

## Profilazione genomica delle neoplasie ovariche: focus su HRD (Homologous Recombination Deficiency)

Carmine Pinto,<sup>1,7</sup> Nicola Normanno,<sup>2,7</sup> Giancarlo Pruneri,<sup>3,7</sup>  
Umberto Malapelle,<sup>4,7</sup> Claudio Jommi,<sup>5,7</sup> Giovanni Ravasio<sup>6,7</sup>

<sup>1</sup> Head Medical Oncology - Clinical Cancer Centre, IRCCS - AUSL di Reggio Emilia

<sup>2</sup> Direttore Scientifico IRST "Dino Amadori" IRCCS, Meldola

<sup>3</sup> Direttore Dipartimento Patologia Diagnostica e Laboratorio - Fondazione IRCCS Istituto Nazionale Tumori, Milano

<sup>4</sup> Professore di Scienze Tecniche Medicina di Laboratorio - Università Federico II, Napoli

<sup>5</sup> Professore di Economia Aziendale, Dipartimento Scienze del Farmaco - UNIPO, Novara

<sup>6</sup> Direttore Economia Sanitaria

<sup>7</sup> Gruppo Multidisciplinare Innovatività (GMI)

La tecnologia "Next-Generation Sequencing" (NGS), con la valutazione contemporanea di diverse alterazioni genomiche coinvolte nello sviluppo delle neoplasie, è prioritaria in alcuni tumori (polmone, ovaio, colangiocarcinoma, mammella, prostata).

Il carcinoma ovarico è ancora oggi uno dei "big killers" (oltre il 50% di mortalità a 5 anni) con 6.000 nuovi casi all'anno.

In questo ambito, oltre ad un ruolo fondamentale svolto dalla variante patogenetica costituzionale nei geni BRCA1-2, eventi di tipo genetico ed epigenetico possono provocare l'inattivazione di altri componenti del complesso di ricombinazione omologa (Homologous Recombination, HR), coinvolto nella riparazione del DNA, causandone un deficit funzionale (Homologous Recombination Deficiency, HRD). Deficit che caratterizza nel 50% dei casi il **carcinoma sieroso di alto grado dell'ovaio (High-Grade Serous Ovarian Carcinoma, HGSOC)**, per il quale è necessaria una strategia upfront: un unico test HRD, che comprende anche la valutazione di BRCA1-2, alterazioni classificate "ESCAT IA" dalle raccomandazioni 2024 NGS di ESMO.

Il test HRD – da eseguire nelle prime fasi di diagnosi della neoplasia – permette di individuare le pazienti BRCA positive da trattare con gli inibitori dell'enzima PARP (PARP inibitori), da cui traggono beneficio anche le pazienti HRD status positivo e BRCA negativo.

L'HRD è un biomarcatore complesso, le cui alterazioni molecolari includono i processi responsabili della perdita di eterozigosità cromosomale (LOH), gli sbilanciamenti allelici a carico dei telomeri (TAI) e le transizioni genomiche di larga scala (LST). La stima dell'instabilità genomica avviene con la combinazione di queste tre figure genomiche che si traduce nell'elaborazione di uno score HRD (test Myriad myChoice CDx), oppure mediante la valutazione della sola LOH (test FoundationOne CDx).

Alcuni studi italiani hanno confrontato i risultati diagnostici del test registrativo NGS HRD con kit disponibili sul mercato, in particolare con due pannelli NGS specifici per HRD e due pannelli NGS CGP (Comprehensive Genomic Profiling) completi di algoritmo HRD. Gli Autori, pur segnalando alcune criticità diagnostiche che richiedono particolare expertise per l'analisi di questo biomarcatore complesso, indicano la fattibilità di utilizzare tali pannelli per valutare lo stato di HRD nella pratica clinica. Un altro studio – in una prospettiva di ricerca per il miglioramento delle cure – ha utilizzato un pannello NGS CGP completo di algoritmo HRD per la caratterizzazione dell'HGSOC, ottenendo un volume di informazioni più ampio, che comprende dati su alcuni biomarcatori predittivi valutati in studi clinici sperimentali.

**La presente analisi, a cura del Gruppo Multidisciplinare Innovatività (GMI), ha stimato il costo della profilazione NGS HRD dell'HGSOC nella pratica clinica, focalizzando l'attenzione sui 4 pannelli sopra indicati. Analisi effettuata con la stessa metodologia dello studio (Pinto C. et al, GMI Economia Sanitaria 2021) sulla profilazione NGS del NSCLC (non-small-cell lung cancer): il cui costo è stato recepito nel Decreto NGS relativo all'adenocarcinoma del polmone (DM MinSal 30.09.22).**

In particolare, sono stati stimati: (i) i costi dell'attività diagnostica (personale per il tempo dedicato; materiali di consumo utilizzati; acquisto e manutenzione dei macchinari necessari); (ii) i costi di struttura, che prevedono l'incremento del 20% di quelli diagnostici secondo valori riportati nella letteratura scientifica (non essendovi un dato italiano validato).

**L'analisi ha evidenziato che è possibile la profilazione NGS HRD dell'HGSOC (specificatamente associata a circa 2.000 casi in Italia) nella pratica clinica con costi pari a 1.350 euro, utilizzando 3 pannelli di quelli analizzati (per due dei quali l'incremento dei costi relativi alla struttura varia dal 10% al 16%, anziché 20%, comunque in un range accettabile), con l'obiettivo di politica sanitaria di garantire – prima con un Fondo dedicato e poi con l'inserimento nei LEA a partire dal 1° gennaio 2025 – a tutte le pazienti sul territorio nazionale equità e accesso a questo test genomico e conseguente cura con terapia appropriata.**

**L'importo di 1.350 euro corrisponde alla tariffa massima per le analisi di sequenze geniche ad ampio spettro (previste dal Nomenclatore LEA, che entrerà in vigore il 1° gennaio 2025). Tali tariffe non sono però specifiche per l'Oncologia (e prevedono un medesimo rimborso da 3 fino a 47 geni), a differenza di quanto deliberato da diverse Regioni in ambito oncologico, che le hanno modulate secondo il numero dei geni refertati con costi di produzione correlati e conseguenti risparmi.**

## 1. NEOPLASIE DELL'OVAIO: INQUADRAMENTO EPIDEMIOLOGICO, MEDICINA DI PRECISIONE E PROFILAZIONE GENOMICA NGS

CARCINOMA OVARICO: QUADRO EPIDEMIOLOGICO	
Incidenza	Nel 2022 sono state stimate circa 6.000 nuove diagnosi.
Mortalità	Nel 2022 sono stati stimati 3.600 decessi
Sopravvivenza netta a 5 anni dalla diagnosi	43%
Probabilità di vivere ulteriori 4 anni condizionata ad aver superato il primo anno dopo la diagnosi	55%
Prevalenza	Sono 49.800 le donne viventi in Italia dopo una diagnosi di tumore dell'ovaio

Fonte: "I numeri del cancro in Italia, 2023" AIOM-AIRTUM Tabella 1

Il carcinoma ovarico è il decimo tumore più diagnosticato tra le donne, ma la più grave neoplasia ginecologica (oltre il 50% di mortalità a 5 anni). In Italia ogni anno si diagnosticano circa 6.000 nuovi casi, mentre sono circa 50.000 le donne che convivono con questo tumore (tabella 1).

**L'elevata mortalità è attribuibile a diversi fattori tra cui: (i) una sintomatologia aspecifica e tardiva; (ii) l'assenza di strategie di screening validate per una diagnosi precoce, eccetto per le donne con alterazioni dei geni BRCA1 e BRCA2.** Per tali motivi il carcinoma ovarico nel 75-80% dei casi viene diagnosticato tardivamente, in fase avanzata di malattia (stadio FIGO III-IV). Tra le neoplasie ovariche, i tumori epiteliali sono i più frequenti (60%), interessando donne sia in età riproduttiva che post-menopausale, in particolare:

- il carcinoma sieroso di alto grado (70%) si presenta generalmente in stadio avanzato e con coinvolgimento di entrambe le ovaie;
- il carcinoma sieroso di basso grado (< 5%);
- il carcinoma mucinoso (3%);
- il carcinoma endometriode (10%), si tratta di un adenocarcinoma di basso grado;
- il carcinoma a cellule chiare (10%), solitamente si manifesta in stadio precoce ed è associato all'endometriosi.

I tumori germinali dell'ovaio rappresentano il 15-20% delle neoplasie ovariche, diagnosticate generalmente in età inferiore a 20 anni, e sono maligni solo nel 5% dei casi. Quelli stromali sono l'1% di tutti i tumori ovarici, si presentano in oltre la metà dei casi in donne di età superiore a 50 anni.

**Il carcinoma sieroso di alto grado dell'ovaio (High-Grade Serous Ovarian Carcinoma, HGSOC), che rappresenta circa il 70% delle forme epiteliali, è associato nel 50% dei casi a deficit genetici che alterano il meccanismo di riparazione del DNA: il complesso di ricombinazione omologa (Homologous Recombination, HR).**

Oltre alla presenza di una variante patogenetica costituzionale nei geni BRCA1-2, che svolge un ruolo fondamentale in questo ambito, eventi di tipo genetico ed epigenetico possono provocare l'inattivazione di altri componenti del *pathway* HR causando un deficit di tali meccanismi di riparazione (Homologous Recombination Deficiency, HRD).

Le raccomandazioni 2024 di impiego NGS nella pratica clinica di ESMO (European Society for Medical Oncology), recentemente pubblicate, indicano per il carcinoma ovarico avanzato le seguenti alterazioni (ESCAT score IA) da valutare (tabella 2):

- **BRCA 1-2 GERMINALE** con una prevalenza stimata nel 15-17% delle pazienti
- **BRCA 1-2 SOMATICO** con una prevalenza stimata nel 5-7% delle pazienti
- **HRD** con una prevalenza stimata nel 50% dei casi di carcinoma sieroso di alto grado

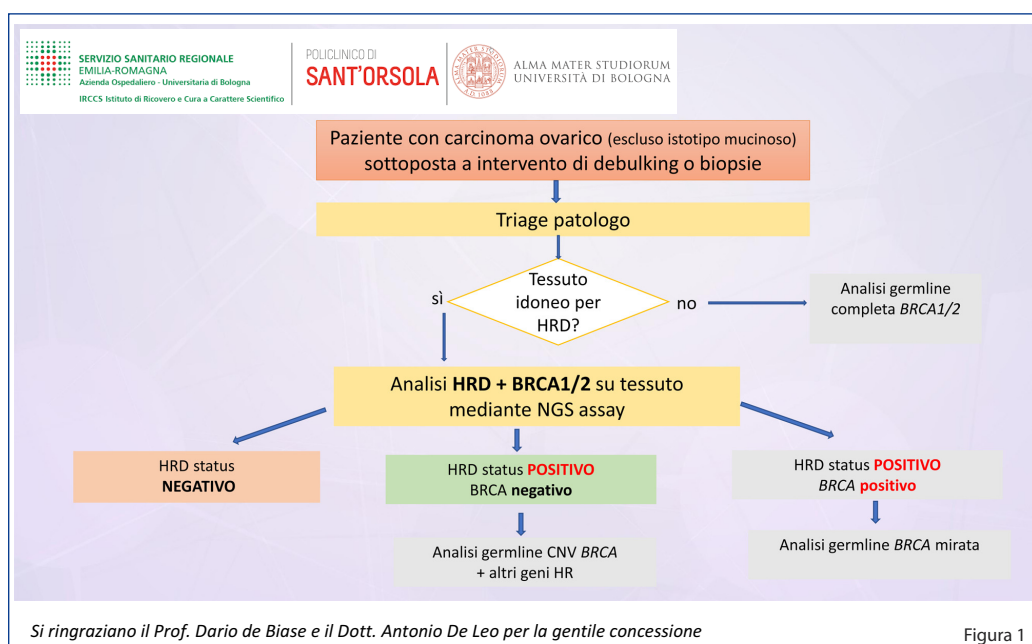
### ESMO: ALTERAZIONI GENOMICHE DA VALUTARE NEL CARCINOMA OVARICO AVANZATO

Gene	Alterazione	Prevalenza stimata	ESCAT score	Classe farmaci indicati	Referenze
BRCA 1/2	Germline pathogenic/likely pathogenic variants	15%-17%	IA	PARP inhibitors (PARP: poly ADP-ribose polymerase)	Bell et al. (Nature 2011)
	Somatic pathogenic/likely pathogenic variants	5%-7%			Mirza et al. (N Engl J Med 2016)
					Coleman et al. (Lancet 2017)
					Pujade-Lauraine et al. (Lancet Oncol 2017)
					Moore et al. (N Engl J Med 2018)
					González-Martin et al. (N Engl J Med 2019)
					Ray-Coquard et al. (N Engl J Med 2019)
					DiSilvestro et al. (J Clin Oncol 2023)
					González-Martin et al. (Ann Oncol 2023)
HRD	HRD (Homologous Recombination Deficiency)	50% high-grade serous ovarian cancer	IA	PARP inhibitors (PARP: poly ADP-ribose polymerase)	Mirza et al. (N Engl J Med 2016)
					Coleman et al. (Lancet 2017)
					González-Martin et al. (N Engl J Med 2019)
					Ray-Coquard et al. (N Engl J Med 2019)
					González-Martin et al. (Ann Oncol 2023)

Fonte: ESCAT, ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets

Tabella 2

**Nell'ambito delle patologie ovariche è quindi oggi necessaria una strategia *upfront*: un unico test NGS HRD (che include anche la valutazione BRCA1-2) evitando la sequenza di test BRCA->HRD nelle pazienti BRCA negative. Test unico che dovrebbe essere eseguito – come suggerito da una Consensus a livello europeo (Vergote I. et al. Ann Oncol 2022) – nelle prime fasi di diagnosi del carcinoma ovarico non mucinoso, a prescindere dall'età della paziente e dalla storia familiare della stessa (esempio di algoritmo diagnostico, in figura 1).**



Si ringraziano il Prof. Dario de Biase e il Dott. Antonio De Leo per la gentile concessione

Figura 1

L'identificazione delle alterazioni BRCA1-2 e HRD consente:

- lo studio della famiglia nelle pazienti con mutazione BRCA germinale con lo scopo di identificare le portatrici sane della mutazione, cui proporre strategie di sorveglianza o di riduzione del rischio che rimangono l'unica possibilità di prevenzione primaria in una patologia come il tumore ovarico che non ha screening e diagnosi precoce;
- la prescrizione dei farmaci a bersaglio molecolare poly ADP-ribose polymerase (PARP) inhibitors (PARP inibitori), da soli o in combinazione agli antiangiogenetici, come terapia di mantenimento in prima linea nelle pazienti con tumore ovarico in stadio III-IV di alto grado, che sono in risposta (completa o parziale) dopo il completamento della chemioterapia a base di platino.

## 2. IL RUOLO DELL'HRD NELLE PAZIENTI AFFETTI DA HGSOC: IMPLICAZIONI BIOLOGICHE E APPROCCI DIAGNOSTICI

Il complesso di ricombinazione omologa (Homologous Recombination, HR) rappresenta il principale meccanismo molecolare attivato dalle cellule per stabilizzare la struttura degli acidi nucleici in seguito a danni a carico della doppia elica di DNA. In particolare, questo complesso risulta difettivo (Homologous Recombination Deficiency, HRD) in differenti processi neoplastici (ovaio, mammella, pancreas, colon, tratto genito-urinario) indicandone il ruolo cruciale nell'omeostasi tissutale. Il disfunzionamento di questo complesso determina accumulo di danni a carico del DNA incrementando il potere di trasformazione neoplastica di quelle cellule caratterizzate da instabilità genomica. Tra i differenti attori che prendono parte al processo HR, le proteine codificate dai geni BRCA1 e BRCA2 rivestono un ruolo di cruciale importanza nella stabilizzazione del complesso HR. Brevemente, se il complesso HR risulta compromesso sia a causa di mutazioni patogenetiche nelle sequenze dei geni BRCA1-2 sia a causa di alterazioni negli altri geni che intervengono nella regolazione di questo meccanismo (tabella 3), la cellula accumula danni a carico del proprio patrimonio genetico.

### GENI COINVOLTI DEL COMPLESSO DI RICOMBINAZIONE OMOLOGA (HR)

ARID1A	EMSY	MSH2
ATM	FANCA	NBN
ATR	FANCC	PALB2
BRCA1/2	FANCE	PTEN
BARD1	FANCF	RAD50
BAP1	FANCD2	RAD51
BRIP1	FANCG	RAD51B
BLM	FANCI	RAD51C
CDK12	FANCL	RAD51D
CHEK1	H2AX	RAD54L
CHEK2	MRE11	TP53

Referenze: Moynahan M.E. et al. (*Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2010); Konstantinopoulos P.A. et al. (*Cancer Discov.* 2015); King M.-C (*Science* 2014); Prakash R. et al. (*Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2015); da Cunha Colombo Bonadio R.R. et al. (*Clin. Sao Paulo Braz.* 2018)

Tabella 3

**Le alterazioni molecolari che determinano il deficit del complesso di ricombinazione omologa (HRD) includono i processi responsabili della perdita di eterozigotà cromosomale (LOH), gli sbilanciamenti allelici a carico dei telomeri (TAI) e le transizioni genomiche di larga scala (LST).**

**La combinazione di queste tre figure genomiche si traduce nell'elaborazione di uno score di instabilità (GIS) utilizzato nella stima dell'instabilità genomica (tabella 4).**

<b>STIMA DELL'INSTABILITÀ GENOMICA HRD</b>	
<b>Cicatrice genomica</b>	<b>Descrizione</b>
<b>LOH - Loss Of Heterozygosity</b> Perdita di eterozigotà cromosomale	Perdita della funzione di un allele (passaggio a stato omozigote) nella condizione in cui l'altro sia già non funzionale: condizione che può indurre la morte cellulare (apoptosi).
<b>TAI - Telomeric-Allelic Imbalance</b> Sbilanciamenti allelici a carico dei telomeri	Fenomeno di ricombinazione sui telomeri, che proteggono le estremità dei cromosomi lineari, determinante lo squilibrio degli alleli nella coppia di cromosomi.
<b>LSTs - Large-Scale Transitions</b> Transizioni genomiche di larga scala (LST)	Interruzioni cromosomiche tra regioni adiacenti di DNA, determinanti discrepanze all'interno della coppia di cromosomi.

Referenze: Abkevich, V. et al. (Br. J. Cancer 2012); Birkbak, N.J. et al. (Cancer Discov. 2012); Stewart, M.D. et al. (Oncologist 2022)

Tabella 4

**La rilevanza clinica di queste figure genomiche deriva all'approvazione da parte di FDA e di EMA di una nuova classe di farmaci a bersaglio molecolare inibitori dell'enzima PARP (PARP inibitori), utilizzabili nel trattamento delle pazienti affette da HGSOC.**

L'enzima PARP rappresenta un meccanismo di *escape* attivato dalla cellula tumorale per ripristinare la stabilità genomica quando il complesso HR risulta difettivo. Il razionale biologico nel trattamento delle pazienti HGSOC con PARP inibitori trova nel meccanismo della "letalità sintetica" la sua massima espressione.

Brevemente, l'approccio farmacologico basato sull'impiego dei PARP inibitori impedisce alla cellula positiva all'HRD di stabilizzare il proprio patrimonio genetico andando incontro a morte per apoptosi. Gli studi clinici hanno evidenziato come le pazienti portatrici di questa etichetta molecolare rispondano meglio al trattamento con PARP inibitori rispetto alle pazienti incluse nel braccio controllo (chemioterapia convenzionale)

**Ad oggi, è stato stimato che il 50% delle pazienti affette da HGSOC sono portatrici di instabilità genomica imputabile al disfunzionamento del complesso HR. Dal punto di vista analitico, le strategie di testing finalizzate all'identificazione dell'HRD si basano sulla valutazione delle alterazioni patogeniche nei geni BRCA1-2 integrate al calcolo dello score HRD sotto forma di valore numerico adimensionale, indice di instabilità genomica se superiore al *cut-off* di riferimento.**

I due pannelli approvati da FDA negli studi registrativi, quali *companion diagnostic* dei PARP inibitori per la valutazione dell'HRD, prevedono l'esternalizzazione del test per stimare l'instabilità genomica attraverso l'analisi integrata delle tre figure genomiche e il calcolo dell'HRD score (GIS) (Myriad myChoice HRD test), oppure mediante la valutazione della perdita di eterozigotà (LOH) (FoundationOne CDx).

In particolare, il test Myriad myChoice CDx, utilizzato negli studi registrativi PRIMA (niraparib) e PAOLA1 (olaparib) – valutando 54.000 SNPs (Single Nucleotide Polimorphisms, SNPs), polimorfismi di singola base di variazione genetica per le cicatrici genomiche – ha mostrato una sensibilità analitica del 95% nella valutazione delle alterazioni patogenetiche nei geni BRCA1-2 e nella determinazione dell'HRD score in una serie di n=561 pazienti affette da HGSOc.

**Un'analisi di validazione analitica del test Myriad ha posto il valore "42" come cut-off clinico idoneo nella stratificazione delle pazienti portatrici di questa cicatrice molecolare e responsive al trattamento con PARP inibitori. Il saggio FoundationOne CDx, impiegato nello studio registrativo ARIEL 3 (rucaparib), è basato sulla valutazione del profilo LOH in un'ampia porzione genomica, oltre all'analisi di 324 geni. In questo caso, il cut-off clinico registrato nello studio di validazione è stimato al 16% per discriminare le pazienti sensibili al trattamento con PARP inibitori.**

### 3. PROFILAZIONE GENOMICA HRD HGSOc NELLA PRATICA CLINICA

Ad oggi sono disponibili differenti test – marcati CE-IVD o CE-IVDR (In Vitro Diagnostic Medical Devices Regulation - EU 2017/146, in vigore dal 22.05.2022) – in grado di valutare l'HRD score, che si dividono in due tipologie: (i) pannelli NGS specifici per HRD (tabella 5); (ii) pannelli NGS CGP (Comprehensive Genomic Profiling) completi di algoritmo HRD (tabella 6 a pag. 7).

#### VALUTAZIONE HRD CON TEST NGS SPECIFICI

Produttore	MYRIAD	AMOYDX	QIAGEN	SOPHIA GENETICS
Pannello	Myriad MyChoiceCDx assay	AmoyDx HRD Focus panel	Qiaseq HRD panel	SOPHIA DDM HRD solution panel
Numero geni o polimorfismi di singola base (SNPs)	54.000 SNPs	24.000 SNPs	15 geni	28 geni
Geni BRCA	SI	SI	SI	SI
Geni HR	No	No	SI	SI
Marcatori genomici HRD	Genomic Instability Score (GIS): LOH, TAI, LST	Genomic Scar Score (GSS): diversi tipi di alterazioni del numero di copie dei geni	HRD Score (GIS): LOH, TAI, LST	Genomic Integrity Index (GII): flow-pass WGS per misurare le cicatrici genomiche
Stato HRD	<p><b>Positività HRD</b></p> <p>→ presenza di mutazioni BRCA1/2 oppure</p> <p>→ GIS ≥ 42 in assenza di mutazioni BRCA1/2</p>	<p><b>Positività HRD</b></p> <p>→ presenza di mutazioni BRCA1/2 oppure</p> <p>→ GSS ≥ 50 in assenza di mutazioni BRCA1/2</p>	<p><b>Positività HRD</b></p> <p>→ presenza di mutazioni BRCA1/2 oppure</p> <p>→ HRDscore ≥ 50 in assenza di mutazioni BRCA1/2</p>	<p><b>Positività HRD</b></p> <p>→ presenza di mutazioni BRCA1/2 oppure</p> <p>→ GII &gt; 0 in assenza di mutazioni BRCA1/2</p>

Fonte: Normanno N., Personal Communication

Tabella 5

Diversi studi hanno confrontato i risultati del test di riferimento Myriad's myChoiceCDx con tali pannelli, alcuni di questi sono stati analizzati nel contesto del nostro SSN. Il confronto descritto da Roma C. et al. (European Journal of Cancer, 2024) è stato eseguito con due pannelli NGS CGP "TruSight Oncology 500 HRD Assay" e "OncoPrint Comprehensive Assay Plus" e con il pannello specifico "SOPHiA DDM HRD solution panel".

I risultati hanno dimostrato una buona concordanza complessiva con il metodo di riferimento a tre diversi livelli: (i) stato mutazionale BRCA (dal 94.4% al 97.7%); (ii) valore di instabilità genomica-GIS (dall'88.2% al 95.3%); (iii) stato HRD, ovvero la combinazione tra stato mutazionale BRCA e il valore GIS per ciascun campione (dal 90.4% al 97.6%).

**VALUTAZIONE HRD CON TEST NGS CGP COMPLETI DI ALGORITMO HRD**

Produttore	FOUNDATION MEDICINE	ILLUMINA	THERMOFISHER
Pannello	F1CDX	TruSight Oncology 500 HRD	OncoPrint Assay Plus
Numero geni	324	523	517
Geni BRCA	SI	SI	SI
Geni HR	SI	SI	SI
Marcatori genomici HRD	LOH	Genomic Instability Score (GIS): LOH, TAI, LST	Genomic Instability Metrics (GIM): include diversi tipi di alterazioni del numero di copie dei geni non bilanciate
Stato HRD	Positività HRD → presenza di mutazioni BRCA1/2 oppure → LOH ≥ 16 in assenza di mutazioni BRCA1/2	Positività HRD → presenza di mutazioni BRCA1/2 oppure → GIS ≥ 42 in assenza di mutazioni BRCA1/2	Positività HRD → presenza di mutazioni BRCA1/2 oppure → GIM ≥ 16 in assenza di mutazioni BRCA1/2

Fonte: Normanno N., Personal Communication

Tabella 6

I ricercatori indicano che sono stati osservati alcuni casi discordanti nel rilevamento delle mutazioni BRCA, discordanza dovuta principalmente a una diversa classificazione delle varianti BRCA tra Myriad e gli altri pannelli. Per garantire l'identificazione di tutte le possibili mutazioni della linea germinale, viene quindi suggerito di verificare i dati di sequenziamento nei casi in cui il punteggio della cicatrice genomica è elevato e non viene segnalata alcuna mutazione BRCA patogena. I ricercatori concludono, indicando la fattibilità di utilizzare i pannelli in esame per valutare lo stato di HRD.

Similmente, Fumagalli C. et al. (Pathologica 2022) hanno mostrato una concordanza dell'84.0% e dell'87.8% per i tumori HRD positivi in una serie di n=95 pazienti analizzata attraverso AmoyDx HRD Focus Panel e precedentemente esternalizzati con il test di riferimento Myriad per la determinazione dello score HRD. Pur con i limiti sopra indicati sulla classificazione delle varianti BRCA e della necessità di maggior quantità di DNA richiesto da AmoyDx, gli autori indicano l'affidabilità di questo test per la valutazione di HRD nella pratica clinica.

Allo stesso modo, Pepe F. et al. (J Clin Pathol, 2023) hanno effettuato uno studio multicentrico di valutazione analitica delle procedure disponibili in commercio per la valutazione dello score HRD sfruttando una serie retrospettiva di casi testati attraverso saggio Myriad. Anche in questo caso, seppur con un limitato numero di campioni analizzati, i risultati tra le tre tecnologie impiegate nello studio hanno dimostrato un elevato *rate* di concordanza (>80%), con un significativo aumento (93%) quando i pannelli includevano nel proprio *reference range* le stesse figure genomiche.

In generale, particolare attenzione deve essere posta per la gestione del campione candidato al test molecolare, rappresentato usualmente da un campione tissutale fissato in formalina e incluso in paraffina. A tale riguardo, la quantità di cellule neoplastiche rappresentative dell'area tumorale svolge un ruolo chiave nella determinazione del *rate* di successo del test molecolare. Allo stesso modo, le fasi preanalitiche di gestione del campione biologico impattano drasticamente sulla integrità degli acidi nucleici. È necessario – in uno scenario dove il management preanalitico determina una netta riduzione dell'integrità degli acidi nucleici su cui si focalizzerà l'analisi molecolare – ottimizzare tali fasi preanalitiche.

Altre limitazioni sono inerenti alla natura del campione tissutale eleggibile al test molecolare. Il campione di tessuto (biopsia, resezione) è affetto da eterogeneità mutazionale a causa di cloni neoplastici con differenti profili genomici eventualmente presenti all'interno della stessa lesione. Questa condizione si traduce nella difficoltà di valutare l'assetto mutazionale che sia rappresentativo dell'intera lesione e di seguire l'evoluzione clonale della neoplasia in relazione alle condizioni cliniche della paziente. Come conseguenza delle criticità biologiche e analitiche emerse nella gestione del testing HRD in pratica clinica, lo sviluppo di percorsi armonizzati che ottimizzino la fase preanalitica e analitica di gestione del campione biologico rappresenta la direzione da perseguire per implementare il test per la valutazione dello score HRD nella pratica clinica delle pazienti affette da HGSOc.

**Complessivamente, questi studi di validazione, pur segnalando alcune criticità analitico-diagnostiche che richiedono particolare expertise per la valutazione di questo biomarcatore complesso, indicano la fattibilità di utilizzare i pannelli sopraindicati per valutare lo stato di HRD nella pratica clinica.**

#### **4. PROFILAZIONE GENOMICA HRD HGSOc NELLA PROSPETTIVA DI RICERCA PER IL MIGLIORAMENTO DELLE CURE**

Le mutazioni germinali dei geni BRCA1-2 rappresentano le principali cause ereditarie di cancro al seno e all'ovaio. Inoltre, dal 3% al 10% dei pazienti con adenocarcinoma pancreatico ha una storia familiare positiva, e si ritiene che circa il 10%-20% dei casi abbia una eziologia ereditaria. Anche nel tumore alla prostata, tali mutazioni germinali sono state riscontrate nell'1-6% dei pazienti, rappresentando così le cause più comuni di cancro ereditario prostatico. Lo studio dello stato mutazionale di BRCA ha quindi un ruolo chiave per l'identificazione della predisposizione familiare. Inoltre, numerosi studi clinici randomizzati hanno dimostrato che le mutazioni somatiche dei geni BRCA1-2 rappresentano un biomarcatore di risposta alla chemioterapia con composti a base di platino e con inibitori della poly ADP-ribose polymerasi (PARP inibitori), secondo il meccanismo della letalità sintetica.

Presso il Laboratorio di Patologia Molecolare della Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori di Milano (INT), è stato valutato lo stato mutazionale somatico di BRCA1 e BRCA2 in 543 pazienti, tra cui 450 (83%) con tumore ovarico, 53 con tumore al pancreas, 33 con tumore al seno e 7 con tumore alla prostata. Complessivamente, sono state individuate 97 varianti patogeniche di BRCA1-2 (18%) e 49 varianti di significato sconosciuto (VUS, 9%), mentre gli altri 397 casi (73%) sono risultati wild-type (WT).

#### **Homologous Recombination Deficiency (HRD), metodi di analisi e implementazione del test**

Come già osservato, oltre alla presenza di una variante patogenica costituzionale nei geni BRCA1-2, eventi di tipo genetico ed epigenetico possono provocare l'inattivazione di altri componenti del *pathway* della ricombinazione omologa (HR): alterazioni queste associate al deficit della ricombinazione omologa (HRD), che è presente nel 50% delle pazienti con carcinoma sieroso di alto grado dell'ovaio.

Il test utilizzato negli studi registrativi dei primi due PARP inibitori nel carcinoma ovarico è "Myriad myChoice HRD test", che stima l'instabilità genomica attraverso l'analisi integrata di tre "cicatrici" genomiche – la perdita di eterozigotà cromosomale (LOH), lo sbilanciamento allelico telomerico (TAI) e le transizioni genomiche di larga scala (LST) – per il calcolo dell'HRD score.



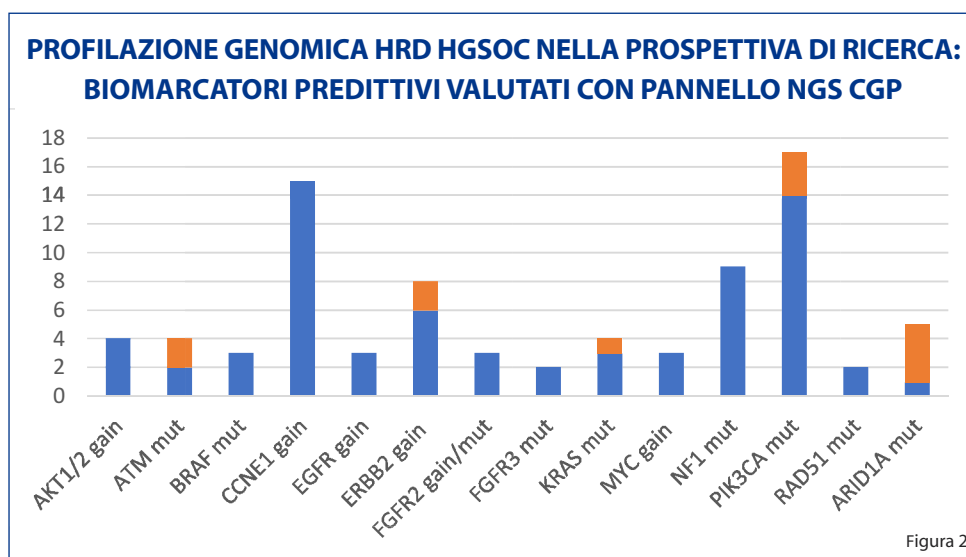
Tale pannello di riferimento si caratterizza per l'esternalizzazione dei test (valutazione effettuata solo in laboratori aziendali). Dal 2021 si è assistito al lancio di kit diagnostici alternativi con loro esecuzione nei laboratori locali, scelta strategica che rappresenta una svolta significativa nella accessibilità a questi test, la cui validità ed efficacia sono state confrontate con il kit di riferimento in diversi studi (tema trattato nella sessione 3 della presente pubblicazione).

Dal 2023 è disponibile il test "TruSight Oncology 500 HRD", che analizza le alterazioni molecolari in più di 500 geni, inclusi il carico mutazionale tumorale (TMB) e l'instabilità dei microsatelliti (MSI). Inoltre, utilizzando l'algoritmo sviluppato da Myriad Genetics, valuta le mutazioni BRCA1-2, identifica le "cicatrici" genomiche (LOH, TAI e LST) e stima il Genomic Instability Score (GIS).

Recentemente, il Laboratorio di Patologia Molecolare IRCCS Istituto Nazionale Tumori di Milano ha implementato l'analisi con il pannello TruSight Oncology 500 HRD delle pazienti con carcinoma ovarico avanzato, prese in carico in istituto o riferite da istituzioni pubbliche della rete oncologica lombarda che al momento non possiedono la tecnologia e il know-how per l'analisi NGS. L'obiettivo primario consiste nella caratterizzazione in un'unica soluzione dello stato dei geni BRCA1-2 e di HRD, permettendo alle pazienti residenti in Lombardia di accedere alla terapia personalizzata più efficace, con un miglioramento significativo della sopravvivenza e della qualità di vita. L'analisi genomica, finanziata dalla Regione Lombardia con Deliberazione N° XI/6989-2022, è stata condotta fino ad ora su 184 pazienti, rilevando in 37 casi (20%) varianti patogeniche dei geni BRCA1-2 e 49 casi (27%) BRCA WT e HRD (GIS>42).

Questo approccio ha permesso pertanto alle pazienti di ricevere un trattamento specifico con PARP inibitori. **L'utilizzo di un pannello NGS CGP per la caratterizzazione del carcinoma ovarico permette – in una prospettiva di ricerca e miglioramento delle cure – di ottenere un volume di informazioni significativamente più ampio, che comprende dati su biomarcatori predittivi valutati in studi clinici sperimentali** (come indicato in figura 2), per quanto riguarda le pazienti con HGSOE (barra blu) e con carcinoma a cellule chiare (barra arancione).

**Tra questi biomarcatori, è di particolare rilievo l'amplificazione del gene CCNE1, che rappresenta un'alterazione genomica correlata a un farmaco attualmente disponibile in studi clinici sperimentali.**



Bisogna segnalare che nello studio si è riscontrato un fallimento del test nel 28% dei casi, indicando che per una significativa porzione di campioni non è stato possibile ottenere risultati conclusivi. Questi insuccessi possono essere attribuiti a vari fattori, tra cui la qualità del DNA, la presenza di inibitori nel campione o limitazioni tecniche. Un terzo di questi campioni proveniva da fonti esterne, suggerendo – come in precedenza indicato nella presente pubblicazione – la necessità di una standardizzazione delle procedure di raccolta e di processamento dei campioni e sottolineando l'importanza della rete di laboratori.

## 5. COSTI DELLA PROFILAZIONE GENOMICA HRD HGSOC NELLA PRATICA CLINICA

Come già ricordato, le raccomandazioni 2024 di impiego NGS nella pratica clinica di ESMO (European Society for Medical Oncology), recentemente pubblicate, indicano per il carcinoma ovarico avanzato le seguenti alterazioni (ESCAT score IA) da valutare (tabella 2):

- **BRCA 1-2 GERMINALE** con una prevalenza stimata nel 15-17% delle pazienti
- **BRCA 1-2 SOMATICO** con una prevalenza stimata nel 5-7% delle pazienti
- **HRD** con una prevalenza stimata nel 50% dei casi di carcinoma sieroso di alto grado.

Nella gestione clinica di questo tumore, il test BRCA rappresenta il biomarcatore predittivo per la terapia target con PARP inibitori, da cui traggono beneficio anche le pazienti HRD status positivo e BRCA negativo. Una Consensus a livello europeo (Vergote I. et al. Ann Oncol 2022) ha suggerito che il test HRD, che include anche l'analisi delle mutazioni dei geni BRCA 1 e BRCA 2, sia eseguito nelle prime fasi di diagnosi della malattia.

**Nel documento “Proposta di regolamentazione per l’appropriatezza dell’utilizzo dei Test Multigenici NGS predittivi e prognostici nella pratica clinica”, a cura del Gruppo di Lavoro del Consiglio Superiore di Sanità - Ministero della Salute (11 luglio 2023), si fa riferimento all’utilizzo di pannelli NGS che, pur avendo costi e complessità di esercizio maggiori, consentono di effettuare un profilo genomico complessivo (comprehensive genomic profiling, CGP) e di valutare anche biomarcatori complessi, come ad esempio:**

- **il deficit di ricombinazione omologa (homologous recombination deficiency, HRD)**
- il carico mutazionale del tumore (Tumor Mutational Burden, TMB)
- l’instabilità dei microsatelliti (MSI)

Il documento indica, inoltre, che l’impiego di ampi pannelli multigenici per CGP appare attualmente appropriato nei seguenti tumori:

- **Carcinoma dell’Ovaio**
- Carcinomi di origine sconosciuta (Cancer of Unknown Primary, CUP)
- Tumori solidi avanzati per i quali non sono disponibili alternative terapeutiche, nell’ambito della valutazione dei Molecular Tumor Board (MTB)
- Tumori solidi pediatrici

Per quanto riguarda gli aspetti economici, nel 2020 il Gruppo Multidisciplinare Innovatività (GMI) ha effettuato un'analisi dei costi della profilazione con NGS del NSCLC (non-small-cell lung cancer), rilevati su 774 pazienti in ospedali italiani. **Il costo relativo a tale profilazione NGS CGP (con pannello da 324 geni) è stato stimato pari a 1.850 euro** (Pinto C. et al, GMI - Economia Sanitaria 2021), nell’ambito dello stesso studio sul costo della profilazione NGS NSCLC nella pratica clinica (con pannello da 52 geni + fusioni) che è risultato pari a 1.150 euro: costo recepito nel Decreto relativo all’adenocarcinoma del polmone (DM MinSal 30.09.22) e in quello del colangiocarcinoma (DM MinSal 06.03.23).

In particolare, **tali analisi per stimare il costo totale della profilazione NGS (sia per la pratica clinica sia per CGP) hanno considerato** (tabella 7):

- (i) **i costi dell'attività diagnostica** (personale per il tempo dedicato; materiali di consumo utilizzati; acquisto e manutenzione dei macchinari necessari);
- (ii) **i costi di struttura**, che prevedono l'incremento del 20% di quelli diagnostici secondo valori riportati nella letteratura scientifica (non essendovi un dato italiano validato).

<b>COSTI PROFILAZIONE NGS NSCLC (valori in euro)</b>		
<b>PANNELLI</b>	<b>Pratica clinica</b>	<b>CGP (comprehensive genomic profiling)</b>
<b>CARATTERISTICHE</b>	<b>52 geni + fusioni</b>	<b>324 GENI</b>
<b>TOTALE COSTI DIAGNOSTICI</b>	<b>955</b>	<b>1.552</b>
<b>Costi di struttura (20%)</b>	<b>191</b>	<b>310</b>
<b>TOTALE COSTI</b>	<b>1.146</b>	<b>1.862</b>

Fonte: Pinto C. et al, GMI - Economia Sanitaria 2021

Tabella 7

**Costi simili per la profilazione NGS CGP del NSCLC sono stati stimati da due altri studi condotti in Italia**, pari rispettivamente a 2.389 euro (Pruneri et al, PharmacoEconomics-Open, 2020) e 1.975 euro (Pisapia et al., Critical Reviews in Oncology/Hematology, 2021).

**Come già osservato in precedenti pubblicazioni GMI, la tecnologia NGS è in continuo sviluppo: da una parte con l'ampliamento progressivo delle mutazioni testate ad invarianza di costo, dall'altra con la progressiva riduzione di tali costi nel medio periodo. Riduzione che deve però interessare un numero ampio e qualificato di laboratori, quelli con i requisiti previsti dal Decreto Ministero della Salute 30.12.2021, quale condizione per garantire a tutti i cittadini sul territorio nazionale equità di accesso a un percorso diagnostico e di cura appropriato.**

In riferimento alla disponibilità di farmaci approvati e rimborsati da AIFA (PARP inibitori) per HGSOC (ancora oggi uno dei tumori "big killers"), prescrivibili solo in presenza di test con finalità diagnostiche o di monitoraggio della risposta terapeutica, il GMI ha approfondito l'attuale scenario economico di profilazione genomica dell'HRD per HGSOC nella pratica clinica.

Il primo test utilizzato negli studi registrativi dei PARP inibitori nel carcinoma ovarico e approvato da FDA, *quale companion diagnostic*, è Myriad MyChoiceCDx assay. Alcuni studi hanno confrontato i risultati di tale test di riferimento con altri kit di valutazione genomica HRD disponibili sul mercato. In particolare, nella sessione 3 della presente pubblicazione, sono stati riportati i dati clinici e diagnostici di tali confronti effettuati nell'ambito del nostro SSN, relativi a 4 pannelli: due NGS specifici per HRD ("AmoyDx HRD Focus Panel" e "SOPHiA DDM HRD Solution panel") e due pannelli NGS CGP completi di algoritmo HRD ("TruSight Oncology 500 HRD Assay" e "OncoPrint Comprehensive Assay Plus").

La presente analisi economica, con il supporto di un qualificato panel di laboratori (rispondenti ai requisiti previsti dal DM MinSal 30.12.21), si è quindi focalizzata sui 4 pannelli sopra indicati, stimando – con modalità simili allo studio sull'adenocarcinoma del polmone (Pinto C. et al, GMI Economia Sanitaria 2021) – il costo della profilazione NGS HRD per HGSOC nella pratica clinica.

Bisogna ricordare che nella presente analisi non sono stati valutati i costi del test di riferimento Myriad MyChoiceCDx assay, in quanto per scelte di politica commerciale aziendale il costo del kit è rimasto sostanzialmente allineato ai prezzi iniziali molto alti, difficilmente confrontabili con quelli della concorrenza successivamente arrivata sul mercato.

L'analisi ha evidenziato **costi dell'attività diagnostica** (personale per il tempo dedicato; materiali di consumo utilizzati; acquisto e manutenzione dei macchinari necessari) molto variabili da 912 euro a 1.512 euro e i **costi totali (compresi quelli di struttura)** da 1.094 euro a 1.814 euro (tabella 8).

<b>GMI - COSTI PROFILAZIONE NGS HRD HGSOC (valori in euro)</b>					
<b>PANNELLI</b>	<b>AmoyDx HRD Focus panel</b>	<b>SOPHIA DDM HRD Solution panel</b>	<b>Oncomine Comp Assay Plus</b>	<b>Oncomine Comp Assay Plus</b>	<b>Illumina TSO 500 HRD</b>
<b>CARATTERISTICHE</b>	24000 SNPs	28 GENI	CGP 517 GENI (solo modulo DNA)	CGP 517 GENI (moduli DNA+RNA)	CGP 523 GENI (moduli DNA+RNA)
<b>TOTALE COSTI DIAGNOSTICI</b>	<b>1.162</b>	<b>1.223</b>	<b>912</b>	<b>1.512</b>	<b>1.502</b>
<b>Costi di struttura (20%)</b>	<b>232</b>	<b>245</b>	<b>182</b>	<b>302</b>	<b>300</b>
<b>TOTALE COSTI</b>	<b>1.394</b>	<b>1.468</b>	<b>1.094</b>	<b>1.814</b>	<b>1.802</b>

Tabella 8

Il costo più basso è relativo al pannello NGS CGP Oncomine, nella versione con il solo modulo per la valutazione del DNA (le cui alterazioni genomiche caratterizzano il carcinoma ovarico avanzato), con un costo totale pari a 1.094 euro. A livello intermedio si collocano i due pannelli NGS specifici per HRD, con un costo totale pari a 1.394 e 1.468 euro.

Sia il pannello NGS CGP Oncomine (con moduli DNA+RNA, che analizza 517 geni) che quello CGP TSO 500 (che analizza 523 geni) consentono di effettuare un profilo genomico complessivo. **I costi totali della profilazione NGS CGP – il cui utilizzo è indicato nei centri di ricerca e nell'ambito della valutazione dei Molecular Tumor Board (MTB) – risultano con tali pannelli rispettivamente pari a 1.814 e a 1.802 euro, confermando la valutazione economica di tale profilazione, pari a circa 1.850 euro** (Pinto et al - GMI, Economia Sanitaria 2021, con pannello da 324 geni) e come già ricordato la tendenza che caratterizza anche lo sviluppo tecnologico NGS con l'ampliamento progressivo delle mutazioni testate ad invarianza di costo.

**Per una valutazione complessiva dell'attuale scenario relativo alla profilazione genomica NGS HRD per HGSOC, accanto all'aspetto clinico-terapeutico e alla stima dei costi specifici, bisogna considerare altri aspetti.**

- (i) Il Nomenclatore tariffario LEA (DM 23 giugno 2023, GU n. 181 del 4/08/2023), la cui entrata in vigore è stata spostata al 1° gennaio 2025, indica una tariffa massima di 1.350 euro per l'analisi di sequenze geniche ad ampio spettro (da 3 fino a 47 geni): tali tariffe non sono specifiche per l'Oncologia, a differenza di quanto deliberato da diverse Regioni in ambito oncologico, che le hanno modulate secondo il numero dei geni refertati con costi di produzione correlati e conseguenti risparmi.
- (ii) Per quanto riguarda l'approccio metodologico, in particolare al rapporto "costi di produzione e tariffe", le tariffe possono riflettere/essere proxy dei costi di produzione (come nel caso della profilazione NGS del NSCLC), oppure possono essere fissate con l'obiettivo di politica sanitaria e quindi non essere totalmente allineate con i costi di produzione.

**In questo ultimo caso può rientrare la valutazione di un biomarcatore complesso come l'HRD per HGSOC (specificamente associato a circa 2.000 casi in Italia), la cui valutazione – possibile con tre dei pannelli sopra analizzati (per due dei quali l'incremento dei costi di struttura varia dal 10% al 16%, anziché il 20% come da letteratura, comunque in un range accettabile) – può essere correlata a una tariffa di 1.350 euro (tabella 9).**

**GMI - COSTI PROFILAZIONE NGS HRD DELL'HGSOC (valori in euro)  
NELLA PROSPETTIVA DI UN COSTO/TARIFFA DI 1.350 EURO**

PANNELLI	AmoyDx HRD Focus		SOPHIA DDM HRD Solution		Oncomine Comp. Assay Plus	
CARATTERISTICHE	24000 SNPs		28 GENI		CGP 517 GENI (solo modulo DNA)	
COSTI DIAGNOSTICI		1.162		1.223		912
COSTI DI STRUTTURA (incremento % costi diagnostici)	16%	186	10%	122	20%	182
TOTALE COSTI		1.348		1.345		1.094

Tabella 9

**L'analisi ha quindi evidenziato che è possibile la profilazione NGS HRD dell'HGSOC nella pratica clinica con un costo pari a 1.350 al fine di garantire – prima con un Fondo dedicato e poi con l'inserimento nei LEA a partire dal 1° gennaio 2025 – a tutte le pazienti sul territorio nazionale equità e accesso a questo test genomico e conseguente cura con terapia appropriata del carcinoma sieroso di alto grado dell'ovaio.**

**L'analisi ha altresì confermato che, nel breve-medio periodo, il costo per la valutazione del profilo genomico complessivo (comprehensive genomic profiling) – indicato nell'ambito dei Molecular Tumor Board (MTB) o nella prospettiva di ricerca per il miglioramento delle cure – è pari a circa 1.850 euro (Pinto et al - GMI, Economia Sanitaria 2021).**

**Il Documento è stato redatto dal Gruppo Multidisciplinare Innovatività (GMI)**

**Disclosure:** Il presente lavoro è il risultato degli incontri del GMI con il coordinamento di Economia Sanitaria srl, presentato in evento pubblico e supportato da un "unrestricted grant" di Roche Diagnostics.

**Provenienza:** non commissionato, non sottoposto a peer-review.

**Copyright:** © 2024 Economia Sanitaria srl, Monza (Italy)

**E-mail:** g.ravasio@economiasanitaria.it

## BIBLIOGRAFIA

1. I numeri del cancro in Italia, 2023 AIOM-AIRTUM  
[https://www.aiom.it/wp-content/uploads/2023/12/2023\\_AIOM\\_NDC-web.pdf](https://www.aiom.it/wp-content/uploads/2023/12/2023_AIOM_NDC-web.pdf)  
(Ultimo accesso: 28 giugno 2024)
2. Mosele MF, et al. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with advanced cancer in 2024: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group  
Ann Oncol. 2024 Jul;35(7):588-606 [https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(24\)00111-X/fulltext](https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(24)00111-X/fulltext)  
(Ultimo accesso: 28 giugno 2024)
3. Mangogna A, et al. Homologous Recombination Deficiency in Ovarian Cancer: from the Biological Rationale to Current Diagnostic Approaches  
J. Pers. Med. 2023, 13, 284. <https://doi.org/10.3390/jpm13020284>  
(Ultimo accesso: 28 giugno 2024)
4. Gruppo di Lavoro Consiglio Superiore di Sanità - Ministero della Salute "Proposta di regolamentazione per l'appropriatezza dell'utilizzo dei Test Multigenici NGS predittivi e prognostici nella pratica clinica" (15-09-2023)  
[https://www.salute.gov.it/portale/documentazione/p6\\_2\\_2\\_1.jsp?lingua=italiano&id=3358](https://www.salute.gov.it/portale/documentazione/p6_2_2_1.jsp?lingua=italiano&id=3358)  
(Ultimo accesso: 28 giugno 2024)
5. Pinto C, et al. Economia Sanitaria 2021. Profilazione genomica del NSCLC: confronto costi tra metodiche standard e test NGS. (Gruppo Multidisciplinare Innovatività - GMI)  
[http://www.economiasanitaria.it/primopiano/GMI-Profilazione\\_Genomica\\_NSCLC.pdf](http://www.economiasanitaria.it/primopiano/GMI-Profilazione_Genomica_NSCLC.pdf)  
(Ultimo accesso: 28 giugno 2024)
6. Decreto Ministero Salute 30.09.22 (GU n. 253 del 28.10.2022). Riparto del fondo per il potenziamento dei test di Next-Generation Sequencing di profilazione genomica dei tumori dei quali sono riconosciute evidenza e appropriatezza.  
<https://www.gazzettaufficiale.it/eli/gu/2022/10/28/253/sg/pdf>  
(Ultimo accesso: 28 giugno 2024)
7. Decreto Ministero Salute 30.12.21 (GU n. 50 del 01.03.2022). Ripartizione dell'incentivo al processo di riorganizzazione della rete dei laboratori del Servizio sanitario nazionale.  
<https://www.gazzettaufficiale.it/eli/gu/2022/03/01/50/sg/pdf>  
(Ultimo accesso: 28 giugno 2024)
8. Decreto Ministero Salute 23.06.23 (GU n. 181 del 04.08.23). Definizione delle tariffe dell'assistenza specialistica ambulatoriale e protesica.  
<https://www.trovanorme.salute.gov.it/norme/renderNormsanPdf?anno=2023&codLeg=95791&parte=1%20&serie=null>  
(Ultimo accesso: 28 giugno 2024)
9. Decreto Ministero Salute 30.05.23 (GU n. 190 del 16.08.2023). Istituzione dei Molecular Tumor Board (MTB) e individuazione dei centri specialistici per l'esecuzione dei test per la profilazione genomica estesa NGS  
<https://www.gazzettaufficiale.it/eli/gu/2023/08/16/190/sg/pdf>  
(Ultimo accesso: 28 giugno 2024)
10. Pinto C, et al. Economia Sanitaria 2023. Oltre 31.000 pazienti oncologici in attesa di TEST NGS: necessari Fondi 2024 aspettando Tariffe LEA, per rendere effettivi i risparmi per SSN e garantire diagnosi e terapie appropriate (Gruppo Multidisciplinare Innovatività - GMI)  
[https://www.economiasanitaria.it/primopiano/GMI-Oltre\\_31.000\\_pazienti\\_oncologici\\_in\\_attesa\\_TEST\\_NGS.pdf](https://www.economiasanitaria.it/primopiano/GMI-Oltre_31.000_pazienti_oncologici_in_attesa_TEST_NGS.pdf)  
(Ultimo accesso: 28 giugno 2024)