

CLINICAL

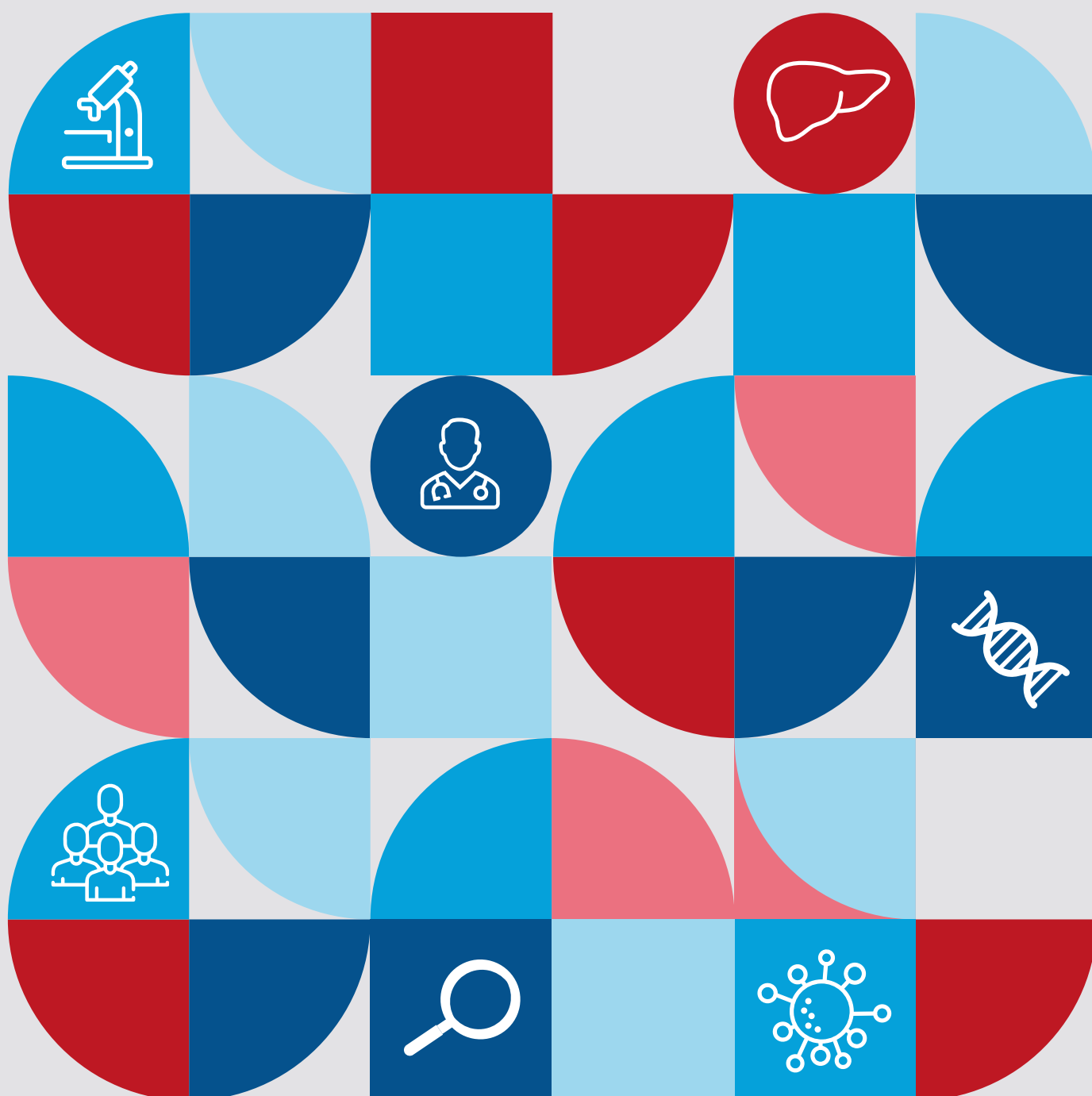
Interview

n.1 / 2025

BRIDGE THE GAP in cholangiocarcinoma

Matteo Fassan¹, Umberto Malapelle², Giancarlo Prunerì³, Sabrina Buoro⁴, Bruno Daniele⁵, Sara Lonardi⁶

¹ Università degli Studi di Padova; UOC di Anatomia Patologica, Ospedale Ca' Foncello, ULSS2 Marca Trevigiana. ²Dipartimento di Sanità Pubblica, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli. ³Università degli Studi di Milano; Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano. ⁴Centro Regionale di Coordinamento della Medicina di Laboratorio, UO Polo Ospedaliero, Direzione Generale Welfare, Milano. ⁵UOC di Oncologia, Ospedale del Mare, Napoli. ⁶UOC Oncologia 1 e Dipartimento di Oncologia Medica, Istituto Oncologico Veneto (IOV), IRCCS, Padova.



Contenuti

03

RAZIONALE SCIENTIFICO

04

PECULIARITÀ DEL TEST PER FGFR NEL COLANGIOCARCINOMA

07

STATO DELL'ARTE E CONFRONTO TRA REGIONI: L'ESPERIENZA DELLA LOMBARDIA

08

ANALISI DELLA PERFORMANCE DEI TEST PER FGFR: UN COMMENTO SUI DATI REGIONALI

10

TAVOLA ROTONDA: STATO DELL'ARTE E CONFRONTO TRA REGIONI

11

FASE PRE-ANALITICA E ANALITICA: FOCUS SU PROBLEMATICHE CORRENTI

12

L'IMPATTO CLINICO: LA PROSPETTIVA DELL'ONCOLOGO

16

SURVEY

22

BIBLIOGRAFIA

CLINICAL INTERVIEW®
N. 1 / 2025
Numero registrazione
Tribunale Ordinario di Milano:
8267/2023
Registro degli Operatori
di Comunicazione:
numero 39798
Codice fiscale: 12389510152
ISSN 2704-6397

EDITORE

Medica
EDITORIA E DIFFUSIONE SCIENTIFICA

Medica - Editoria e Diffusione
Scientifica Srl

Corso Buenos Aires, 43
20124 Milano
T +39 02 76281337
M info@medicacom.it
W www.medicacom.it

Direttore responsabile
Carlo Massimo Cristoforetti

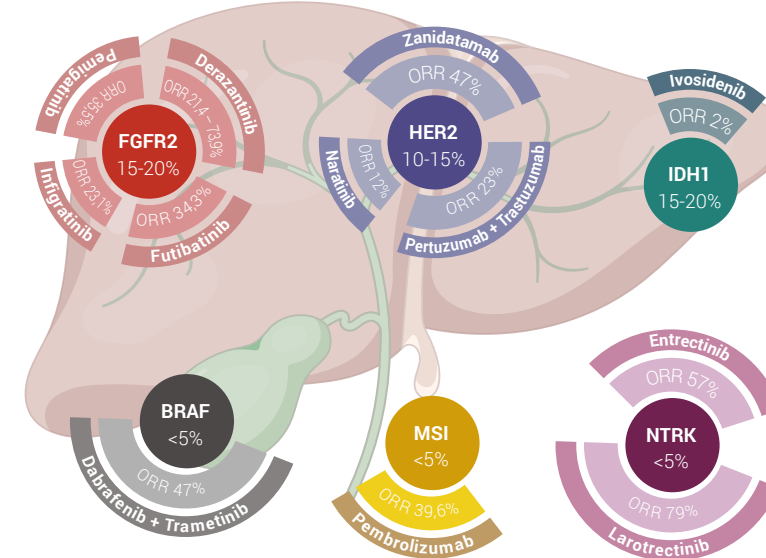
RAZIONALE SCIENTIFICO

Negli ultimi anni, l'oncologia di precisione ha determinato un cambiamento significativo nella patologia molecolare, rivoluzionando la gestione clinica e la presa in carico dei pazienti oncologici. In particolare, il colangiocarcinoma, neoplasia rara e complessa, ha visto emergere nuove opportunità diagnostiche e terapeutiche grazie all'implementazione della diagnostica molecolare avanzata e alla crescente disponibilità di farmaci a bersaglio molecolare.

Le recenti disposizioni ministeriali e le delibere regionali hanno reso disponibili fondi dedicati al rimborso dei test molecolari, aprendo la strada alla creazione di database prospettici. Questi strumenti non solo consentono di monitorare l'appropriatezza nell'impiego delle risorse e la reale copertura dei bisogni clinici, ma permettono anche di valutare parametri tecnico-analitici chiave, come sensibilità e specificità delle piattaforme adottate. Parallelamente, la definizione di modelli organizzativi e regolatori condivisi diventa essenziale per garantire la sostenibilità del sistema e un accesso equo alle terapie.

Un elemento di particolare rilevanza riguarda l'accesso ai farmaci a bersaglio molecolare: da un lato l'impiego di trattamenti già approvati e disponibili sul territorio nazionale, dall'altro la necessità di facilitare l'utilizzo di farmaci off-label e l'arruolamento in trial clinici. Quest'ultimo aspetto è cruciale in un tumore raro come il colangiocarcinoma, dove la ricerca sperimentale costituisce una componente imprescindibile dell'offerta terapeutica.

Nonostante i progressi ottenuti grazie anche a iniziative come il *Cancer Genome Project*, permangono criticità rilevanti: l'assenza di una valutazione univoca e standardizzata dei test diagnostici – in particolare per l'identificazione delle alterazioni di FGFR – ne limita l'applicazione routinaria nella pratica clinica. Diventa quindi fondamentale un'analisi critica delle performance dei diversi metodi diagnostici, sia nella letteratura che nella quotidianità clinica, per armonizzare i percorsi e ottimizzare la presa in carico dei pazienti.



Summary of relevant pathways responsible for development and progression of CCA. Red bubbles indicate molecular alterations of the gene which lead to hyperactivation or deregulation of signalling pathways, ultimately responsible for tumour growth, apoptosis evasion, proliferation, migration and invasion of cancer cells.

In questo contesto, l'attenzione in Italia è rivolta all'affrontare i nodi principali che attraversano la gestione del colangiocarcinoma – dalla validazione tecnico-analitica dei test alla governance delle risorse, fino alla sostenibilità e all'equità di accesso alle terapie – con l'obiettivo di delineare modelli condivisi e realmente efficaci di integrazione clinico-organizzativa.

Immagine 1: Pircher et al, TARGETED THERAPY IN CHOLANGIOCARCINOMA: CURRENT LANDSCAPE AND FUTURE HORIZON, Annals of Research in Oncology Vol. 2(4), 213-31, 2022

PECULIARITÀ DEL TEST PER FGFR NEL COLANGIOCARCINOMA

Il colangiocarcinoma (CCA) rappresenta una delle neoplasie epatobiliari più complesse, caratterizzata da una marcata eterogeneità morfologica, istologica e molecolare.

La classificazione principale distingue tra:

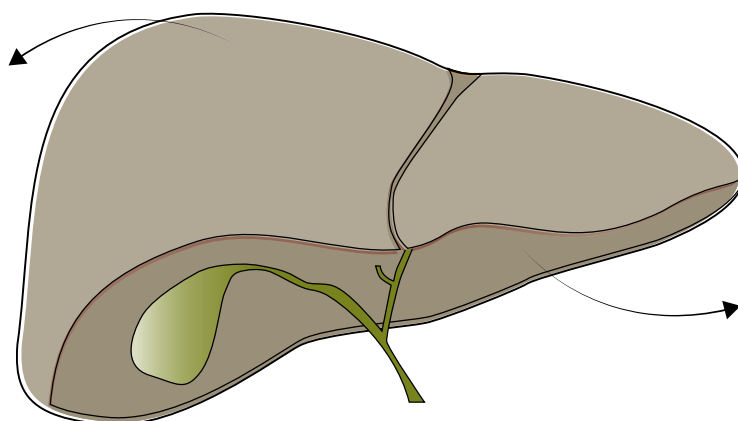
- **CCA Intraepatico (iCCA)**, ulteriormente suddivisibile in forme a piccoli e grandi dotti, con le prime frequentemente associate a fusioni di *FGFR2* e mutazioni di *IDH1/2*, lesioni oggi potenzialmente targettabili.
- **CCA Extraepatico (eCCA)**, con un profilo molecolare simile all'adenocarcinoma pancreatico, caratterizzato da mutazioni di *KRAS*, ad oggi difficilmente aggredibili con terapie mirate.

Questa diversità molecolare impone una sempre maggiore integrazione tra istopatologia e diagnostica molecolare, al fine di garantire una stratificazione terapeutica adeguata.

Le raccomandazioni ESMO 2025 propongono un percorso diagnostico ideale basato su profilazione genomica estesa (Comprehensive Genomic Profiling, CGP), mediante tecnologie di Next Generation Sequencing (NGS) su DNA e RNA, fondamentali per l'identificazione di mutazioni puntiformi, fusioni geniche e alterazioni complesse. La profilazione molecolare è raccomandata all'inizio del trattamento sistemico di prima linea nei pazienti con malattia localmente avanzata, avanzata o metastatica, in particolare in quelli ad alto rischio di progressione o recidiva.

EXTRAHEPATIC CCA

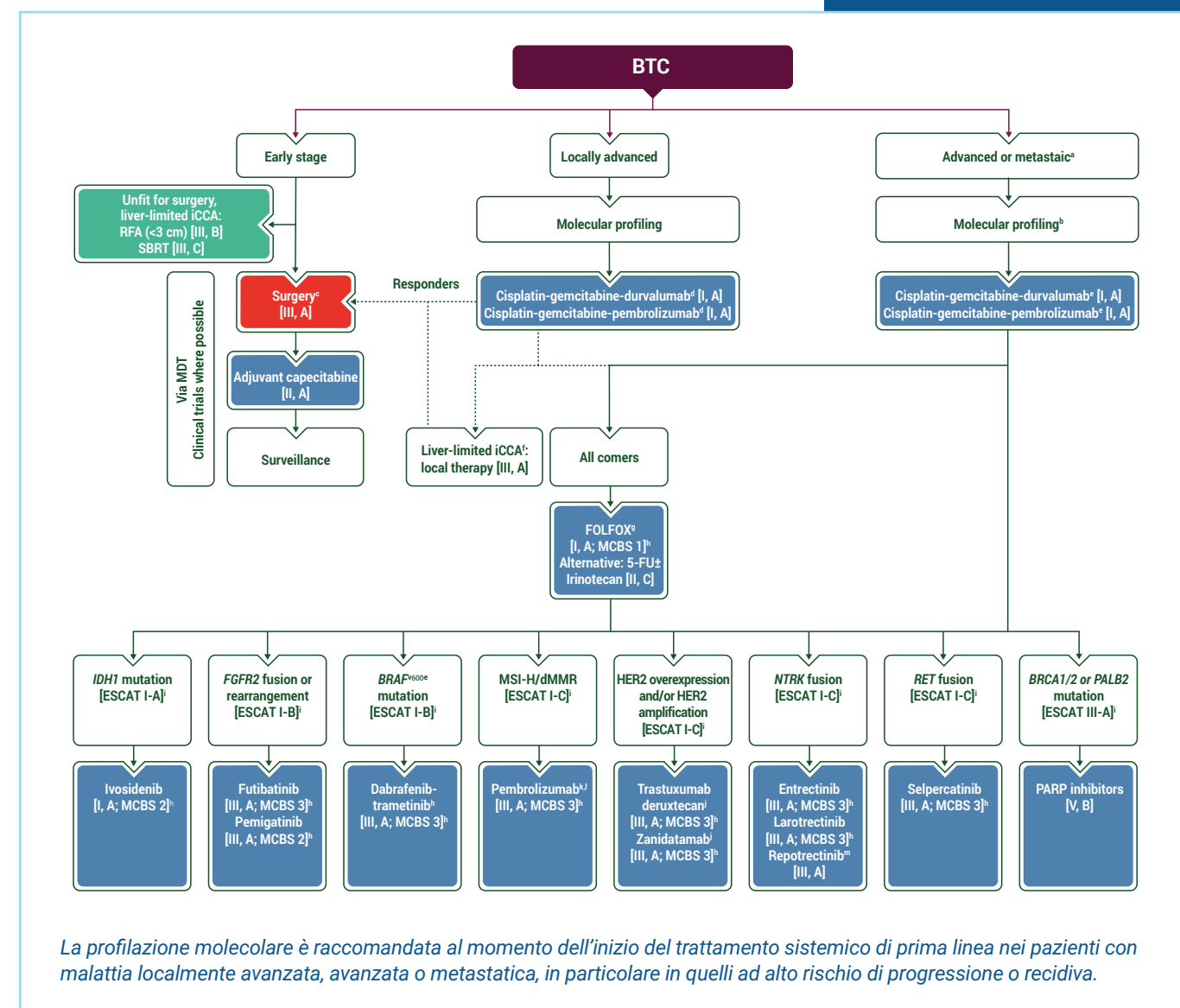
TP53 mutation (30%-60%)
KRAS mutation (8%-45%)
SMAD4 mutations (10%-22%)
CDKN2A/B loss (9%-28%)
ERBB2/3 amplification (5%-17%)
ARID1A mutations (12%-20%)
PIK3CA mutation (5%-7%)
NTRK fusions (4%)
MET mutation (3%-4%)
IDH1/2 mutation (0%-7%)
BRAF mutations (3%-7%)
BAP1 mutations (1%)
PTEN mutation (1%)
FGFR1-3 fusion, mutation or amplification (1%)
RNF43 mutation (1%)
MET amplification (1%)



INTRAHEPATIC CCA

TP53 mutation (20%-40%)
FGFR1-3 fusion, mutation or amplification (10%-45%)
IDH1/2 mutation (10%-30%)
ARID1A mutations (7%-36%)
KRAS mutation (7%-24%)
CDKN2A/B loss (6%-27%)
BAP1 mutations (13%-21%)
SMAD4 mutations (4%-17%)
RNF43 mutation (9%)
ERBB2/3 amplification (4%-8%)
PIK3CA mutation (3%-9%)
MET amplification (2%-7%)
PTEN mutation (1%-11%)
NTRK fusions (4%)
BRAF mutations (3%-7%)

Immagine 2: Role of molecular genetics in the clinical management of cholangiocarcinoma, Normanno N, et al. -ESMO Open 2022. Common genetic alterations in intrahepatic and extrahepatic cholangiocarcinoma (CCA). Genetic alterations in red can be targeted by available therapies.



Tuttavia, l'implementazione clinica di questo approccio è ostacolata da diversi fattori:

- Limitato materiale biotipico, specie nei CCA extraepatici, dove spesso si dispone solo di brushing citologici.
- Degradazione degli acidi nucleici in campioni FFPE.
- Fallimenti analitici nei test RNA-based, spesso dovuti alla scarsa qualità del materiale preanalitico.
- Sebbene *BICC1* rappresenti il partner in circa il 30% delle fusioni di *FGFR2* rilevate nell'iCCA, ad oggi sono stati descritti oltre 150 partner, molti dei quali riscontrati solo in pochi casi.

Per tale motivo, la selezione della piattaforma diagnostica più appropriata (amplicon-based vs hybrid-capture) e l'integrazione di tecniche ortogonali, come la

FISH, restano elementi centrali nel processo diagnostico. La FISH può essere eseguita con due approcci principali: nel *break-apart* la perdita del segnale combinato indica una rottura genica, mentre nel metodo a doppia sonda di fusione la sovrapposizione dei segnali separati rivela la presenza di una fusione genica. Quando vi è scarsa quantità e qualità di materiale neoplastico, l'impiego della biopsia liquida rappresenta un'enorme potenzialità. Purtroppo, però, anche importanti limitazioni: l'analisi su plasma è utile per la ricerca di mutazioni su DNA, ma ha più bassa sensibilità per fusioni geniche (es. *FGFR2*), quando si usano pannelli non ottimizzati; l'analisi su bile, pur se potenzialmente promettente grazie all'elevata concentrazione di DNA tumorale, risulta inadatta all'analisi dell'RNA per l'elevata degradazione.

Tabella 1: ESMO Clinical Practice Guideline interim update on the management of biliary tract cancer

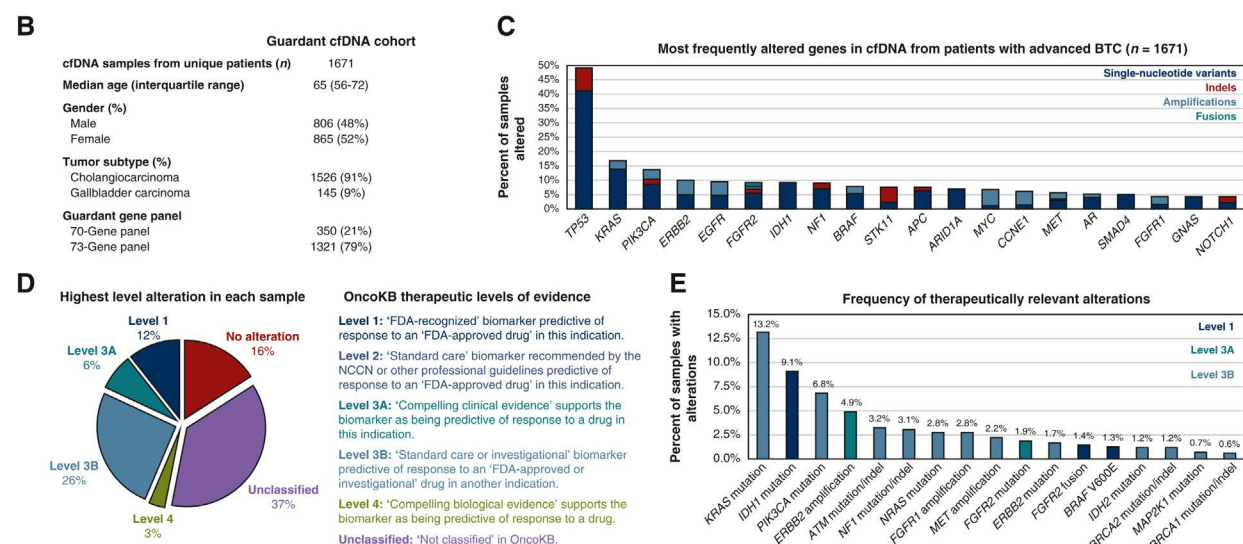
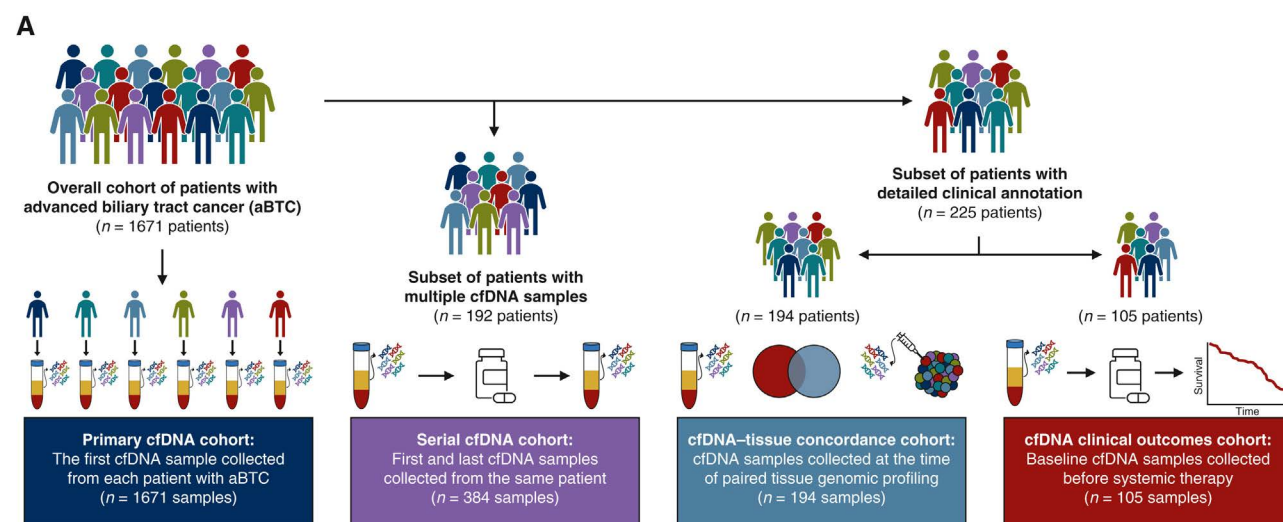


Tabella 2: Overview of study cohorts and clinically actionable alterations detected in cell-free DNA (cfDNA) in patients with advanced biliary tract cancer (BTC) (n=1671). (A) Overview of the analytical cohorts. (B) Summary characteristics of the overall cohort of patients with advanced BTC. (C) Frequency of alterations in the 20 most frequently altered genes in the primary cfDNA cohort. (D) Frequency of the highest OncoKB level alteration in each cfDNA sample. (E) Frequency of alterations for level 1-3B alterations with prevalence >0.5%. ECC, extrahepatic cholangiocarcinoma; ICC, intrahepatic cholangiocarcinoma. BerchuckJE, et al. -Ann Oncol2022- The clinical landscape of cell-free DNA alterations in 1671 patients with advanced biliary tract cancer

Da uno studio di Berchuck et al. del 2022 si è evinto che, dall'analisi di 2068 campioni di cfDNA, provenienti da 1671 pazienti con colangiocarcinoma avanzato, mediante NGS (Guardant360), le alterazioni genetiche sono state identificate nell'84% dei pazienti. Di queste il 44% corrispondevano ad alterazioni targettabili nei geni *FGFR2*, *IDH1*, *BRAF* p.

V600E. La concordanza cfDNA-tessuto è risultata elevata per *IDH1* e *BRAF*, ma limitata per le fusioni di *FGFR2*. L'analisi ha inoltre evidenziato nuovi meccanismi di resistenza, come la mutazione *FGFR2* p.C492F, e ha mostrato che un'elevata VAF (Variant Allele Frequency) pre-trattamento si associa a prognosi sfavorevole.

STATO DELL'ARTE E CONFRONTO TRA REGIONI: L'ESPERIENZA DELLA LOMBARDIA

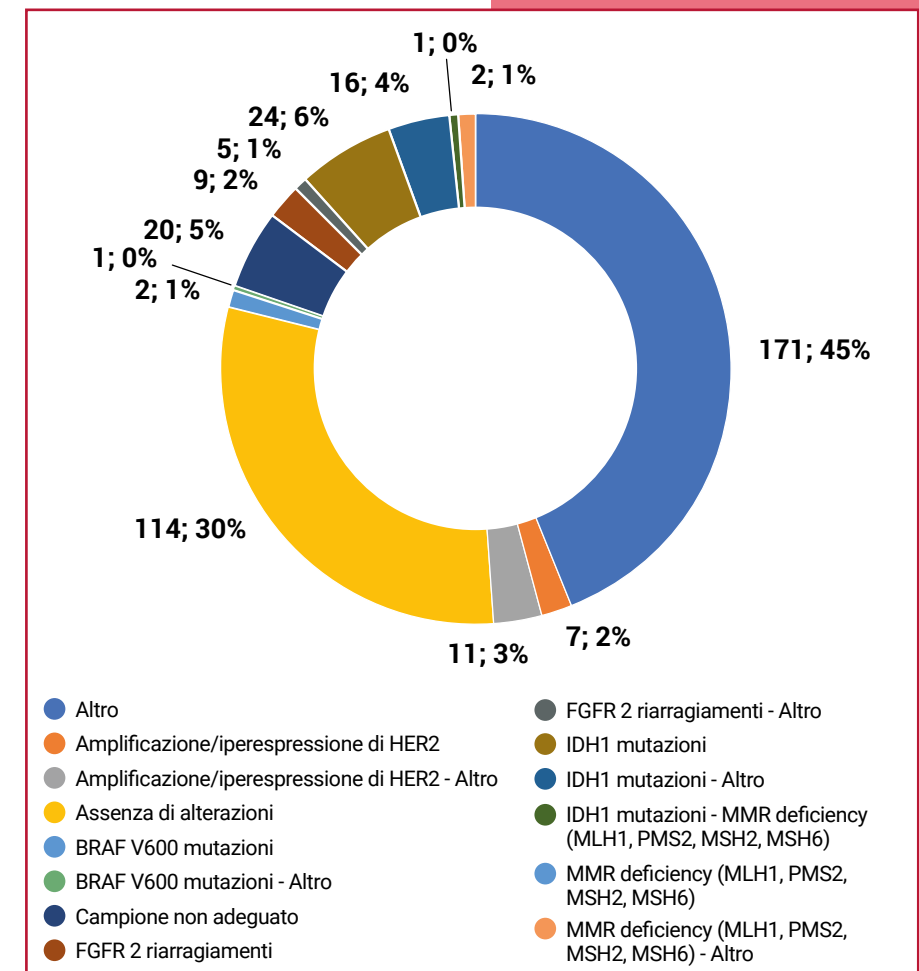
A seguito del Decreto Ministeriale del 2023, Regione Lombardia ha adottato una delibera che ha segnato un passaggio cruciale nell'organizzazione della diagnostica molecolare per il colangiocarcinoma. In particolare, sono stati identificati tredici centri autorizzati all'esecuzione dei test NGS, definiti tempi massimi di risposta pari a tre settimane e affidato al Centro di Riferimento Regionale per la Qualità dei Servizi di Medicina di Laboratorio il compito di monitoraggio e raccolta dati attraverso una piattaforma dedicata. L'analisi dell'attività svolta nel periodo compreso tra il 2024 e il primo semestre 2025 ha evidenziato la valutazione di 384 pazienti, di cui 227 nel 2024 e 157 nel primo semestre 2025, confermando un trend in crescita. Il tessuto primitivo ha rappresentato il materiale diagnostico più utilizzato (65,4%), mentre la biopsia liquida è stata impiegata solo in una quota marginale dei casi (1,3%). Nel 92% dei pazienti la profilazione molecolare è stata avviata in prima linea terapeutica, con un tempo medio di refertazione di 13 giorni lavorativi, ben al di sotto dello standard massimo stabilito.

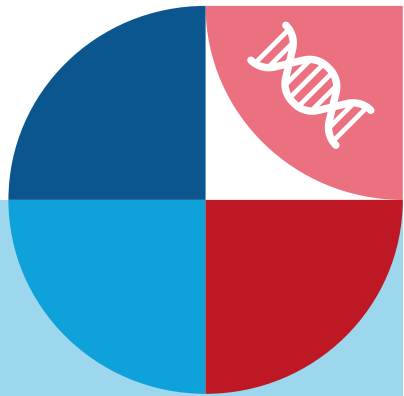
Per l'analisi molecolare sono stati impiegati nel 50% dei casi pannelli su DNA da 45 geni, mentre la profilazione estesa a più di 500 geni è stata adottata nel 17% dei casi; i pannelli RNA comprendevano principalmente l'analisi di 11-20 geni (47,4%). I risultati hanno mostrato che nel 30% dei pazienti non sono state rilevate alterazioni e nel 5% dei casi i test sono risultati non interpretabili (per inadeguatezza del campione o fallimento tecnico). Una quota significativa di alterazioni (45%) non era inclusa nel pannello ministeriale, mentre tra quelle target previste dal decreto, le fusioni di *FGFR2* sono state identificate nel 3,2% dei casi, inoltre le mutazioni di *IDH1* si sono confermate come le più frequenti. Ovviamente, l'adozione di pannelli più ampi ha permesso di raggiungere una sensibilità diagnostica superiore rispetto agli small panel (84% vs 70%). Complessivamente, i dati raccolti dimostrano come in poco più di un decennio siano stati compiuti avanzamenti significativi nella caratterizzazione molecolare del colangiocarcinoma, rendendo possibile un accesso concreto a terapie personalizzate.

Da questa esperienza emergono alcuni messaggi chiave:

- la qualità del campione e la scelta della tecnologia diagnostica sono determinanti per il successo della profilazione genomica;
- l'integrazione tra laboratori di patologia molecolare, centri prescrittori e governance regionale rappresenta un elemento essenziale per garantire appropriatezza, equità e sostenibilità del percorso;
- il modello della regione lombardia costituisce un esempio virtuoso di implementazione organizzativa e tecnologica, con impatti positivi sulla tempestività e qualità dell'assistenza.
- risulta fondamentale promuovere ulteriori momenti di confronto multidisciplinare, così da favorire la diffusione delle best practice e l'ottimizzazione della pratica clinica reale.

Immagine 3: The experience of molecular testing in clinical practice in the Lombardy region: analysis of the activities carried out between 2024 and the first half of 2025 on 384 patients.





ANALISI DELLA PERFORMANCE DEI TEST PER FGFR: UN COMMENTO SUI DATI REGIONALI

Le fusioni a carico del gene *FGFR2* rappresentano un target terapeutico emergente nel colangiocarcinoma intraepatico. Studi registrativi e trial clinici hanno riportato una prevalenza di tali alterazioni fino al 7-9%, sottolineando l'importanza di una rilevazione accurata per consentire ai pazienti l'accesso a terapie mirate. Tuttavia, nella pratica clinica italiana si riscontrano tassi di identificazione delle fusioni di *FGFR2* sensibilmente inferiori, evidenziando possibili criticità nella performance diagnostica dei test attualmente impiegati.

Al fine di comprendere le cause di questa discrepanza tra i dati degli studi clinici e quelli della pratica diagnostica quotidiana, e di proporre strategie volte a migliorare l'efficienza e l'equità del percorso diagnostico, è stata condotta un'analisi approfondita delle performance dei test NGS utilizzati per la rilevazione delle fusioni *FGFR2*. Tale analisi ha avuto origine dall'esperienza regionale lombarda, successivamente estesa a un confronto multicentrico su scala nazionale, coinvolgendo diversi laboratori distribuiti sul territorio italiano.

Dall'analisi dei dati della regione Lombardia, è stata rilevata una frequenza di fusioni a carico del gene *FGFR2* intorno al 4%, un valore in linea con quello registrato in Campania e in altre regioni italiane. Tuttavia, questi numeri risultano significativamente inferiori rispetto al 7% riscontrato negli studi registrativi e, ancor di più, rispetto al 9% riportato in alcuni trial clinici internazionali.

Allo scopo di armonizzare tali risultati sono nati due progetti:

- Uno studio multicentrico condotto in collaborazione con otto laboratori italiani,
- Uno studio tecnico basato sull'utilizzo di controlli artificiali, progettati per verificare la capacità dei diversi pannelli NGS di rilevare fusioni di *FGFR2*.

Un risultato di particolare rilievo emerso da tali analisi riguarda la correlazione significativa tra le performance diagnostiche e la tipologia di pannello utilizzato per la rilevazione delle fusioni *FGFR2*. Come ci aspettavamo, i pannelli di dimensioni maggiori, classificabili come Comprehensive Genomic Profiling (CGP), hanno evidenziato un'elevata capacità di rilevazione, identificando in modo completo tutte le fusioni presenti nei controlli artificiali. Al contrario, i pannelli di dimensioni inferiori, tipicamente impiegati in centri con volumi diagnostici medi o ridotti, hanno mostrato una sensibilità diagnostica inferiore, con una percentuale non trascurabile di fusioni non rilevate. Tale osservazione ha posto il quesito se la ridotta capacità di detection fosse attribuibile alla rarità dei partner genici inclusi nei controlli o a limiti intrinseci nella progettazione tecnica dei pannelli più compatti.

Per approfondire questo aspetto, è stato condotto un secondo ciclo di test utilizzando fusioni con partner genici più comuni di *FGFR2*, quali *BICC1* e *TACC3*. Sebbene i dati siano ancora parziali e

disponibili per circa il 50% dei laboratori coinvolti, i risultati preliminari indicano che i pannelli di dimensioni ridotte, qualora correttamente progettati, sono in grado di rilevare efficacemente queste fusioni in presenza di partner canonici.

Tale evidenza supporta la conclusione che la qualità diagnostica non dipende unicamente dalla dimensione del pannello, ma risulta strettamente connessa all'architettura tecnica, in particolare alla copertura genica e al design delle sonde di ibridazione. In effetti, solo uno dei

tre pannelli di piccola taglia valutati ha dimostrato performance comparabili a quelle dei pannelli CGP, sottolineando l'esistenza di differenze qualitative sostanziali tra i dispositivi attualmente disponibili.

Questo risultato ha implicazioni pratiche rilevanti: In Italia, i pannelli CGP sono attualmente presenti solo nel 20-25% dei centri di riferimento ad alto volume. Nella maggior parte dei casi, le analisi vengono eseguite in laboratori di medie dimensioni, che adottano pannelli più

compatti. Se a questi limiti tecnici si aggiunge il dato che uno dei dispositivi meno performanti in termini di detection è oggi ampiamente diffuso sul territorio nazionale, appare evidente il rischio concreto di sottodiagnosi. Una quota significativa di pazienti potenzialmente eleggibili a trattamenti mirati rischia infatti di non essere identificata.

Sulla base di queste osservazioni, le tre aree di riflessione cruciali per migliorare l'efficacia complessiva del percorso diagnostico sono:

L'AMBITO PREANALITICO	L'AMBITO ANALITICO	L'AMBITO POST-ANALITICO
Una delle principali criticità è rappresentata dalla scarsità di materiale biotico, spesso consumato quasi interamente per le analisi immunostochimiche durante la fase diagnostica iniziale. La mancanza di un approccio reflex impedisce l'esecuzione tempestiva del test molecolare, determinando ritardi dovuti al recupero del materiale d'archivio, che può essere mal conservato o insufficiente. Questo si traduce in un incremento dei fallimenti analitici.	La scelta del pannello NGS incide in modo determinante sulla capacità di rilevare le fusioni <i>FGFR2</i> . Oltre al numero di geni inclusi, è fondamentale considerare il numero e il tipo di partner genici che il test è in grado di identificare. La sensibilità analitica dipende quindi non solo dall'ampiezza del pannello, ma dalla sua capacità tecnica di esplorare l'intero spettro delle possibili fusioni.	Spesso viene trascurato ma ha un impatto significativo sull'efficacia della comunicazione tra laboratorio e clinico. La refertazione è frequentemente eccessivamente tecnica, poco leggibile o scarsamente interpretabile da parte degli oncologi. In alcuni casi, l'utilizzo di nomenclature molecolari complesse o di scale di evidenza, come ESCAT, applicate automaticamente da software terzi senza contestualizzazione clinica nazionale, può creare confusione nel gruppo multidisciplinare e generare false aspettative nei pazienti.

Per rispondere a queste criticità, all'interno del gruppo di Patologia Molecolare e Medicina di Precisione della SIAPEC-IAP (PMMP), è stato sviluppato un progetto congiunto che ha portato alla definizione di tre pubblicazioni sulle raccomandazioni, rispettivamente in ambito pre-analitico, analitico e post-analitico, con il coinvolgimento anche di oncologi,

rappresentanti del gruppo AIO (Associazione Italiana di Oncologia Medica). L'obiettivo è quello di rendere il referto molecolare uno strumento realmente utile per l'oncologo, riducendo le ambiguità e migliorando l'integrazione nel percorso terapeutico. A supporto di queste raccomandazioni, sono stati creati anche dei prototipi di refertazione armo-

nizzata: nella prima pagina viene fornito un riassunto chiaro, con la presenza o meno della fusione e il relativo significato clinico, mentre i dettagli tecnici sono riportati in seconda pagina. Una formattazione più leggibile, con evidenziazione in grassetto delle informazioni rilevanti, favorisce la fruibilità anche nei contesti clinici ad alta pressione.



TAVOLA ROTONDA: STATO DELL'ARTE E CONFRONTO TRA REGIONI

Alla luce di queste evidenze, si ritiene necessario un cambiamento strutturale nel modello diagnostico attualmente in uso. Occorre superare la logica della singola prestazione a favore di un approccio di percorso, che preveda l'avvio reflex dei test molecolari contestualmente alla diagnosi istologica, almeno nei casi in cui esistano indicazioni consolidate. In questo contesto, è importante segnalare che è attualmente attivo un portale presso il Ministero della Salute attraverso cui è possibile proporre aggiornamenti del nomenclatore LEA (Livelli Essenziali di Assistenza), strumento che le società scientifiche dovrebbero utilizzare per sostenere l'evoluzione della medicina di precisione. Nel frattempo, la centralizzazione dei test in laboratori qualificati, l'armonizzazione dei referti e la formazione congiunta tra patologi e oncologi rimangono le tre strategie chiave per garantire che le innovazioni terapeutiche siano realmente accessibili a tutti i pazienti, anche in una patologia complessa e a bassa incidenza come il colangiocarcinoma intraepatico. La qualità diagnostica in oncologia è strettamente correlata al livello di specializzazione dei centri coinvolti. È documentato come nei centri non di riferimento la prevalenza di diagnosi non ottimali risulti significativamente più elevata. La centralizzazione delle competenze e delle procedure rappresenta dunque non solo una garanzia di qualità, ma anche uno strumento di efficienza clinica, gestionale e medico-legale.

Il percorso diagnostico attuale, in molte realtà, segue un iter frammentato: il paziente accede spesso a un primo referto anatomopatologico in centri periferici, sulla base di prossimità geografica o percorsi casuali di invio. Frequentemente si tratta di casi complessi che generano zone grigie interpretative. L'acquisizione di un secondo parere e, successivamente, l'approdo a un centro di riferimento consente una rivalutazione più solida dell'istologia, seguita – ove possibile – dall'analisi molecolare. Questo modello, purtroppo, genera ritardi diagnostici e terapeutici che possono incidere significativamente sulla prognosi. Un esempio emblematico riguarda il colangiocarcinoma, che in Italia presenta circa 5.400 nuovi casi annui. Analisi regio-

nali confermano che singoli centri gestiscono numeri estremamente contenuti: ad esempio, 92 richieste di test in un anno presso un grande polo universitario. Ciò comporta difficoltà logistiche nell'avvio di pannelli molecolari che richiedono un numero minimo di campioni (batching), con il rischio concreto di dover attendere settimane o mesi per l'esecuzione, in una patologia la cui sopravvivenza mediana non supera i quattro mesi. Ne consegue che senza una razionalizzazione delle risorse e un'integrazione delle attività diagnostiche su scala regionale o sovraregionale, il sistema è inevitabilmente inefficiente e non eticamente sostenibile.

Il concetto di rete Hub & Spoke deve essere inteso non come una gerarchia rigida, ma come una collaborazione dinamica in cui ogni centro è potenzialmente "Spoke" di un altro. In questo senso, la digital pathology e la conferma digitale dei referti tra specialisti di diverse istituzioni costituirebbero una risposta immediata a molte criticità: riduzione del turnaround time, migliore condivisione delle responsabilità medico-legali, ottimizzazione dei tessuti disponibili e incremento della qualità diagnostica. Tuttavia, permangono barriere normative, di privacy e gestionali che rallentano l'implementazione di tali soluzioni.

Un ulteriore nodo critico è rappresentato dalla logistica dei campioni: in assenza di un sistema organizzato a livello regionale, nel 75% dei casi il trasporto è affidato direttamente ai pazienti o ai caregiver, con frequenti compromissioni della qualità del materiale biologico. È evidente la necessità di un sistema centralizzato e tracciato che garantisca standard di conservazione e trasporto adeguati. Parallelamente, la connettività dei laboratori mediante piattaforme informatiche unificate e interoperabili è prerequisito imprescindibile per un modello di rete realmente funzionale.

Dal punto di vista tecnico, l'adozione di pannelli molecolari ampi (Comprehensive Genomic Profiling, CGP) sta fornendo dati real-world di grande rilevanza, spesso divergenti rispetto a trial clinici e progetti genomici nazionali. L'Italia, con il lavoro dei gruppi cooperativi, si colloca in

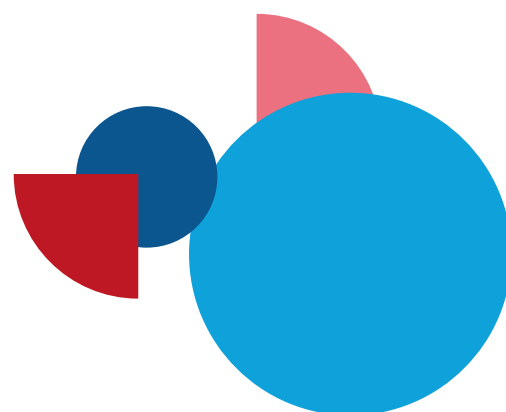
posizione di leadership scientifica, ma il pieno sfruttamento di questo potenziale richiede la creazione di database nazionali e regionali condivisi, che riflettano non solo le variabili biologiche, ma anche le condizioni logistiche e organizzative locali.

Infine, la trasformazione dei laboratori di anatomia patologica richiede una riflessione sull'automazione dei processi. L'introduzione di strumenti automatizzati nelle fasi preanalitiche e analitiche consente di ridurre il tempo "non a valore aggiunto" degli operatori, standardizzare i flussi e aumentare la tracciabilità degli errori. L'automazione, integrata con digital pathology, deve essere considerata una condizione necessaria per sostenere la centralizzazione senza sacrificare la qualità del lavoro specialistico.

La gestione del colangiocarcinoma e, più in generale, delle neoplasie rare e complesse, richiede un salto culturale oltre che organizzativo:

- centralizzazione diagnostica e molecolare su base regionale/nazionale;
- digital pathology con conferma e tracciabilità dei referti;
- logistica dei campioni garantita e standardizzata;
- connettività informatica tra laboratori;
- database nazionali e regionali di profilazione genomica;
- automazione delle fasi preanalitiche e analitiche.

Solo un approccio integrato e condiviso, che tenga insieme innovazione tecnologica e governance istituzionale, può garantire diagnosi tempestive, accurate e realmente orientate al paziente, superando le inefficienze generate dalla frammentazione attuale.



FASE PRE-ANALITICA E ANALITICA: FOCUS SU PROBLEMATICHE CORRENTI

La trasformazione in atto nella patologia molecolare impone un ripensamento radicale dei processi di anatomia patologica, che devono progressivamente integrarsi con soluzioni automatizzate e standardizzate.

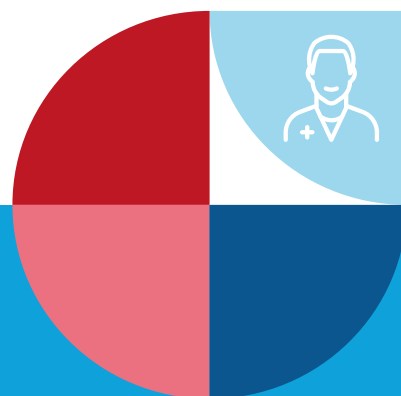
Un nodo cruciale è rappresentato dalla variabilità dei preparati citologici: thin layer, striscio diretto, cell block e altre modalità eterogenee riducono la riproducibilità e ostacolano l'integrazione in percorsi automatizzati. In un modello di rete, sia in logica di esternalizzazione che di internalizzazione dei test, l'armonizzazione dei protocolli di preparazione dei campioni è imprescindibile.

La digitalizzazione e l'automazione richiedono infatti input standardizzati: senza uniformità preanalitica, l'efficienza e l'affidabilità delle piattaforme bioinformatiche e robotiche risultano compromesse.

Un aspetto particolarmente rilevante riguarda l'evoluzione delle tecniche di Next Generation Sequencing (NGS). Oltre

ai pannelli di ampio spettro (*Comprehensive Genomic Profiling*), assumono importanza crescente i pannelli di dimensioni ridotte, basati su tecnologie come l'*Anchor Multiplex PCR (AMP)*. Questi consentono la rilevazione di fusioni geniche anche in assenza di partner noto, superando i limiti di pannelli convenzionali e rappresentando uno strumento efficace in scenari di campione limitato o di laboratorio con ridotti volumi di attività. Questa tecnologia, sviluppata inizialmente per i sarcomi come alternativa alla molteplicità di test FISH, ha trovato applicazione successiva in diversi contesti tumorali, tra cui il carcinoma polmonare e l'ovaio, ed è oggi estesa ai colangiocarcinomi. La capacità di identificare fusioni non previste nei reference panels la rende particolarmente utile in ambito diagnostico e di ricerca traslazionale. Tuttavia, permangono criticità legate alla conferma ortogonale dei risultati: fusioni "unbalanced" (ad esempio a carico di ALK nel polmone) possono non essere confermate da immunoistochimica, creando dissonanze interpretative con rilevanti ricadute cliniche.



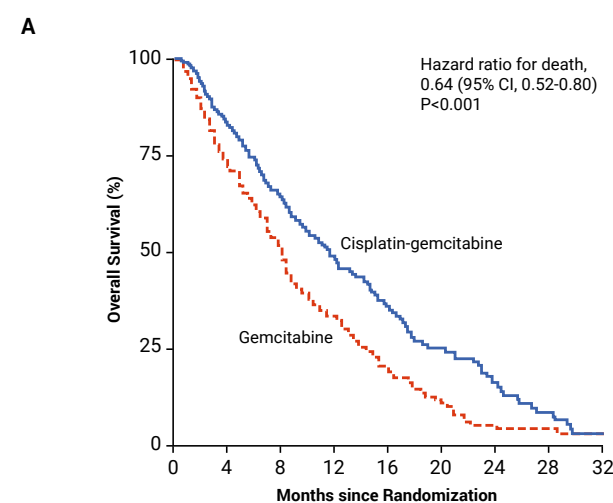


L'IMPATTO CLINICO: LA PROSPETTIVA DELL'ONCOLOGO

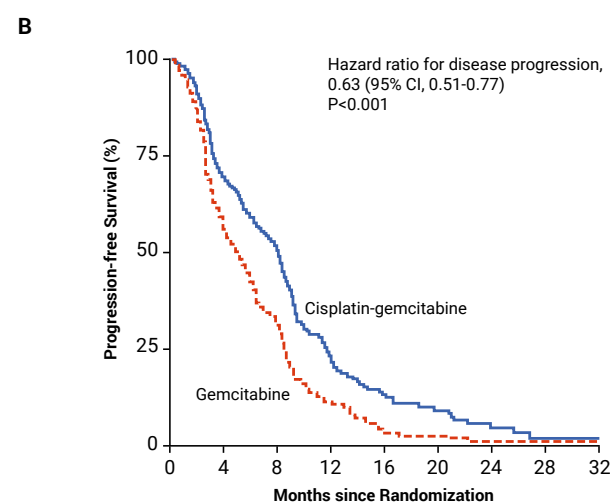
Nel paziente affetto da neoplasia delle vie biliari la multidisciplinarietà assume un ruolo cruciale, con il patologo in prima linea nell'inquadramento diagnostico e nella definizione delle ricadute terapeutiche.

Per anni, le opzioni terapeutiche sono state limitate alla chemioterapia con ci-

splatino e gemcitabina, con una sopravvivenza mediana inferiore a un anno, e in seconda linea al regime FOLFOX, capace di offrire un beneficio modesto rispetto alla sola terapia di supporto. Le difficoltà nello sviluppo di nuovi trattamenti derivano dall'eterogeneità biologica e clinica di questa patologia, nonché dal suo carattere relativamente raro.



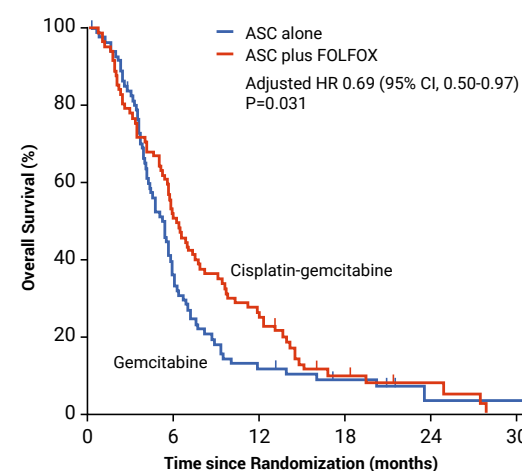
No. at Risk									
Gemcitabine	206	151	97	53	28	15	4	3	2
Cisplatin-gemcitabine	204	167	120	76	51	28	17	8	2



No. at Risk									
Gemcitabine	206	115	56	18	4	3	1	1	1
Cisplatin-gemcitabine	204	140	95	36	18	10	4	1	1

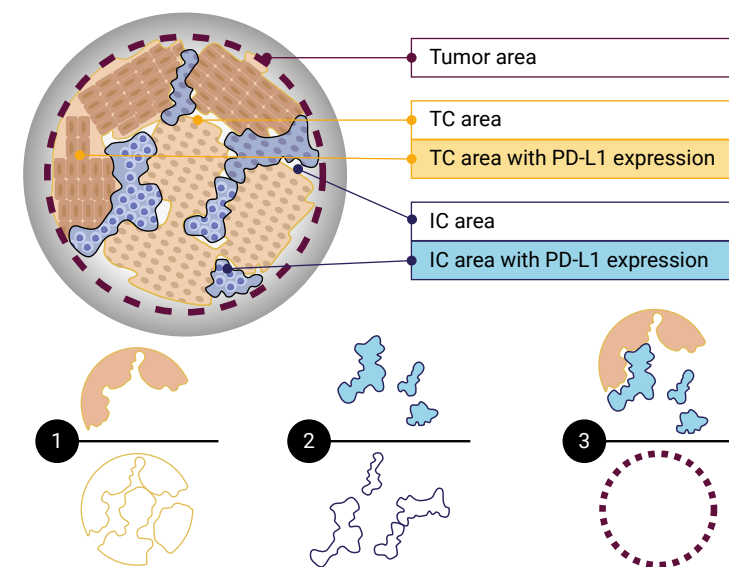
Immagine 4-5: Cisplatin plus Gemcitabine versus Gemcitabine for Biliary Tract Cancer
First-line therapy: CisGem, ABC-02 trial. Median OS 11.7 vs 8.1 months, HR, 0.64; 95% CI 0.52 to 0.80; P<0.001

Immagine 6: Second-line therapy: FOLFOX, ABC-06 Trial Lamarca A et al. Lancet Oncol. 2021; 22(5):690-701
Median OS 6.2 months (95%CI 5.4-7.6) vs 5.3 months (95%CI 4.1-5.8) OS rate at 6 months 50.6% (95%CI 39.3-60.9) vs 35.5% (95%CI 25.2-46.0). OS rate at 12 months 25.9% (95%CI 17.0-35.8) vs 11.4% (95%CI 5.6-19.5)



Number at Risk (number censored*)						
ASC alone	81 (0)	28 (2)	9 (2)	5 (4)	1 (6)	1 (6)
ASC plus FOLFOX	81 (0)	41 (0)	21 (0)	6 (3)	3 (5)	0 (5)

Tumor Area Positivity (TAP) score using the Ventana PD-L1 (SP263) Assay



Un primo cambiamento si è avuto con l'introduzione dell'immunoterapia in combinazione con la chemioterapia standard: gli studi **TOPAZ-1** e **Keynote-966** hanno dimostrato un vantaggio in termini di sopravvivenza globale con l'aggiunta di un inibitore di PD-1 al backbone *cisplatin-gemcitabina*. Pur trattandosi di un beneficio margina-

le nella popolazione generale, una quota ristretta di pazienti ottiene risposte durature, rappresentando il sottogruppo di maggior interesse clinico. Tuttavia, non sono emersi biomarcatori predittivi di beneficio, inclusa l'espressione di PD-L1, che non correla con l'efficacia dell'immunoterapia nei tumori delle vie biliari.

Immagine 7: Content of DO-Youn Oh, MD, PhD et al. The Ventana PD-L1 (SP263) assay uses a monoclonal antibody directed against the PD-L1 protein, expressed on the surface of tumor cells and/or tumor-infiltrating immune cells (TILs). The staining highlights areas of the tissue where PD-L1 is expressed, allowing both qualitative and quantitative assessment.

Key Eligibility Criteria

- Histologically confirmed extrahepatic or intrahepatic cholangiocarcinoma or gallbladder cancer
- Unresectable locally advanced or metastatic disease measurable per RECIST v1.1 by investigator review
- No prior systemic therapy
- ECOG PS 0 or 1
- Life expectancy >3 months

Stratification Factors

- Geographic region (Asia vs not Asia)
- Disease stage (locally advanced vs metastatic)
- Site of origin (extrahepatic vs gallbladder vs intrahepatic)

Pembrolizumab 200 mg IV Q3W (maximum, 35 cycles)
+
Gemcitabine 1000 mg/m² IV on days 1 and 8 Q3W (no maximum)
+
Cisplatin 25 mg/m² IV on days 1 and 8 Q3W (maximum, 8 cycles)

Placebo IV Q3W for (maximum, 35 cycles)
+
Gemcitabine 1000 mg/m² IV on days 1 and 8 Q3W (no maximum)
+
Cisplatin 25 mg/m² IV on days 1 and 8 Q3W (maximum, 8 cycles)

- **Primary End Point:** OS
- **Secondary End Points:** PFS, ORR, and DOR assessed per RECIST v1.1 by blinded, independent central review and safety
- **Prespecified Exploratory End Points:** PRO end points

Tabella 3: TOPAZ-1 Trial: subgroups by PD-L1 expression KeyNote966 Trial: pembrolizumab plus chemo, first line-Kelly RK et al. Lancet2023;401(10391):1853-1865

Al fine di favorire la migliore gestione del paziente, l'ESMO ha introdotto l'indicazione a eseguire profilazione molecolare sin dalla diagnosi, non tanto per orientare la scelta della terapia di prima linea, quanto per garantire la disponibilità di dati utili al momento della progressione e poter accedere a terapie target in tempi adeguati.

In questo contesto, le prime terapie a bersaglio molecolare hanno mostrato risultati clinicamente rilevanti. Gli inibitori di FGFR2, come pemigatinib e futibatinib, hanno dimostrato tassi di risposta superiori al 35% in pazienti pretrattati con una durata mediana della risposta di circa nove mesi e una sopravvivenza globale di oltre 17 mesi nei soggetti con riarrangiamenti di FGFR2. Al contrario, mutazioni diverse o l'assenza di alterazioni su FGFR2 non conferiscono beneficio, sottolineando il valore predittivo del biomarcatore. Questi farmaci risultano inoltre ben tollerati, con eventi avversi gestibili. Un ulteriore progresso è rappresentato da ivosidenib, inibitore di IDH1, che nello studio ClarIDHy ha migliorato sia la sopravvivenza libera da progressione sia, dopo correzione per crossover, la sopravvivenza globale.

Anche mutazioni rare, come BRAF p. V600E, hanno trovato risposte terapeutiche mirate grazie alla combinazione dabrafenib-trametinib, oggi prescrivibile nell'ambito della legge 648/96. L'amplificazione di HER2, pur meno frequente, ha consentito l'impiego di trastuzumab e pertuzumab, mentre farmaci innovativi

come zanidatamab e trastuzumab-deruxtecan sono già approvati da FDA e in attesa di disponibilità in Europa.

Altre alterazioni di interesse includono instabilità dei microsatelliti, mutazione KRAS p.G12C e fusioni NTRK, per le quali esistono già terapie mirate, seppur in una quota molto ridotta di pazienti.

Le evidenze raccolte dimostrano che, in presenza di un driver molecolare validato secondo la classificazione ESCAT, l'impiego di terapie target comporta un beneficio significativo rispetto alla chemioterapia tradizionale, anche quando introdotte in linee più avanzate di trattamento. Casistiche italiane confermano la trasferibilità dei dati degli studi registrativi alla pratica clinica, con sopravvivenze libere da progressione e globali sovrapponibili.

In conclusione, sebbene la prognosi del colangiocarcinoma resti sfavorevole, l'introduzione dell'immunoterapia in prima linea e delle terapie target in circa il 30% dei pazienti con alterazioni molecolari rappresentano passi avanti significativi, che hanno contribuito a prolungare la sopravvivenza. Tuttavia, le opzioni terapeutiche rimangono limitate e l'urgenza di sviluppare nuovi farmaci è elevata. La profilazione molecolare precoce, l'integrazione multidisciplinare e la ricerca clinica continuano a costituire strumenti imprescindibili per migliorare la gestione e l'outcome dei pazienti con neoplasie delle vie biliari.

Punti di Discussione:

Sul fronte diagnostico, le difficoltà puramente istologiche si sono progressivamente ridotte grazie a tecniche sempre più raffinate. Tuttavia, permangono problematiche specifiche, soprattutto nei pazienti epatopatici o HCV-positivi, in cui si osserva ancora una certa resistenza all'esecuzione della biopsia. In questi casi, la diagnosi di colangiocarcinoma viene spesso ritardata o addirittura omessa, a favore di un trattamento empirico per epatocarcinoma. Questo evidenzia un problema culturale e formativo, particolarmente nei setting non oncologici, che può condizionare l'intero percorso di cura.

Un altro punto critico riguarda i tumori delle vie biliari extraepatiche distali, dove è spesso difficile ottenere materiale biotipico adeguato. In questi casi, ci si deve accontentare di campioni minimali da brushing, insufficienti per una profilazione molecolare completa, e solo l'eventuale resezione chirurgica può fornire materiale utile per l'analisi.

Infine, ostacoli organizzativi come il trasporto dei campioni ai centri di riferimento rappresentano un collo di bottiglia rilevante, spesso sottovalutato. L'assenza di un protocollo operativo condiviso su chi gestisce e finanzia il trasporto rallenta il processo diagnostico e limita l'accesso alle analisi molecolari. L'esperienza veneta mostra come anche in presenza di una delibera regionale, la mancanza di governance concreta possa compromettere l'efficacia del sistema.

La complessità clinica del paziente affetto da colangiocarcinoma avanzato può compromettere l'accesso stesso alle terapie. Una quota non trascurabile di pazienti non riesce neppure a iniziare il trattamento oncologico a causa di ittero persistente, colangiti ricorrenti o deterioramento clinico precoce. Spesso questi pazienti non arrivano nemmeno all'attenzione dell'oncologo, perdendosi lungo un percorso frammentato tra discipline e reparti diversi. La stima attuale suggerisce che almeno il 15% dei pazienti che arrivano in oncologia non riesce a iniziare il trattamento, ma questa è probabilmente una sottostima dell'impatto reale.

Oggi disponiamo di dati consolidati sull'efficacia dell'aggiunta di immunoterapia alla chemioterapia di prima linea nei colangiocarcinomi. Studi come **TOPAZ-1** e **KEYNOTE-966** hanno mostrato risultati sovrapponibili in termini di sopravvivenza, con la principale differenza rappresentata dalla strategia di mantenimento: *durvalumab* in monoterapia nel primo caso e *pembrolizumab* + *gemcitabina* nel secondo.

Nella pratica clinica, questa differenza non sembra giustificare una scelta netta tra i due regimi. Il mantenimento con chemioterapia può essere utile in alcuni pazienti, soprattutto se ben tollerato e in presenza di una risposta graduale. La decisione viene quindi presa caso per caso, più che sulla base dell'immunoterapico utilizzato.

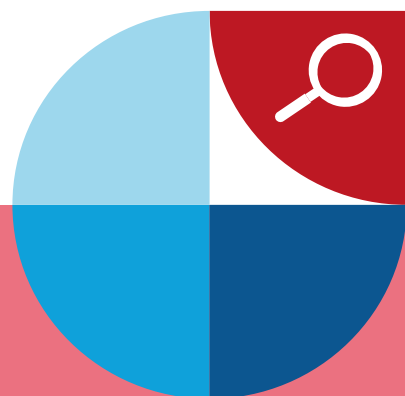
La disponibilità di farmaci a bersaglio molecolare ha ampliato le opzioni terapeutiche anche nei colangiocarcinomi. Per molte alterazioni comuni (come *FGFR2*, *IDH1*, *BRAF* o *HER2*), sono oggi disponibili trattamenti rimborsati. Tuttavia, per alterazioni più rare o meno studiate, l'accesso ai farmaci richiede richieste off-label, spesso soggette a variabilità tra aziende sanitarie.

In questo contesto, il Molecular Tumor Board (MTB) può assumere un ruolo centrale, fungendo da organismo valutativo che supporta la richiesta off-label anche in assenza di studi di fase II specifici per il colangiocarcinoma, basandosi su evidenze indirette o studi basket. In Veneto, il parere favorevole del MTB è già sufficiente per l'accettazione regionale della richiesta, un modello che potrebbe essere replicato anche in altre regioni.

L'esperienza ha mostrato la necessità di un approccio integrato e multidisciplinare, che unisca clinici, istituzioni e regioni. Anche con terapie efficaci, senza una governance strutturata e collabo-

razione tra centri periferici e hub, molti pazienti restano esclusi. Il Molecular Tumor Board, la logistica diagnostica e la valutazione precoce del profilo molecolare sono elementi

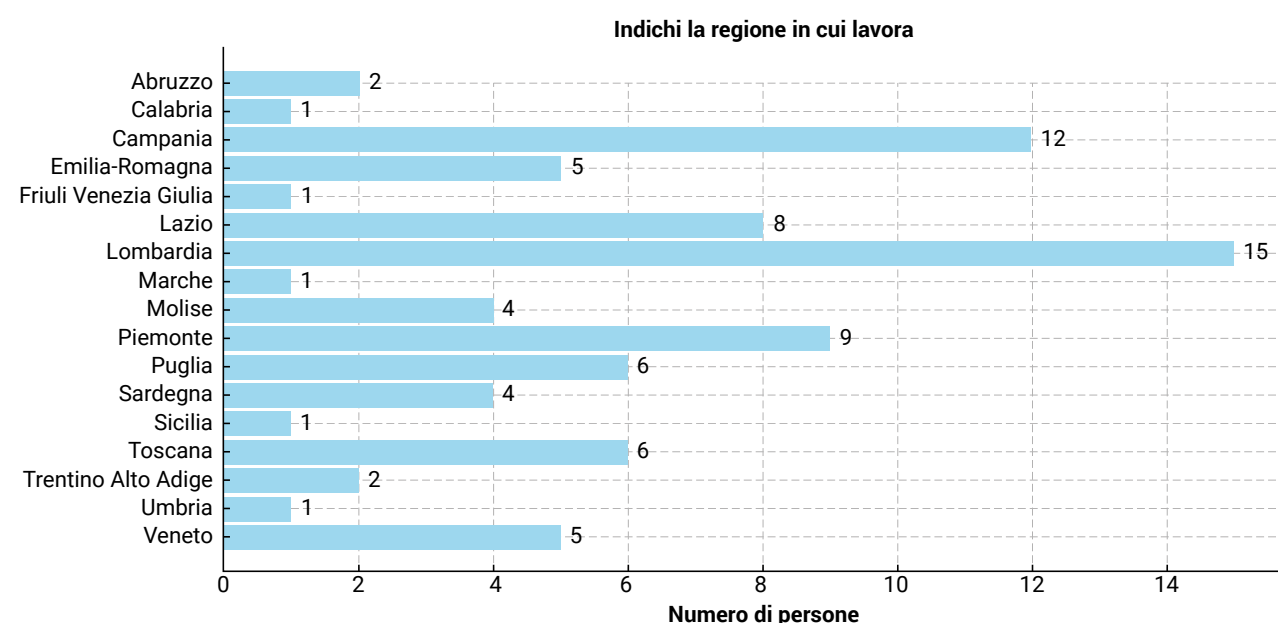
chiave. Serve un percorso condiviso e organizzato per garantire equità, tempestività e qualità nella cura del colangiocarcinoma.



SURVEY

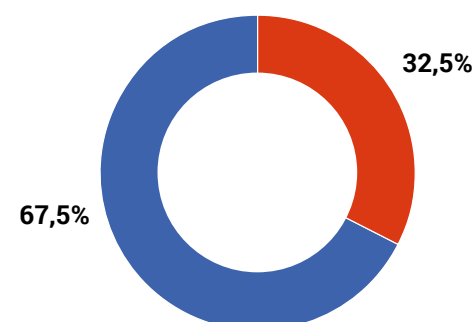
L'inquadramento clinico e molecolare del colangiocarcinoma sta subendo una profonda evoluzione, con la profilazione molecolare che assume un ruolo sempre più centrale nella definizione dell'outcome del paziente. È pertanto essenziale uniformare e ottimizzare le modalità organizzative laboratoriali per garantire un accesso omogeneo e accurato ai test molecolari.

I risultati della survey nazionale, a cui hanno partecipato 88 centri, distribuiti su tutto il territorio, evidenziano l'importanza della sensibilizzazione alla profilazione molecolare, che si conferma uno strumento imprescindibile per la personalizzazione terapeutica nel colangiocarcinoma, con impatto significativo sulla prognosi e sulla qualità di vita dei pazienti.



1. ESEGUI LA CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE PER I MARCATORI PREDITTIVI DI RISPOSTA AL TRATTAMENTO PER I PAZIENTI AFFETTI DA COLANGIOCARCINOMA?

- SÌ** circa 67,5% dei rispondenti.
- NO** circa 32,5% dei rispondenti.

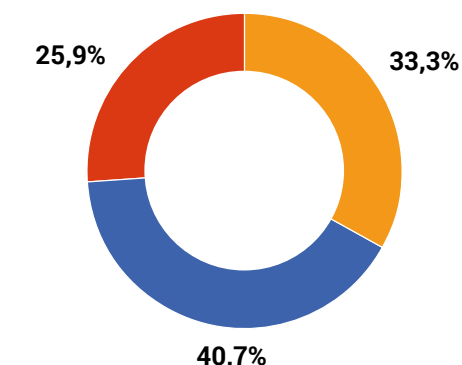


La necessità di profilazione del colangiocarcinoma in ambito molecolare in Italia si è evinta da soli 2 anni, quindi avere un 70% di laboratorio sul territorio nazionale che effettua testing è un risultato incoraggiante per una patologia rara, pur restando un gap del 30% da colmare necessariamente.

le che effettua testing è un risultato incoraggiante per una patologia rara, pur restando un gap del 30% da colmare necessariamente.

2. SE NO, ESTERNALIZZI IL TEST AD UN'ALTRA STRUTTURA?

- SÌ PUBBLICA**
40,7% esternalizza verso un centro pubblico
- SÌ PRIVATA**
25,9% esternalizza verso un centro privato convenzionato
- NO**
33,3% non ha informazioni o non esternalizza



Carico amministrativo elevato, assenza di una governance centrale, variabilità delle metodiche e difficoltà nel reperire materiale biologico adeguato, a conferma della necessità di un approccio multidisciplinare e di percorsi diagnostici più uniformi e tempestivi, sono criticità comuni tra i centri. Sebbene circa il 70% dei laboratori sia operativo per i test, il 33% dei centri non ancora attivi rappresenta un nodo critico, legato a barriere logistiche, mancanza di convenzioni e problemi organizzativi. L'individuazione di tali ostacoli e la condivisione di esperienze possono favorire soluzioni efficaci. In questo contesto, la concentrazione dei test in centri di riferimento, soprattutto per patologie rare, appare

una strategia utile per migliorare volumi, tempi di refertazione e qualità complessiva delle analisi molecolari.

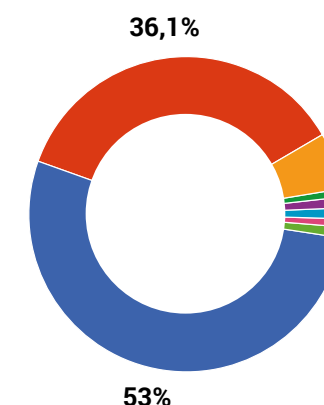
Parallelamente, l'integrazione di tecnologie avanzate come l'intelligenza artificiale e la digital pathology rappresenta un'evoluzione significativa nello studio e nella gestione del colangiocarcinoma. Tuttavia, la rarità della malattia limita la possibilità di sviluppare pipeline digitali efficaci, che richiedono un numero adeguato di casi e dati molecolari completi. Per superare tali limiti, l'associazione internazionale dei pazienti con colangiocarcinoma promuove la creazione di network collaborativi tra esperti e centri con volumi sufficienti di campioni, al

fine di costruire database condivisi per applicazioni di intelligenza artificiale e ricerca traslazionale.

La cooperazione tra istituzioni, gruppi di ricerca e associazioni di pazienti è quindi essenziale per evitare che il colangiocarcinoma resti indietro rispetto ad altre neoplasie più frequenti, nelle quali la raccolta di casistiche è più agevole. I risultati già conseguiti, con numerosi progetti di ricerca traslazionale attivi, rappresentano un segnale incoraggiante dell'efficacia di queste sinergie e del progresso verso un approccio sempre più integrato e tecnologicamente avanzato nella gestione del colangiocarcinoma.

3. IL TEST VIENE ESEGUITO CON:

- NGS ad ibridazione
- NGS ad ampliconi
- FISH
- Anchored multiplex PCR
- NGS ad ampliconi per DNA + pannello fusioni Archer per RNA + eventuale FISH
- Nulla
- NGS
- Eseguiamo 2 analisi NGS: 1 pannello a ibridazione Per varianti fusione FGFR2 controlliamo con NGS ad ampliconi con tecnologia AMP



L'analisi dei dati raccolti mostra un'elevata eterogeneità nelle metodiche impiegate per l'identificazione delle fusioni di *FGFR2* nei centri italiani.

La presenza di numerosi approcci indica una mancanza di armonizzazione diagnostica. Tale variabilità metodologica si tradu-

ce in differenze significative nei tassi di positività e nei tempi di refertazione, riflettendo la complessità tecnica dell'analisi di questo biomarcatore.

Punti di Discussione:

Non esiste attualmente una tecnologia unica in grado di coprire tutte le possibili fusioni di FGFR2.

Le difficoltà maggiori riguardano:

- la qualità e la quantità del materiale biologico disponibile (spesso non ottimale per NGS);
- la copertura incompleta di alcuni kit diagnostici;
- la necessità di approcci multipli (NGS + FISH) nei casi con esito negativo iniziale.

Uno studio pubblicato sul *British Journal of Cancer* ha documentato le differenze di copertura tra i vari kit diagnostici, sottolineando l'importanza di conoscere i limiti tecnici di ciascuna piattaforma e di garantire un dialogo continuo tra laboratorio e oncologo. Circa il 50% dei geni partner delle fusioni *FGFR2* si localizza sul cromosoma 10, mentre il 25–30% coinvolge il gene *BICC1*. Un approccio focalizzato unicamente su *BICC1* rischia di perdere fino al 70% delle fusioni, con conseguenze cliniche rilevanti. Il riconoscimento accurato dei partner di fusione è cruciale anche per la valutazione prognostica, oltre che predittiva, del colangiocarcinoma.

Uno studio collaborativo multicentrico nazionale ha confrontato differenti piattaforme diagnostiche su un controllo artificiale di fusioni FGFR2, evidenziando:

- variazioni di sensibilità e specificità tra *comprehensive genomic profiling* e pannelli di media ampiezza;
- differenze prestazionali tra tecniche ad ibridazione e ad ampliconi;
- la necessità di “prescrivere” la tecnologia più appropriata al tipo di campione.

Tale approccio rappresenta un vero e proprio atto di prescrizione diagnostica, alla pari di una decisione terapeutica.

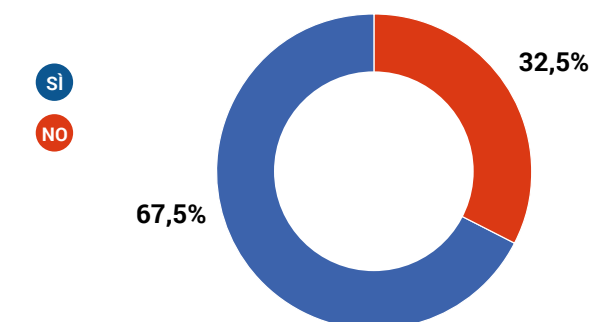
I failure rate riportati dai laboratori italiani raggiungono in media il 13–20% per pannelli CGP, con valori più elevati nei casi di scarsa qualità preanalitica. L'eterogeneità tecnologica e preanalitica spiega il disallineamento tra i tassi di positività osservati negli studi clinici (7–9%) e nella pratica reale (2–3%). Ne deriva l'urgenza di un programma di armonizzazione nazionale e di un monitoraggio periodico dei tassi di positività per ciascun centro.

Molti fallimenti derivano da campioni non ottimali (scarso materiale, fissazione prolungata, RNA degradato). È essenziale una stretta collaborazione tra patologi e biologi molecolari fin dalla fase di prelievo, affinché il flusso diagnostico, dal prelievo alla refertazione, sia integrato e tracciabile.

La disponibilità di farmaci a bersaglio molecolare ha ampliato le opzioni terapeutiche anche nei colangiocarcinomi. Per molte alterazioni comuni (come *FGFR2*, *IDH1*, *BRAF* o *HER2*), sono oggi disponibili trattamenti rimborsati. Tuttavia, per alterazioni più rare o meno studiate, l'accesso ai farmaci richiede richieste off-label, spesso soggette a variabilità tra aziende sanitarie.

La biopsia liquida rappresenta un'opzione diagnostica complementare particolarmente utile nei casi in cui il tessuto sia insufficiente o non accessibile per l'analisi molecolare. Sebbene la sua specificità sia elevata (circa 100%), la sensibilità risulta ancora limitata, con una concordanza con il tessuto compresa tra il 55% e il 60%. L'utilizzo della bile come fonte alternativa di acidi nucleici mostra potenzialità interessanti, ma è tuttora ostacolato dalla rapida degradazione dell'RNA, che riduce l'affidabilità dei risultati. In questo contesto, un algoritmo diagnostico integrato dovrebbe prevedere prioritariamente l'esecuzione delle analisi su tessuto, riservando la biopsia liquida ai casi in cui il materiale biotico risulti inadeguato o non disponibile. In presenza di un risultato negativo ottenuto con la biopsia liquida, è comunque raccomandata una successiva conferma su campione tissutale, al fine di garantire la massima accuratezza diagnostica e la corretta identificazione delle alterazioni molecolari rilevanti ai fini terapeutici.

4. IL TEST VIENE ESEGUITO IN ANATOMIA PATOLOGICA:



Punti di Discussione:

La reale integrazione tra anatomia patologica e laboratorio di biologia molecolare rappresenta un obiettivo complesso ma indispensabile per garantire un percorso diagnostico efficace. È stato sottolineato che un'anatomia patologica performante, deve possedere competenze solide non solo nella fase preanalitica e classificativa, ma anche nella comprensione delle esigenze del laboratorio di biologia molecolare. La mancata consapevolezza dei processi molecolari porta spesso a spreco di materiale biologico e a tempi prolungati di diagnosi. È dunque essenziale che la cultura laboratoristica e quella patologica si fondano in un linguaggio comune e condiviso per ottenere risultati realmente clinicamente utili.

Un ostacolo strutturale è rappresentato dalla carenza di patologi e dalla difficoltà di dedicare tempo alla conoscenza dei processi molecolari. La separazione fisica e gestionale tra laboratori accentua la distanza culturale, riducendo la qualità dei referti e la coerenza diagnostica. La formazione dei giovani anatomo-patologi deve quindi includere un approccio integrato alla diagnostica molecolare per evitare che l'attività si riduca a una semplice sequenza tecnica priva di interpretazione clinica. La collaborazione diretta e costante tra patologi e biologi molecolari, anche nei gruppi multidisciplinari, è la chiave per una diagnosi realmente personalizzata e utile al trattamento.

Il ruolo della biopsia liquida è stato discusso come parte integrante di un percorso diagnostico che deve restare multidisciplinare e consapevole. Nonostante la biopsia liquida rappresenti un'opzione valida nei casi in cui il tessuto sia insufficiente o non accessibile, la sua applicazione richiede competenza nella scelta del momento opportuno per l'esecuzione del test e nella valutazione dei risultati. È necessario evitare un uso improprio o eccessivamente automatizzato di questa tecnologia, che rischia di generare dati inutili o fuorvianti se non inseriti in un contesto clinico e biologico appropriato. La biopsia liquida deve quindi essere vista come strumento complementare e non sostitutivo della diagnostica tissutale.

Un altro punto cruciale riguarda l'assenza, in molte regioni italiane, di una normativa chiara che stabilisca l'obbligatorietà dell'esecuzione dei test molecolari somatici all'interno dei laboratori di anatomia patologica. Questa lacuna genera disomogeneità organizzative e differenze qualitative tra territori. Sarebbe auspicabile un intervento nazionale che definisca in modo univoco le competenze e i percorsi operativi, riconoscendo il ruolo centrale del patologo nella gestione integrata dei test molecolari e promuovendo modelli organizzativi moderni che prevedano la presenza di biologi e tecnologi come parte strutturale del team.

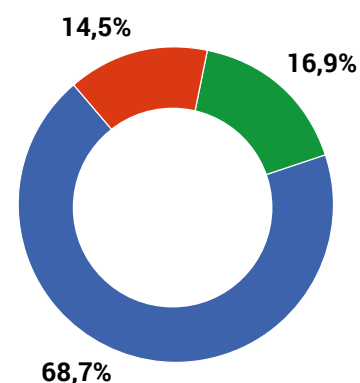
Molte alterazioni molecolari, come ad esempio le fusioni di FGFR nei colangiocarcinomi, non hanno solo un valore predittivo ma anche classificativo. Ciò implica un cambio di paradigma nella concezione stessa della diagnosi oncologica, che deve progressivamente integrare i dati morfologici con quelli genomici per ridefinire le entità tumorali. La sfida è comprendere che la caratterizzazione molecolare non è un'appendice del processo diagnostico ma parte costitutiva della definizione della patologia.

Un tema di rilievo è la possibilità di adottare un approccio reflex, cioè l'esecuzione automatica dei test molecolari contestualmente alla diagnosi istologica, senza attendere una richiesta successiva. Questa strategia, già discussa in ambito polmonare, permetterebbe di ridurre i tempi, ottimizzare l'uso del materiale e migliorare la gestione del paziente. Tuttavia, la sua implementazione richiede un'integrazione stretta tra discipline e un'organizzazione efficiente che oggi è ancora difficile da realizzare in modo uniforme sul territorio.

Vi è necessità di guidare culturalmente il cambiamento in atto, per evitare che la diagnostica diventi un processo puramente tecnico e disancorato dal contesto clinico. La vera sfida è coniugare eccellenza diagnostica e capacità di interpretazione predittiva, costruendo percorsi formativi che permettano ai patologi e ai biologi di collaborare in modo paritetico. Solo in questo modo sarà possibile garantire al paziente un servizio realmente orientato alla precisione terapeutica e non una mera produzione di dati molecolari privi di valore clinico.

5. PER LA REFERTAZIONE DEI RISULTATI QUALI RACCOMANDAZIONI SEGUI?

- SIAPEC - PMMP
- ESMO
- ECP
- Nessuna delle precedenti



Punti di Discussione:

Nel contesto della diagnostica molecolare e della caratterizzazione dei colangiocarcinomi, emerge con chiarezza la necessità di una guida strutturata e condivisa. Nessuno di noi può procedere senza riferimenti solidi: le linee guida rappresentano il punto di orientamento, il benchmark e la best practice su cui costruire percorsi diagnostici omogenei e clinicamente rilevanti.

Queste devono necessariamente provenire dalle società scientifiche, che hanno il ruolo imprescindibile di raccordo tra la ricerca clinica e la pratica quotidiana nei laboratori. Il valore delle linee guida risiede proprio nella loro capacità di tradurre in raccomandazioni operative ciò che emerge dalla letteratura e dagli studi clinici, offrendo una sintesi tra innovazione e applicabilità.

Un aspetto centrale riguarda la refertazione, che costituisce il momento di dialogo tra anatomo-patologo e oncologo. Il referto deve essere non solo tecnicamente corretto, ma anche clinicamente intellegibile. È infatti inutile produrre un documento formalmente impeccabile se il suo contenuto non risulta comprensibile a chi deve interpretarlo per decidere la terapia.

L'esperienza maturata all'interno dei gruppi *SIAPeC-IAP PMMP* e *AIOM* ha dimostrato come l'adozione di un linguaggio comune, frutto della collaborazione tra le due società, migliori la qualità della comunicazione e l'efficacia clinica delle informazioni trasmesse. L'obiettivo è rendere i referti chiari, coerenti e clinicamente utilizzabili.

Dai risultati della survey condotta, circa il 70% dei laboratori italiani dichiara di rifarsi alle linee guida *SIAPeC-IAP PMMP* e *AIOM*, una percentuale in linea con la quota di centri che eseguono i test in anatomia patologica. Tuttavia, resta un 17% di laboratori che non fa riferimento a nessuna raccomandazione specifica: un dato che evidenzia la necessità di promuovere una maggiore consapevolezza e adesione ai documenti ufficiali.

È inoltre emersa una certa disomogeneità nell'adozione delle linee guida europee ESMO, il cui impiego, seppur utile per la prospettiva internazionale, può generare criticità se non accompagnato da un adattamento al contesto nazionale. Gli ESCAT, infatti, riflettono una disponibilità terapeutica europea che non sempre corrisponde a quella italiana, rischiando di creare discrepanze nella gestione clinica dei pazienti.

In questo senso, le linee guida *SIAPeC-IAP PMMP* si distinguono per equilibrio e rigore, poiché mantengono un legame costante con la realtà operativa italiana, integrando le raccomandazioni ESMO in modo pragmatico e rispettoso delle specificità del nostro sistema sanitario. Esse rappresentano il miglior esempio di un documento nato dalla collaborazione tra discipline diverse (patologi, biologi molecolari e oncologi) e in grado di fornire indicazioni clinicamente spendibili, mantenendo salda la coerenza con il quadro normativo nazionale.

Emerge l'esigenza di armonizzare il linguaggio tecnico a livello europeo, poiché sempre più frequentemente i pazienti partecipano a studi clinici internazionali o si spostano tra centri di diversi Paesi. Tuttavia, questa armonizzazione non deve tradursi in una perdita di specificità nazionale: l'obiettivo deve essere quello di parlare una lingua comune nei referti, pur rispettando i vincoli regolatori e terapeutici propri del contesto italiano.

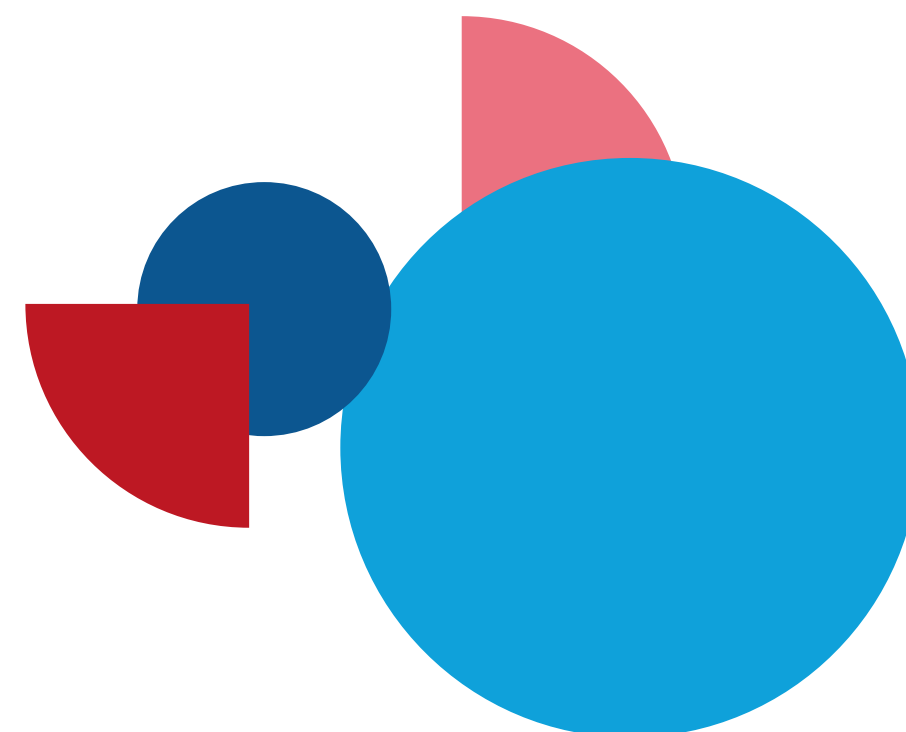
Le linee guida nazionali, dunque, non rappresentano una semplificazione, ma una necessaria mediazione tra il livello ideale della ricerca e la concreta possibilità di applicazione sul territorio. Esse devono descrivere "il meglio possibile che tutti possono fare" e non solo ciò che può essere realizzato in pochi centri di eccellenza.

L'esperienza dei Molecular Tumor Board rappresenta un modello di confronto multidisciplinare avanzato, ma non può sostituirsi al lavoro quotidiano dei laboratori. Le linee guida *SIAPeC-PMMP*, nate da un ampio sforzo comunitario, offrono una soluzione equilibrata introducendo la possibilità di annotare varianti aggiuntive per facilitare la discussione multidisciplinare e valutare l'inclusione dei pazienti negli studi clinici.

In prospettiva, l'obiettivo è costruire un sistema in cui la refertazione molecolare sia chiara, uniforme e integrata con le esigenze cliniche, in cui le società scientifiche continuino a svolgere il ruolo

di coordinamento e formazione e in cui la crescita culturale della comunità scientifica proceda di pari passo con l'evoluzione tecnologica. Solo così sarà possibile garantire un accesso equo e di

qualità alle terapie innovative, evitando il rischio di una medicina a più velocità e mantenendo al centro della pratica clinica la comprensibilità, l'affidabilità e l'utilità del dato molecolare.



BIBLIOGRAFIA

Deliberazione della Giunta Regionale della Lombardia n. XII/989 del 18 settembre 2023 "Individuazione dei centri oncologici prescrittori del test genomico con NGS per i pazienti affetti da colangiocarcinoma."

Sarcognato, S., Sacchi, D., Fassan, M., Fabris, L., Cadamuro, M., Zanusi, G., Cataldo, I., Capelli, P., Bacciorri, F., Cacciatore, M., & Guido, M. (2021). Cholangiocarcinoma. *Pathologica*, 113(3), 158–169. <https://doi.org/10.32074/1591-951X-252>

Pellino, A., Loupakakis, F., Cadamuro, M., Dadduzio, V., Fassan, M., Guido, M., Cillo, U., Indraccolo, S., & Fabris, L. (2018). Precision medicine in cholangiocarcinoma. *Translational gastroenterology and hepatology*, 3, 40. <https://doi.org/10.21037/tgh.2018.07.02>

Wardell, C. P., Fujita, M., Yamada, T., Simbolo, M., Fassan, M., Karlic, R., Polak, P., Kim, J., Hatana-ka, Y., Maejima, K., Lawlor, R. T., Nakanishi, Y., Mitsuhashi, T., Fujimoto, A., Furuta, M., Ruzzenente, A., Conci, S., Oosawa, A., Sasaki-Oku, A., Nakano, K., ... Nakagawa, H. (2018). Genomic characterization of biliary tract cancers identifies driver genes and predisposing mutations. *Journal of hepatology*, 68(5), 959–969. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.01.009>

Fassan, M., Angerilli, V., Normanno, N., Pruneri, G., Marchetti, A., Grillo, F., Tonini, G., Scarpa, A., & Rimassa, L. (2024). Practical guidelines for molecular testing of cholangiocarcinoma in clinical practice: Italian experts' position paper. *Critical reviews in oncology/hematology*, 194, 104224. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2023.104224>

Angerilli, V., Fornaro, L., Pepe, F., Rossi, S. M., Perrone, G., Malapelle, U., & Fassan, M. (2023). FGFR2 testing in cholangiocarcinoma: translating molecular studies into clinical practice. *Pathologica*, 115(2), 71–82. <https://doi.org/10.32074/1591-951X-859>

Rimassa, L., Lamarca, A., O'Kane, G. M., Edeline, J., McNamara, M. G., Vogel, A., Fassan, M., Forner, A., Kendall, T., Adeva, J., Casadei-Gardini, A., Fornaro, L., Hollebecque, A., Lowery, M. A., Macarulla, T., Malka, D., Mariamidze, E., Niger, M., Ustav, A., Bridgewater, J., ... Braconi, C. (2025). New systemic treatment paradigms in advanced biliary tract cancer and variations in patient access across Europe. *The Lancet regional health. Europe*, 50, 101170. <https://doi.org/10.1016/j.lanepe.2024.101170>

Rimini, M., Fornaro, L., Lo Prinzi, F., Rizzato, M. D., Saborowski, A., Antonuzzo, L., Rossari, F., Satake, T., Peeters, F., Vivaldi, C., Pressiani, T., Lucchetti, J., Kim, J. W., Abidoye, O., Rapposelli, I. G., Tamberi, S., Finkelmeier, F., Giordano, G., Nichetti, F., Jae Chon, H., ... Casadei-Gardini, A. (2025). The impact of molecular alterations in patients with advanced biliary tract cancer receiving cisplatin, gemcitabine and durvalumab: a large real-life worldwide population. *Journal of the National Cancer Institute*, djaf155. Advance online publication. <https://doi.org/10.1093/jnci/djaf155>

Casadei-Gardini, A., Leone, F., Brandi, G., Scartozzi, M., Silvestris, N., Santini, D., Faloppi, L., Aglietta, M., Satolli, M. A., Rizzo, A., Lonardi, S., Aprile, G., & Fornaro, L. (2023). Survival trends over 20 years in patients with advanced cholangiocarcinoma: Results from a national retrospective analysis of 922 cases in Italy. *Frontiers in oncology*, 13, 1128930. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1128930>

Silvestri, M., Nghia Vu, T., Nichetti, F., Niger, M., Di Cosimo, S., De Braud, F., Pruneri, G., Pawitan, Y., Calza, S., & Cappelletti, V. (2023). Comprehensive transcriptomic analysis to identify biological and clinical differences in cholangiocarcinoma. *Cancer medicine*, 12(8), 10156–10168. <https://doi.org/10.1002/cam4.5719>

De Micheli, V., Agnelli, L., Conca, E., Rabsiun Aramburu, V. L., Baggi, A., Vingiani, A., Duca, M., Perrone, F., Tamborini, E., Piccolo, A., Lorenzini, D., Busico, A., Capone, I., Niger, M., Proto, C., Vernieri, C., Manoukian, S., Gancitano, G., Ferrario, M., Franzini, J. M., ... Jommi, C. (2025). Impact of comprehensive genomic profiling and molecular tumour board on costs and access to tailored therapies: real-world observational study. *BMJ open*, 15(5), e099134. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2025-099134>

Progetto realizzato con il contributo non condizionante di:



SOLVE
ON.

