche

Accuratezza del Test:

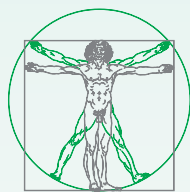
Le tecniche di sequenziamento del DNA utilizzate, producono risultati con un'accuratezza prossima al 99% nel rilevare le mutazioni, ove presenti, associate ai geni analizzati.

Perché scegliere il test TruSight Oncology 500?

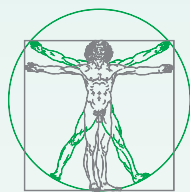
Il TruSight Oncology 500 ha diversi punti di forza che lo pongono tra gli strumenti di screening oncologico più avanzati ad oggi disponibili sul mercato:

- **omogeneità di copertura** delle zone di interesse e la capacità quindi di ottenere una copertura profonda di tutte le regioni target in esame, permettendo così di identificare le mutazioni somatiche con un tasso di frequenza allelica inferiore al 5% ed una sensibilità e specificità > 95%.
- **estensione del pannello** in termini di inclusione di nuovi geni; questo è un importante miglioramento perché vengono inclusi geni che potrebbero assumere, con il veloce avanzamento della ricerca scientifica in questo campo, un ruolo chiave nel trattamento di tumori specifici o uno spettro ampio di patologie neoplastiche.
- **sonde opportunamente localizzate**, unico nel suo genere, ha la capacità di identificare nuove fusioni oltre a quelle già presenti in letteratura.
- **valutazione TMB ed MSI**, la possibilità di riportare i valori di questi due biomarcatori completa il quadro delle informazioni fornite.

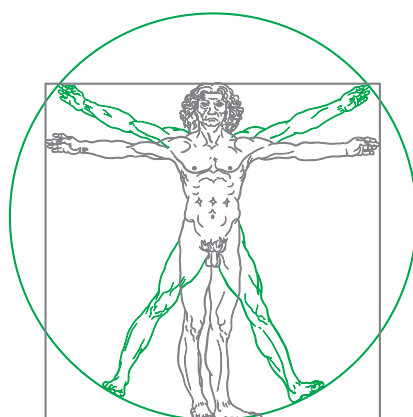
Per le motivazioni sopra indicate il TruSight Oncology 500 ad oggi risulta essere lo strumento più efficace e flessibile per il trattamento e il monitoraggio del paziente oncologico offrendo insieme, la valutazione del profilo genetico con lo stato della malattia.



1. Gibney GT, Weiner LM, Atkins MB. Predictive biomarkers for checkpoint inhibitor-based immunotherapy. *Lancet Oncol.* 2016;17(12):e542-e551. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30406-5.
2. Champiat S, Ferté C, Lebel-Binay S, Eggermont A, Soria JC. Exomics and immunogenics: Bridging mutational load and immune checkpoints efficacy. *Oncoimmunology.* 2014;3(1):e27817.
3. Zou W, Wolchok JD, Chen L. PD-L1 (B7-H1) and PD-1 pathway blockade for cancer therapy: Mechanisms, response biomarkers, and combinations. *Sci Transl Med.* 2016;8(328):328rv4. doi:10.1126/scitranslmed.aad7118.
4. Pitt J, Vétizou M, Daillère R, et al. Resistance Mechanisms to Immune-Checkpoint Blockade in Cancer: Tumor-Intrinsic and -Extrinsic Factors. *Immunity.* 2016;44(6):1255-1269.
5. Morrison C. Financial toxicity looms as cancer combinations proliferate. *Nat Biotechnol.* 2015;33(8):783-784.
6. Michot J, Bigenwald C, Champiat S, et al. Immune-related adverse events with immune checkpoint blockade: a comprehensive review. *Eur J Cancer.* 2016;54:139-148.
7. Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, et al. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science.* 2015;348 (6230):124-128.
8. Snyder A, Makarov V, Merghoub T, et al. Genetic Basis for Clinical Response to CTLA-4 Blockade in Melanoma. *N Engl J Med.* 2014;371(23):2189-2199.
9. van Allen EM, Miao D, Schilling B, Shukla SA, Blank C, Zimmer L. Genomic correlates of response to CTLA-4 blockade in metastatic melanoma. *Science.* 2015;350(6257):207-211.
10. Garofalo A, Sholl L, Reardon B, et al. The impact of tumor profiling approaches and genomic data strategies for cancer precision medicine. *Genome Med.* 2016;8(1):79. doi:10.1186/s13073-016-0333-9.
11. Campesato, L, Barroso-Sousa, R, Jimenez, L, et al. Comprehensive cancer gene panels can be used to estimate mutational load and predict clinical benefit to PD-1 blockade in clinical practice. *Oncotarget.* 2015;6(33):34221-34227.
12. Ashord, M. Cancer Gene Panels Could Help to Identify Patients for Immunotherapy, Studies Suggest. *Genome Web.* www.genomeweb.com/cancer/cancer-gene-panels-could-help-identify-patients-immunotherapy-studies-suggest. Updated April 29, 2016. Accessed February 2, 2017.
13. TruSight Tumor 170. www.illumina.com/TruSightTumor170. Accessed January 18, 2017.
14. The Cancer Genome Atlas. cancergenome.nih.gov/. Accessed January 16, 2017.



15. Sherry ST, Ward MH, Kholodov M, Baker J, Phan L, Smigielski EM. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res.* 2001;29(1):308-311.
16. 1000 Genomes Project Consortium. A global reference for human genetic variation. *Nature.* 2015;526(7571):68-74.
17. NHLBI Exome Sequencing Project (ESP). evs.gs.washington.edu/EVS/. Accessed January 27, 2017.
18. ExAC Browser. exac.broadinstitute.org/. Accessed January 27, 2017.
19. Tennessen JA, Bigham AW, O'Connor TD, et al. Evolution and functional impact of rare coding variation from deep sequencing of human exomes. *Science.* 2012;337(6069):64-69
20. Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV, et al. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature.* 2016;536(7616):285-291.
21. Forbes SA, Beare D, Gunasekaran P, et al. COSMIC: exploring the world's knowledge of somatic mutations in human cancer. *Nucleic Acids Res.* 2015;43:D805–D811. doi: 10.1093/nar/gku1075.
22. Illumina (2016) TruSeq Exome Library Prep Kit (www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/truseq-exome-data-sheet-770-2015-007.pdf).
23. van Nimwegen KJ, van Soest RA, Veltman JA, et al. Is the \$1000 Genome as Near as We Think? A Cost Analysis of Next-Generation Sequencing. *Clin Chem.* 2016;62(11):1458-1464.
24. Feliubadaló L, Tonda R, Gausachs M, et al. Benchmarking of Whole Exome Sequencing and Ad Hoc Designed Panels for Genetic Testing of Hereditary Cancer. *Sci Rep.* 2017;7:37984. doi: 10.1038/srep37984.



AMES
Group

GENETICA MEDICA • MICROBIOLOGIA • PATOLOGIA CLINICA