HELIXAFE

PROGRAMMA DI PREVENZIONE DEI TUMORI SOLIDI

MONITORAGGIO DELLA STABILITÀ GENETICA

BIOSCIENCE GENOMICS

Università di Roma Tor Vergata spin off

HELIXAFE

Il cancro è la seconda causa di decesso al mondo. Il suo principale fattore di rischio è l'invecchiamento, ma le patologie tumorali possono colpire a qualsiasi età; per questo non è mai troppo presto per iniziare un programma di prevenzione.
I test di screening genetico più diffusi forniscono informazioni riguardanti la predisposizione familiare allo sviluppo di un tumore; purtroppo la necessità di interpretare i loro risultati lascia spazio alla possibilità di non ottenere le risposte cercate. Gli altri test di screening oggi utilizzati a scopo preventivo riescono invece a identificare i tumori solidi solo quando già sviluppati ed evidenti.
Con HELIXAFE, **BIOSCIENCE INSTITUTE** mette a disposizione uno strumento per prevenire i tumori solidi anticipando la fase della diagnosi precoce di diversi anni: il monitoraggio delle mutazioni somatiche e germinali finalizzato all'analisi dell'instabilità genomica.
In base ai risultati ottenuti è possibile adottare strategie basate su modifiche dello stile di vita e sull'assunzione di integratori alimentari e farmaci utili a ridurre i fattori di rischio per lo sviluppo del cancro.

L'INSTABILITÀ GENOMICA

Il fenomeno dell'instabilità genomica dipende dall'accumulo di modificazioni genetiche ed epigenetiche nelle cellule somatiche. Il tempo necessario al suo sviluppo varia da anni a decenni, durante i quali possono comparire sia mutazioni puntiformi sia variazioni del numero di copie. Nel primo caso l'instabilità si manifesta a livello dei nucleotidi ed è rappresentata da cambiamenti puntiformi nella sequenza dei geni (somatic point mutations, SPM). Le variazioni del numero di copie (somatic copy number alterations, SCNA) corrispondono invece a un'instabilità a livello cromosomico. Possono causare la perdita o l'acquisizione di interi cromosomi, riarrangiamenti cromosomici associati alla perdita di materiale genetico o alla generazione di nuovi prodotti genici, oppure l'amplificazione di geni. In particolare, molti tumori in fase avanzata di sviluppo sono caratterizzati dall'amplificazione di oncogeni, un fenomeno chiaramente associato alla progressione del tumore e che può influenzare la prognosi. In alcuni casi l'amplificazione di oncogeni può conferire resistenza alla chemioterapia; in altri, invece, può essere un bersaglio per i trattamenti antitumorali..

INSTABILITÀ GENOMICA E TUMORI

La maggior parte delle cellule caratterizzate da instabilità genomica viene eliminata dall'organismo; quelle che sopravvivono possono però dare origine a una massa tumorale. Inoltre, la maggior parte dei tumori sviluppa un'instabilità genomica in una fase della sua progressione. Infine, l'instabilità genomica è responsabile dell'eterogeneità della popolazione cellulare che costituisce il tumore; ciò fa sì che nessun tumore sia identico a un altro e che nessun tumore sia composto da cellule geneticamente identiche, ma che al suo interno siano presenti diversi cloni geneticamente differenti. Da quest'ultima caratteristica dipende anche il tasso di sopravvivenza dei pazienti, che tende a diminuire all'aumentare del numero di cloni fino a raggiungere un minimo in presenza di 4 cloni distinti. Anche un carico di SCNA elevato, se distribuito fra diversi cloni, è associato a un esito meno favorevole; viceversa, un carico di SCNA per singolo clone superiore al 75% è associato a un esito favorevole.

TIPO DI INSTABILITÀ GENOMICA	ALTERAZIONE	FORMA TUMORALE ASSOCIATA
SPM	mutazione puntiforme in K-ras	pancreas
SCNA	perdita di alleli	colon, seno, pancreas, prostata

Il genoma delle cellule tumorali può diventare instabile a causa di alterazioni dei meccanismi responsabili del mantenimento della stabilità genomica. In altri casi, le cellule tumorali possono sviluppare la capacità di manipolare o sfuggire ai meccanismi di controllo di qualità che altrimenti porterebbero a fenomeni di senescenza e apoptosi. A volte l'aumento dell'instabilità è solo temporaneo ed è seguito dal ritorno a un genoma relativamente stabile, ma alla resa dei conti quasi tutti i tumori solidi sono geneticamente instabili. La forma di instabilità genomica più spesso associata al cancro è quella osservabile a livello cromosomico: la perdita o l'acquisizione di più cromosomi è dalle 10 alle 100 volte più frequente nei tumori che nelle cellule sane. Tuttavia, l'instabilità a livello nucleotidico causa fenotipi più gravi.

In ogni caso, la semplice presenza di alterazioni genetiche, seppur frequenti, non può essere considerata un marcatore di instabilità genomica. Infatti per definizione l'instabilità è una questione di tasso; per questo la semplice analisi della presenza di mutazioni puntiformi non è sufficiente a determinare l'instabilità genomica. La misurazione della frequenza di mutazioni in un unico istante può riflettere errori casuali, mentre la valutazione del tasso di frequenza di mutazioni effettuata prendendo in considerazione almeno due tempi successivi fornisce un'indicazione affidabile dell'instabilità genomica.

MUTAZIONI SOMATICHE E FASE PRODROMICA DEL CANCRO

L'instabilità genomica non è un marcatore del rischio di cancro, ma può indicare la cosiddetta fase prodromica di un tumore, ossia quella fase che può durare diversi anni durante la quale le cellule di individui clinicamente sani che non mostrano alcun sintomo della presenza di un tumore accumulano progressivamente mutazioni somatiche.

LO STADIO PRODROMICO

Infatti a entrare in gioco nella relazione tra instabilità genomica e tumori non sono mutazioni ereditarie associate al rischio di sviluppare un cancro come quelle nei geni BRCA 1 e 2, ma cambiamenti acquisiti, non ereditari, in cellule somatiche. Queste mutazioni si accumulano progressivamente in tessuti specifici, e il loro accumulo è sintomatico della capacità dell'organismo di riparare il DNA.

Solo una percentuale limitata di tumori ha una chiara componente ereditaria; per di più perché si sviluppi un cancro è necessaria la comparsa di mutazioni acquisite anche nei casi in cui la predisposizione allo sviluppo del tumore è ereditaria.

Per tutti questi motivi l'analisi dell'instabilità genomica può aiutare a identificare la fase prodromica del cancro. L'obiettivo finale è prevenire e gestire l'instabilità genomica. Per farlo è possibile agire prima di tutto sullo stile di vita, per esempio ottimizzando l'assunzione di nutrienti che possono influenzare la stabilità del genoma, come la vitamina C e la vitamina D. Inoltre alcuni farmaci sono associati alla riduzione del rischio di cancro, vedi tabella:

US FDA APPROVED AGENTS FOR CANCER RISK REDUCTION	
Tamoxifen, Raloxifene	Breast
Porfimer	esophageal
Aspirin, celecoxib	colorectal
Bacillus Calmette-guerin, Valrubicin	bladder
Fluorouracil, diclofenac,imiquimod, ingenol m.	skin

INSTABILITÀ GENOMICA E TRATTAMENTI ANTITUMORALI

L'analisi dell'instabilità genomica può essere utile anche dopo una diagnosi di cancro. Sembra, per esempio, che i tumori caratterizzati da un maggior numero di SPM (come le forme di cancro del colon retto associate a instabilità dei microsatelliti e alcuni melanomi metastatici) rispondano meglio alle terapie basate sull'attività dei checkpoint immunitari. Inoltre è possibile uccidere le cellule tumorali risparmiando quelle sane proprio agendo in modo specifico sui meccanismi che portano all'instabilità genomica; la dose di chemioterapici può per esempio essere ottimizzata per indurre nuove SCNA o per aumentare l'accumulo di SPM, facendo superare il limite oltre il quale l'instabilità genomica è tollerabile e promuovendo, così, l'eliminazione delle cellule tumorali.

Un'altra possibile applicazione dell'analisi dell'instabilità genomica è l'identificazione delle cause alla base della resistenza alle terapie, che può dipendere dalla presenza di piccole sottopopolazioni di cellule tumorali difficilmente identificabili o di alterazioni genetiche che conferiscono alle cellule la resistenza ai trattamenti.

Le informazioni ottenibili con un'analisi di questo tipo possono aiutare sia a monitorare la risposta alle terapie sia a scegliere l'approccio terapeutico più adatto. Per esempio, nei pazienti con tumore del polmone non a piccole cellule caratterizzato da almeno 10 mutazioni per megabase, il tasso di sopravvivenza libera da progressione della malattia a 1 anno è superiore in caso di trattamento con nivolumab più ipilimumab che in caso di chemioterapia (42,6% rispetto a 13,2%).

L'ANALISI DELL'INSTABILITÀ GENOMICA

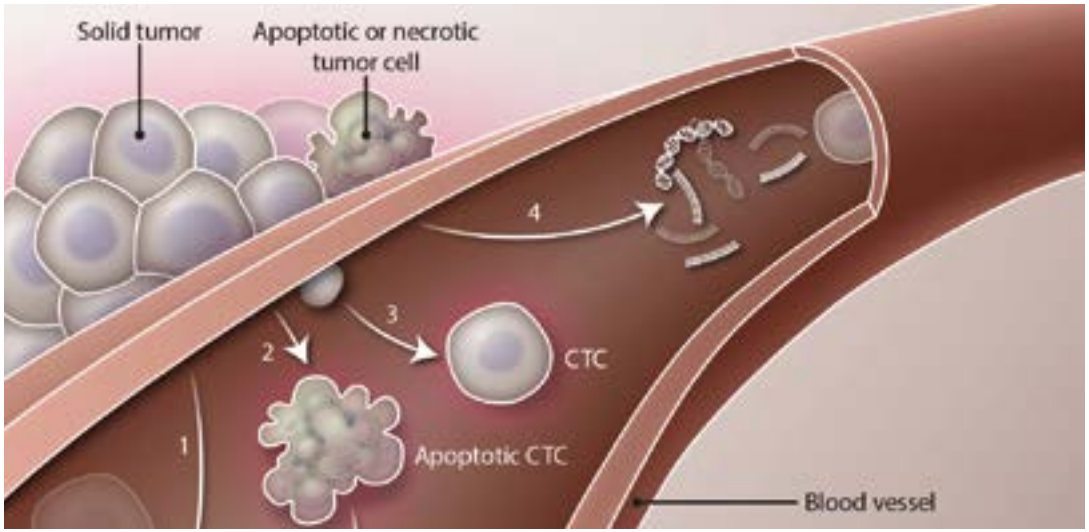
L'analisi dell'instabilità genomica è complicata dalla presenza di diverse sottopopolazioni di cellule all'interno di un tumore. Per di più il tasso di SNCA è più difficile da studiare rispetto alla frequenza di SPM. Per questo non è possibile monitorare in modo efficace l'instabilità genomica con i tradizionali approcci basati sull'analisi di campioni di tessuti.

Questi limiti possono essere superati analizzando il DNA tumorale libero in circolazione nel sangue (il cosiddetto circulating-tumor DNA, o ctDNA). Il ctDNA rappresenta non più del 10% del DNA libero circolante nel sangue (circulating cell-free DNA, cfDNA), ma l'elevata sensibilità dei metodi di sequenziamento e degli strumenti bioinformatici oggi a disposizione permette di identificare alterazioni genetiche rilevanti dal punto di vista clinico con una sensibilità inferiore a 1 molecola mutata per millilitro di plasma.

Mentre la diagnosi precoce mediante identificazione di un singolo evento a livello genomico resta un'ambiziosa applicazione clinica dell'analisi del cfDNA, il monitoraggio dell'instabilità genomica negli individui sani può aiutare a identificare le persone che potrebbero trarre vantaggio da programmi di prevenzione precoci. In particolare, un gruppo di ricercatori dell'Ospedale Universitario di Basilea, dell'Università di Trieste, del Memorial Sloan Kettering Cancer Center di New York, dell'Università di Roma "Tor Vergata" e del Bioscience Institute di San Marino ha dimostrato la fattibilità tecnica dell'estrazione e dell'analisi del cfDNA per studiare alterazioni a livello genomico. I risultati dell'analisi del cfDNA sono risultati ampiamente in accordo con quelli dell'analisi dei campioni istologici; inoltre l'identificazione di alcune mutazioni solo nei campioni ematici ha confermato il potenziale valore clinico dell'uso parallelo di questo approccio e della biopsia. Infine, il monitoraggio della stabilità genomica, durato 10 anni, ha dimostrato che mentre la maggior parte degli individui che non sviluppano un tumore non accumula alterazioni genetiche, una quota significativa di individui sani acquisisce mutazioni clinicamente rilevanti, incluse alterazioni note per la loro associazione con forme tumorali.

cfDNA

il DNA libero circolante analizzato da HELIXAFE è costituito da piccoli frammenti che si trovano liberi nel plasma. Le recentissime tecniche di isolamento ed amplificazione del cfDNA hanno reso possibile, attraverso il sequenziamento, l'analisi delle mutazioni somatiche e della loro frequenza. Ad oggi, solo attraverso il sequenziamento del DNA libero circolante è possibile analizzare le mutazioni somatiche e, quindi, valutare la stabilità genetica dell'individuo. In passato, la prevenzione su base genetica consisteva nell'analisi del DNA per la ricerca delle sole mutazioni germinali. L'innovazione è, oggi, rappresentata dal fatto che la prevenzione basata sulle mutazioni germinali e, quindi, sulla probabilità di un rischio ereditato può essere integrata con una valutazione oggettiva della stabilità genetica dell'individuo basata sulle mutazioni somatiche.



BIOPSIA LIQUIDA

Il termine biopsia liquida descrive una metodica altamente sensibile, basata su un semplice prelievo di sangue periferico, per l'estrazione e l'analisi del DNA libero circolante, del DNA tumorale circolante oppure delle Cellule Tumorali Circolanti.

BIOPSIA DEL TESSUTO	VS	SCED - HELIXAFE
Invasiva		Non invasiva
Specifica per l'area primaria del tumore		Indipendente dal tumore primario
Valutazione priva dell'eterogeneità del tumore		Informativo del tumore primario
Spesso difficile da ottenere		Prelievo di sangue facilmente ottenibile
Non rilevante in caso di tumore rimosso		Informativa precoce
Difficile da ripetere		Ripetibile
Rischio di localizzazione inaccurata		Rischio di un prelievo di sangue insufficente

IL PROGRAMMA DI PREVENZIONE HELIXAFE

HELIXAFE non è né un test di screening né uno strumento per l'analisi del rischio, la rilevazione precoce o la diagnosi dei tumori. Piuttosto, si tratta di un programma di prevenzione che permette di valutare lo stato prodromico, totalmente asintomatico, dei tumori solidi (esclusi quelli del cervello) attraverso l'analisi e il monitoraggio del tasso di mutazioni (e quindi dell'instabilità genomica) nel cfDNA.

É sufficente sottoporsi ogni anno al prelievo, di 10-20 cc di sangue, da cui sarà ottenuto il cfDNA per l'analisi del tasso di mutazioni mediante Multi Biomarker Next Generation Sequencing (NGS), un'innovativa tecnica di sequenziamento del DNA che permette di sequenziare contemporaneamente un numero elevato di piccoli frammenti di DNA con una copertura elevata delle regioni di interesse. In questo modo è possibile identificare anche mutazioni associate ai tumori poco rappresentate nel campione studiato.

In assenza di mutazioni nel cfDNA, o se le mutazioni rilevate sono presenti anche nel campione di controllo (DNA da globuli bianchi) e quindi sono mutazioni ereditarie non indicative di instabilità genomica, si procederà a programmare una nuova analisi a distanza di un anno. Nei casi in cui, invece, l'analisi del cfDNA rilevi la presenza di mutazioni acquisite è indicata la ricerca di eventuali mutazioni ereditarie che predispongono all'insorgenza di un tumore.

Risultati alla mano, il paziente viene indirizzato al counseling con un esperto di tumori, e l'instabilità genomica rilevata con HeliXafe viene analizzata più nel dettaglio mediante SCED, un test di screening per la rilevazione precoce di tumori solidi non invasivi basato sull'analisi simultanea mediante NGS del ctDNA.

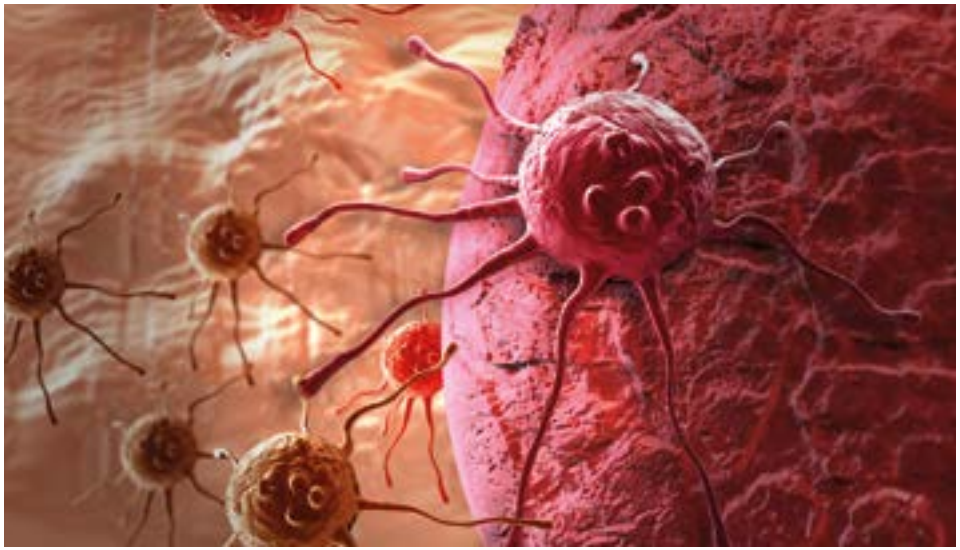
	Prevenzione HELIXAFE				Diagnosi precoce
	HELIXPAN	HELIXMOKER	HELIXGYN	HELIXCOLON	SCED
Geni	50	ALK,BRAF,EGFR, ERBB2, KRAS, MAP2K1, MET, NRAS, PIK3CA, ROS1, TP53	AKT1, EGFR, ERBB2, ERBB3, ESR1, FBXW7, KRAS, PIK3CA, SF3B1, TP53	AKT1, BRAF, CTNNB1, EGFR, ERBB2, FBXW7, GNAS, KRAS, MAP2K1, NRAS, PIK3CA, SMAD4, TP53, and APC	52 geni, Libreria singola da DNA, 272 ampliconi, >900 hotspots e inserzioni/delezioni, copertura estesa di TP53, 96 fusioni,12 CNVs, skipping sull'esone 14 del gene MET.
Mutazioni	2800	169 Hotspot	157 Hotspot	245 Hotspot	Mutazioni selezionate
Sensibilità	95%*	100%	>99,9%	>99,9%	>99,9%
Specificità	98%*	99,6%	>99,9%	>99,9%	>99,9%
Frequenze Alleliche %	>1%	>0,50%	>0,50%	>0,50%	>0,50%
NGS	●	●	●	●	●
ctDNA	●	●	●	●	●
DNA Germinale	○	○	○	○	○

● Incluso ○ Opzionale

HELIXPAN

TUMORI SOLIDI

HELIXAFE è un programma di prevenzione finalizzato alla valutazione della fase prodromica dei tumori solidi, ad eccezione di quelli del cervello. Con la ripetizione annuale di HELIXPAN si effettua il monitoraggio delle mutazioni somatiche e, quindi, si tiene sotto controllo la stabilità genetica che, quando viene a mancare, anticipa l'insorgenza del tumore. HELIXPAN è indicato per persone che non vivono in particolari condizioni di inquinamento ambientale, hanno stili di vita sani e non hanno motivi per accedere a programmi di prevenzione mirati.
Con HELIXPAN si mappano le mutazioni somatiche con una sensibilità del 95% per tenere sotto controllo la stabilità genetica ed intervenire con un monitoraggio mirato, in caso di instabilità.

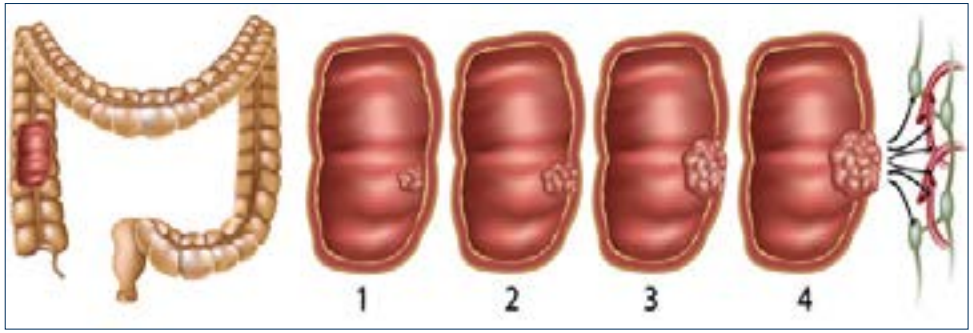


La stabilità genetica, valutata attraverso il monitoraggio della frequenza delle mutazioni, è il principale indicatore della fase prodromica dei tumori solidi. L'eventuale instabilità genetica rilevata da HELIXPAN viene successivamente approfondita con il test SCED (Solid Cancer Early Detection) che svolge un'accuratissima analisi dei geni e delle mutazioni che determinano l'instabilità rilevata.

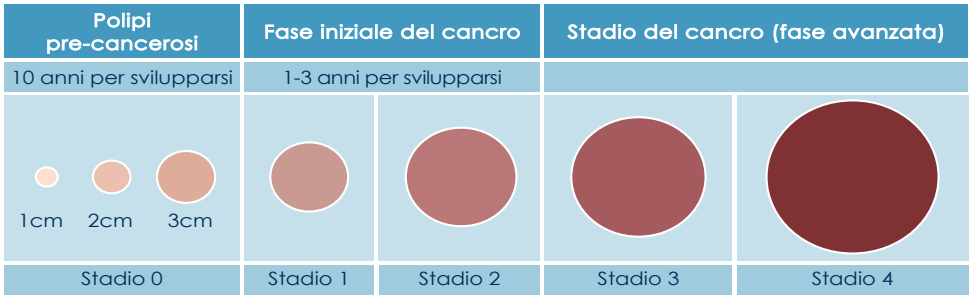
HELIXCOLON

INTESTINO

HELIXCOLON è un programma di prevenzione che prevede l'analisi periodica, con una sensibilità del 99.9%, di geni e mutazioni coinvolti nello sviluppo del tumore al colon. Consente il monitoraggio delle frequenze di mutazione e, quindi, la valutazione della stabilità genetica, quale principale indicatore della fase prodromica della malattia.
Avere il controllo della stabilità genetica significa poter evidenzare il tumore in fase prodromica, quando cioè l'individuo è sano e il tumore non è ancora formato.
Significa poter agire con anni di anticipo rispetto alla diagnosi precoce.



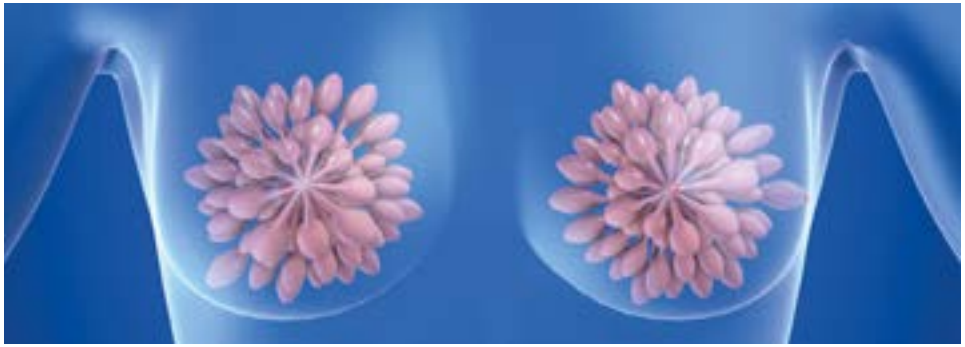
Nei Paesi occidentali il cancro del colon è il secondo tumore maligno per incidenza e mortalità, rappresentando il 13% di tutti i tumori diagnosticati dopo quello della mammella nella donna e il terzo dopo quello del polmone e della prostata nell'uomo. La non invasività (bastano 20 cc di sangue) di HELIXCOLON facilita l'accesso e l'assiduità alla prevenzione, ben più difficile da ottenere attraverso la sola colonscopia.



HELIXGYN

SENO E OVAIO

HELIXGYN, con la sensibilità del 99.9%, valuta le condizioni di sicurezza in cui si svolge la terapia ormonale controllando le frequenze di mutazioni, con particolare attenzione verso quelle più sensibili alla stimolazione. Prima di iniziare qualsiasi terapia ormonale, sarebbe opportuno avviare il programma HELIXGYN finalizzato al monitoraggio, con ripetizione annuale, del profilo mutazionale.



CONTRACCEZIONE - TOS - FIVET

Alcuni tessuti sensibili come quelli di seno, utero, collo dell'utero e ovaie, potrebbero essere soggetti a formazioni tumorali in seguito a stimolazioni ormonali protratte nel tempo. HELIXGYN risolve i dubbi concernenti la sicurezza dei trattamenti ormonali monitorando le mutazioni che sono indicatori di instabilità genetica e quindi di rischio.

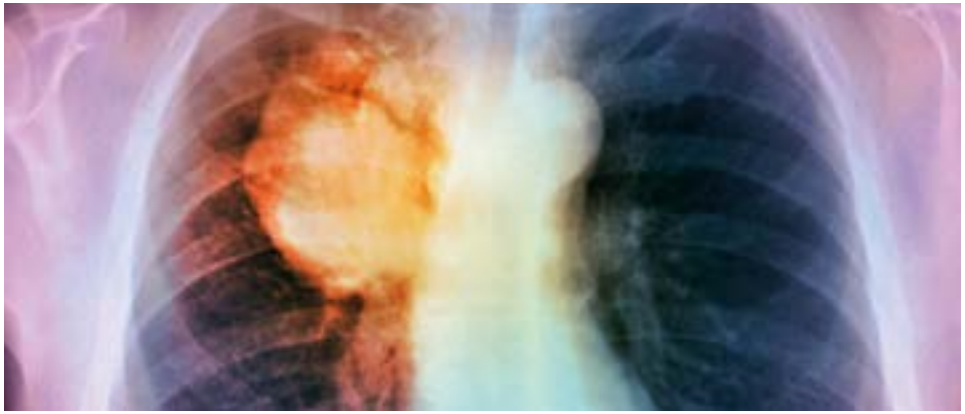
HELIXMOKER

POLMONE

HELIXMOKER è un programma di prevenzione del cancro specificatamente ideato per i fumatori e per le persone fortemente esposte all'inquinamento atmosferico, in quanto basa la prevenzione sul monitoraggio della stabilità dei geni direttamente coinvolti nell'insorgenza del cancro dell'apparato respiratorio.
Quando l'organismo non è più in grado di riparare i danni al DNA causati dalla prolungata esposizione al fumo o all'inquinamento si verifica un progressivo accumulo di mutazioni che è indicatore dell'instabilità genetica, prodromica all'insorgenza del tumore.

I FATTORI DI RISCHIO

Il fumo di sigaretta è il più importante fattore di rischio nel tumore al polmone perché è responsabile della malattia nell' 80-90% dei casi.
Non trascurabili fattori di rischio sono anche l'inquinamento atmosferico e una storia familiare di tumore. Visto l'impatto del fumo sulla salute, per i fumatori che non riescono ad interrompere il vizio, HELIXMOKER rappresenta un valido ed accurato strumento di prevenzione.



BIOSCIENCE GENOMICS

UNI EN ISO 9001:2015

IQNet · qualityaustria Succeed with Quality · CSI CERT

Numero Verde
800 690 914

www.bioinst.com - info@bioinst.com

SAN MARINO
Strada Rovereta, 42
47891 Falciano RSM

MILANO
Ospedale San Raffaele DIBIT 1
Via Olgettina, 58 Milano - Italy

ROMA
Università di Roma Tor Vergata
Via Ricerca Scientifica, 1 Roma - Italy

DUBAI
Al Razi Building n.64 - Block B
Dubai HealthCare City - UAE

HONG KONG
Unit 802 8/F, No 15 - Science Park
West Avenue - Hong Kong