

CLINICAL

Interview

n.1 / 2026



La Medicina di Precisione nel Carcinoma Mammario HR+/HER2- e il testing per *ESR1*: condivisione di esperienze in Regione Lombardia

Elena Guerini Rocco, IEO Istituto Europeo Di Oncologia, Milano; **Giuseppe Canello**, IEO Istituto Europeo Di Oncologia, Milano; **Cristina Crepaldi**, Istituto Clinico Mater Domini, Varese; **Alessandra Crippa**, UO Oncologia Medica, ASST Lecco; **Rita De Sanctis**, SC Oncologia, SS Oncologia della Donna, ASST Papa Giovanni XXIII Bergamo; **Annarita Destro**, Humanitas Research Hospital, Milano; **Anna Rita Gambaro**, U.O.C. Oncologia Ospedale L. Sacco, ASST Fatebenefratelli Sacco, Milano; **Valentina Gambi**, S.C. Oncologia Falck, Dipartimento Ematologia, Oncologia e Medicina Molecolare, Niguarda Cancer Center, Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano; **Monica Iorfida**, IEO Istituto Europeo Di Oncologia, Milano; **Calogero Lauricella**, Molecular Pathology Unit, ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano; **Monica Milano**, IEO Istituto Europeo Di Oncologia, Milano; **Luisa Paola Molteni**, ASST Rhodense; **Paola Sagrada**, ASST LODI - Ospedale Maggiore Di Lodi



CLINICAL

Interview

n.1 / 2026



EDITORE

CLINICAL INTERVIEW

Numero registrazione Tribunale Ordinario di Milano: 8267/2023

Direttore responsabile:

Cristoforetti Carlo Massimo

Operatore di comunicazione:

MEDICA - EDITORIA E DIFFUSIONE SCIENTIFICA S.R.L.

Registro degli Operatori di Comunicazione:

numero 39798

Codice fiscale: 12389510152

Medica
EDITORIA E DIFFUSIONE SCIENTIFICA

CLINICAL

Interview

n.1 / 2026



Indice

04

ABSTRACT

05

LE MUTAZIONI
DEL RECETTORE
ESTROGENICO:
RUOLO BIOLOGICO
E IMPLICAZIONI
DIAGNOSTICHE

08

ESR1 TESTING

10

IL TESTING DELLE
MUTAZIONI DI
ESR1 IN REGIONE
LOMBARDIA

13

KEY MESSAGES

14

L'ALGORITMO
DIAGNOSTICO
E TERAPEUTICO
DEL/LA PAZIENTE
CON NEOPLASIA
MAMMARIA
METASTATICA
HR+/HER2-

15

RESISTENZA,
SENSIBILITÀ
E REFRATTARIETÀ
ALLA TERAPIA
ENDOCRINA

16

LA PRIMA LINEA
DI TRATTAMENTO

17

LA SECONDA LINEA
DI TRATTAMENTO

18

IL TRATTAMENTO
DELLA MALATTIA
ENDOCRINO
NON-SENSIBILE

19

CONCLUSIONE:
GLI UNMET NEED
E LE QUESTIONI
APERTE

21

BIBLIOGRAFIA

24

ALLEGATI

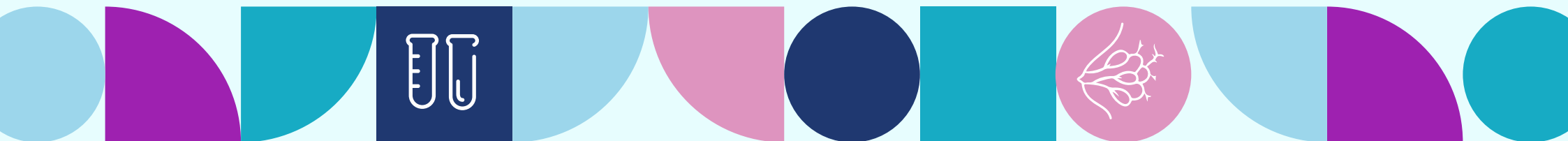
ABSTRACT

L'articolo presenta le esperienze di alcuni Centri della Regione Lombardia nell'ambito della medicina di precisione per le pazienti con carcinoma mammario metastatico (mBC), HR + (*Hormone Receptor positive*, recettore ormonale positivo [estrogeno o progesterone]), HER2- (*Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 negative*, recettore del fattore di crescita epidermico umano 2 negativo), un contesto in rapida evoluzione grazie alla disponibilità di strategie terapeutiche innovative, all'identificazione di biomarcatori emergenti, e all'introduzione di nuove metodiche di testing.

Questo lavoro nasce da un confronto multidisciplinare tra oncologi e specialisti in patologia molecolare, con l'obiettivo di condividere pratiche, criticità e modelli organizzativi.

Particolare attenzione è dedicata al ruolo del testing delle mutazioni di *ESR1* (*Estrogen Receptor 1*, recettore dell'estrogeno 1), oggi riconosciuto come rilevante driver terapeutico, e alla crescente complessità dell'algoritmo diagnostico-terapeutico nella malattia HR+/HER2- metastatica. Dall'analisi emerge una realtà regionale dinamica e strutturata, caratterizzata da una rete clinico-diagnostica e da una collaborazione consolidata tra centri hub e spoke, che consente una gestione integrata del percorso di cura, dalla fase diagnostica alla definizione della strategia terapeutica. Pur in presenza di alcune criticità e nel rispetto delle specificità territoriali, l'esperienza lombarda rappresenta un modello di confronto, potenzialmente trasferibile, per l'implementazione della medicina di precisione nel carcinoma mammario HR+/HER2-.

Keywords: Carcinoma mammario metastatico HR+/HER2-, Mutazioni di ESR1, Biopsia liquida, Algoritmo diagnostico-terapeutico, Medicina di precisione.



LE MUTAZIONI DEL RECETTORE ESTROGENICO: RUOLO BIOLOGICO E IMPLICAZIONI DIAGNOSTICHE



ER ED ESR1, COSA SONO E PERCHÉ SONO IMPORTANTI

Il recettore degli estrogeni (*estrogen receptor*, ER) è una proteina che, legandosi agli estrogeni, regola processi di crescita e proliferazione cellulare. Nel carcinoma mammario, rappresenta uno dei principali biomarcatori predittivi e prognostici, essendo espresso in circa il 60-70% dei casi, e costituisce il target fondamentale delle terapie endocrine (Piscuoglio S et al., 2018). ER appartiene alla famiglia dei recettori nucleari ligando-dipendenti e agisce come fattore di trascrizione: una volta attivato dal legame con l'estrogeno, dimerizza e si lega a specifiche sequenze del DNA (*estrogen response elements*, ERE), modulando l'espressione dei geni bersaglio. Il recettore può essere anche attivato attraverso l'interazione con altre vie di segnalazione, in particolare quella dei fattori di crescita, contribuendo alla complessità della risposta biologica (Reinert T et al., 2018).

Sono state identificate due principali isoforme del recettore: ERα ed ERβ, simili fra loro, ma

caratterizzate da una differente distribuzione tissutale e da alcune specifiche proprietà funzionali. ERα è predominante nella ghiandola mammaria ed è il principale mediatore della proliferazione tumorale. Il gene *ESR1* localizzato sul cromosoma 6 (6q25.1) codifica per la proteina ERα costituita da 595 aminoacidi e organizzata in sei domini funzionali. In particolare, l'esone 8 è di rilievo clinico in quanto codifica parte del dominio di legame al ligando (LBD) e della regione C-terminale, frequentemente sede di mutazioni attivanti. Tali mutazioni determinano un'attivazione costitutiva del recettore, indipendente dal legame con l'estrogeno, e sono associate allo sviluppo di resistenza alle terapie endocrine.

Nelle pazienti con carcinoma della mammella HR+/HER2-, le principali terapie endocrine includono gli inibitori dell'aromatasi, che mirano a inibire l'enzima responsabile della sintesi degli estrogeni; i SERM (*Selective Estrogen Receptor Modulator*, e.g. tamoxifene), che modulano l'attività del recettore inibendo la capacità del dominio del ligando AF-2 di essere reclutato dai suoi

coattivatori sul DNA stesso; i SERD (*Selective Estrogen Receptor Degradar*, e.g. fulvestrant), che si legano al recettore inducendo il reclutamento delle ubiquitin ligasi E3 e promuovendone la degradazione. I SERD orali di nuova generazione (e.g. elacestrant) sono inoltre in grado di legarsi a ER anche in presenza di mutazioni del recettore, dimostrando un beneficio clinico nelle pazienti con carcinoma mammario metastatico (mBC) HR+/HER2- resistenti alle altre terapie endocrine (Betz M et al., 2023).

L'EVOLUZIONE MOLECOLARE SOTTO PRESSIONE FARMACOLOGICA SELETTIVA: ESR1 E TERAPIA ORMONALE

Le mutazioni del gene *ESR1* sono raramente presenti nei tumori primitivi mentre sono identificate con maggiore frequenza nel corso della malattia avanzata, in particolare dopo esposizione a terapia endocrina. (*) Nelle pazienti con carcinoma mammario metastatico (mBC) che hanno ricevuto inibitori delle aromatasi, la loro prevalenza alla progressione può raggiungere il 40-50%.

LE MUTAZIONI DEL RECETTORE ESTROGENICO: RUOLO BIOLOGICO E IMPLICAZIONI DIAGNOSTICHE



Dal punto di vista biologico, queste mutazioni determinano una stabilizzazione della conformazione attiva del recettore anche in assenza del ligando, attraverso modificazioni strutturali che coinvolgono in particolare il dominio di legame al ligando (LBD) codificato dai codoni 310-547. Le mutazioni più frequenti si trovano nei codoni 536, 537 e 538, nella regione dell'elica H12; in particolare le varianti Y537S e D538G rappresentano oltre il 60% delle mutazioni di ESR1 riscontrate nei casi resistenti.

Un aspetto particolarmente rilevante riguarda l'interpretazione clinica delle varianti identificate. Dati recenti (Folta A et al., 2025) hanno evidenziato come l'impiego di tecnologie di sequenziamento di nuova generazione (NGS) consenta di identificare un numero crescente di varianti nel LBD, molte delle quali attualmente classificate come varianti di significato incerto (VUS). In uno studio su oltre 300 pazienti con carcinoma mammario, sono state identificate 264 mutazioni non sinonime nel LBD, alcune delle quali non presenti in ampie coorti pan-cancer. Questo dato suggerisce che tali varianti possano rappresentare alterazioni

de novo, emerse sotto pressione terapeutica, e potenzialmente coinvolte nei meccanismi di resistenza. Questa variabilità interpretativa può rappresentare una criticità nella pratica clinica, poiché la presenza di una VUS rende più complessa la scelta terapeutica da parte dell'oncologo.

ESR1 E COMUTAZIONI: IMPLICAZIONI DIAGNOSTICO-CLINICHE

Accanto alle mutazioni di ESR1, è frequente osservare la co-presenza di ulteriori alterazioni molecolari nella stessa paziente, che possono rappresentare biomarcatori predittivi e contribuire alla complessità biologica e clinica del carcinoma mammario metastatico HR+/HER2-.

Le alterazioni più frequentemente identificate mediante test su biopsia liquida includono mutazioni di PIK3CA e TP53 e, con minore frequenza, alterazioni di AKT1 e PTEN (Maloberti T et al., 2025).

La co-presenza di queste alterazioni riflette l'eterogeneità molecolare della malattia, con poten-

ziali implicazioni sulla risposta ai trattamenti e sulla scelta delle strategie terapeutiche.

CERCARE LE MUTAZIONI DI ESR1

Le mutazioni del gene ESR1 rappresentano un bersaglio terapeutico sempre più rilevante. La sfida oggi per i biologi e i patologi molecolari è non solo cercare le mutazioni, ma “*cercarle bene*”, secondo procedure di qualità.

La frequenza delle mutazioni di *ESR1* aumenta con il progredire della malattia e con il numero di linee terapeutiche: da circa l'1% nelle fasi precoci, fino al 30-40% nelle linee avanzate della malattia metastatica. Questo dato sottolinea l'importanza di eseguire il test nel momento clinicamente appropriato, idealmente alla progressione di malattia, se non già documentato in precedenza (**quando testare**).

Oggi, accanto alla biopsia tissutale della lesione in progressione, la biopsia liquida rappresenta uno strumento fondamentale per la ricerca delle mutazioni di *ESR1* (Bhave M et al., 2024).

LE MUTAZIONI DEL RECETTORE ESTROGENICO: RUOLO BIOLOGICO E IMPLICAZIONI DIAGNOSTICHE



L'analisi del DNA tumorale circolante (ctDNA) consente una valutazione dinamica della malattia ed è attualmente indicata nel setting metastatico, con possibilità di espansione futura anche alle fasi precoci (**dove testare**).

Dal punto di vista metodologico, le tecniche più utilizzate sono la Digital PCR e l'NGS. La Digital PCR offre un'elevata sensibilità analitica, mentre l'NGS consente una valutazione più ampia del profilo mutazionale. Lo studio EMERALD ha indicato come test valido la biopsia liquida, eseguita con le metodiche Digital PCR e NGS. Entrambe hanno mostrato le stesse performance a livello di detection rate (**come testare**).

Lo studio clinico EMERALD ha inoltre mostrato come nel test per le mutazioni del gene *ESR1* la possibilità di individuare simultaneamente più di una variante sia elevata - in alcuni pazienti sono state individuate oltre 4 varianti. Lo studio ha riconosciuto le mutazioni D538G, Y537S, Y537C e Y537N come le più frequenti, e in tutti i casi si è osservato lo stesso beneficio clinico dal trattamento con elacestrant.

Un elemento critico nella pratica diagnostica è rappresentato dalla qualità del campione e dalle fasi pre-analitiche. La gestione del prelievo, i tempi di lavorazione e la corretta separazione del plasma sono passaggi essenziali per garantire l'integrità del ctDNA ed evitare risultati falsamente negativi (**fase pre-analitica**).

Infine, l'interpretazione dei risultati richiede particolare attenzione, soprattutto in relazione alla frequenza allelica (*Variant Allele Fraction* – VAF) e ai limiti di sensibilità della metodica (*Limit of Detection*, LOD). È importante sottolineare che

l'efficacia dei trattamenti, come dimostrato nello studio EMERALD per elacestrant, non sembra dipendere dalla VAF, suggerendo che anche mutazioni presenti a basse frequenze possano avere rilevanza clinica (Bardia A et al., 2024) (**fase post-analitica**).

Alla luce di queste complessità biologiche e tecniche, diventa cruciale definire in modo appropriato chi, quando e come testare le mutazioni di *ESR1* nella pratica clinica, includendo aspetti analitici ma anche pre- e post-analitici.



ESR1 TESTING

CHI E QUANDO

Secondo le più recenti raccomandazioni ESMO, alla progressione di malattia dopo una prima linea di trattamento, le pazienti con carcinoma mammario metastatico HR+/HER2- dovrebbero essere sottoposte a profilazione molecolare, utilizzando pannelli sufficientemente ampi da consentire l'identificazione delle principali alterazioni genomiche con impatto terapeutico, tra cui mutazioni di *PIK3CA*, *ESR1* e alterazioni del pathway AKT/PTEN, oltre alla valutazione delle mutazioni germinali di *BRCA1/2* e *PALB2*.

Il timing della progressione rappresenta un elemento chiave nell'interpretazione biologica della malattia. Una progressione precoce, entro i primi 6 mesi dall'inizio della terapia endocrina, è generalmente suggestiva di resistenza primaria e orienta la ricerca verso alterazioni già presenti, come le mutazioni di *PIK3CA*, potenzialmente targettabili con terapie dedicate. Al contrario, una progressione tardiva, è più frequentemente associata a meccanismi di

resistenza acquisita. Come già sottolineato, le mutazioni di *ESR1* sono rare alla diagnosi, con una prevalenza di circa l'1%, ma aumentano progressivamente con le linee di trattamento fino a raggiungere il 40–50% nelle fasi avanzate della malattia ER+/HER2- metastatica. Questo andamento riflette l'effetto della pressione selettiva esercitata dalle terapie endocrine, in particolare dagli inibitori dell'aromatasi, che favoriscono l'emergere di cloni resistenti, e sottolinea l'importanza del timing per l'esecuzione del test nel contesto clinico appropriato.

DOVE: LA BIOPSIA LIQUIDA

Le mutazioni del gene *ESR1* rappresentano tipicamente alterazioni subclonali che emergono sotto pressione selettiva delle terapie endocrine, in particolare degli inibitori dell'aromatasi. Sebbene il test possa essere eseguito su tessuto ottenuto a progressione di malattia, nella pratica clinica il campione tissutale non è sempre disponibile, o può risultare difficile ottenere una nuova biopsia. In questo contesto, la biopsia liquida rappre-

senta un'alternativa valida, minimamente invasiva, basata su un semplice prelievo di sangue periferico, che consente di analizzare il DNA tumorale circolante (ctDNA) e di monitorare in maniera dinamica l'evoluzione molecolare della neoplasia, catturando la complessa eterogeneità tumorale della malattia metastatica.

Oggi la **biopsia liquida** è considerata il **gold standard per l'analisi delle mutazioni di *ESR1***, in quanto il ctDNA rappresenta l'analita validato negli studi clinici.

Nonostante i vantaggi, la biopsia liquida presenta alcuni limiti. La complessità genetica della malattia può non essere completamente rappresentata da un singolo prelievo, e alcune alterazioni, possono risultare difficili da identificare. Per questo motivo, quando disponibile, l'integrazione con l'analisi tissutale rimane un elemento fondamentale.

A livello nazionale, persistono inoltre criticità legate all'armonizzazione delle metodiche, alla standardizzazione del referto e al corretto timing del test. Per questo nel 2025 il gruppo PMMP (Patologia Molecolare Medicina di Precisione) della SIAPeC (Società Italiana di Anatomia Patologica e Citologia Diagnostica)



ESR1 TESTING

ha avviato iniziative per standardizzare il workflow diagnostico nelle fasi pre-analitica, analitica e post-analitica, con l'obiettivo di migliorare la qualità e la riproducibilità dei risultati delle analisi molecolari condotte su biopsia liquida.

COME: LE TECNOLOGIE

Le tecnologie utilizzate per la ricerca delle mutazioni di *ESR1* devono garantire elevata sensibilità e specificità, al fine di ridurre il rischio di falsi negativi e assicurare una corretta identificazione delle varianti a bassa frequenza.

Le metodiche di Real Time PCR non sono indicate in questo contesto, a causa di un limite di sensibilità (LOD), che può non essere sufficiente per rilevare mutazioni presenti a basse frazioni alleliche. Le piattaforme attualmente raccomandate sono il sequenziamento di nuova generazione (NGS) e la Digital PCR, entrambe

impiegate anche nello studio EMERALD.

Le due tecnologie hanno un differente *reference range*: la *Digital PCR* consente un'analisi rapida e altamente sensibile di specifiche mutazioni hotspot in un singolo gene, mentre l'NGS consente una valutazione più ampia e simultanea di numerosi geni e diverse varianti, incluse mutazioni puntiformi, alterazioni del numero di copie e fusioni geniche (Borkar S et al., 2025).

Un aspetto critico è rappresentato dalla validazione dei test NGS per l'analisi su biopsia liquida. Alcuni kit NGS, originariamente sviluppati per tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina (FFPE), possono non garantire le stesse performance sul ctDNA. In questo contesto infatti, per ottenere livelli di sensibilità adeguati, è necessario assicurare una profondità di sequenziamento elevata, considerata un requisito essenziale per l'analisi su biopsia liquida.

Il *turnaround time* (TAT) rappresenta un ulteriore parametro rilevante nella pratica clinica. Le linee guida indicano un tempo massimo di circa due settimane tra il prelievo e la refertazione.

Infine, la fase post-analitica riveste un ruolo cruciale. Il referto deve tradurre il dato molecolare in un'informazione clinicamente utile, risultando chiaro, completo e facilmente interpretabile. In questo ambito, il gruppo PMMP della SIAPeC ha promosso iniziative di standardizzazione, proponendo modelli di referto che includono le informazioni essenziali: tecnologia utilizzata, limite di rilevazione (LOD), pannello genico analizzato, frazione allelica (VAF), parametri tecnici e classificazione delle varianti secondo scale di azionabilità, come l'ESMO Scale for *Clinical Actionability of molecular Targets* (ESCAT) (Buglioni, S, et al).



IL TESTING DELLE MUTAZIONI DI ESR1 IN REGIONE LOMBARDIA



IMPLEMENTAZIONE E ACCESSO AL TEST

Nella pratica clinica, uno dei principali quesiti riguarda la reale accessibilità al test per le mutazioni di *ESR1*, in particolare mediante biopsia liquida, e le modalità di rimborso. In Regione Lombardia, negli ultimi anni non sono emerse criticità rilevanti nella prescrizione ed esecuzione del test. Già a partire dalla fine del 2024 sono stati attivati tavoli tecnici dedicati, con l'obiettivo di definire le tecnologie da adottare e i percorsi di rimborsabilità, favorendo un'implementazione strutturata del testing nella pratica clinica. A livello nazionale la Legge di Bilancio 2026 (GU, Serie Generale, n. 301, 30 dicembre 2025, art. 340, comma b), ha previsto uno stanziamento complessivo di 238 milioni di euro in cinque anni per i test genomici, di cui una quota dedicata alla valutazione delle mutazioni di *ESR1*. (Figura n. 1) Questo intervento ha consentito di estendere l'accesso al test anche in contesti precedentemente più limitati, incluse le regioni soggette a vincoli di spesa, garantendo una maggiore uniformità

Figura 1

340. Al fine di potenziare le misure in materia di prevenzione collettiva e sanità pubblica, una quota del fabbisogno sanitario nazionale standard, pari a 238 milioni di euro annui a decorrere dall'anno 2026, è destinata al rafforzamento degli interventi nel settore, con particolare riferimento:

a) al potenziamento dello screening mammografico per il tumore della mammella, allo scopo di estenderlo alle donne di età compresa tra 45 e 49 anni e tra 70 e 74 anni;

b) all'estensione di test genomici su campioni di biopsia liquida necessari per l'individuazione delle mutazioni di *ESR1* nei casi di carcinoma mammario in stadio localmente avanzato o metastatico positivi per i recettori degli estrogeni (ER) e negativi per HER2, in progressione;

c) al potenziamento dello screening per il tumore del colon-retto, allo scopo di estenderlo alle persone di età compresa tra 70 e 74 anni;

d) alla profilazione genomica HRD del carcinoma sieroso di alto grado dell'ovaio in stadio avanzato;

Figura 1: Legge di Bilancio 2026 (GU, Serie Generale, n. 301, 30 dicembre 2025, art. 340,

IL TESTING DELLE MUTAZIONI DI ESR1 IN REGIONE LOMBARDIA



nell'accessibilità al test sul territorio nazionale. Circa la relazione fra test e linea di trattamento, l'AIFA (Agenzia Italiana del Farmaco) non ha posto limiti all'esecuzione del test per la ricerca delle mutazioni di *ESR1*.

In Regione Lombardia, sono state eseguite oltre 2.500 analisi per la ricerca delle mutazioni di *ESR1*. La percentuale di positività si attesta intorno al 28%, leggermente inferiore rispetto al 30-40% riportato negli studi clinici, ma coerente con la variabilità osservata nella pratica reale. Questa differenza può essere in parte spiegata dall'eterogeneità dei criteri di selezione delle pazienti e, in alcuni casi, dalla variabilità delle metodiche utilizzate.

Per favorire l'appropriatezza del testing, sono stati sviluppati strumenti condivisi, come schede di richiesta standardizzate, che includono informazioni cliniche essenziali quali linea di trattamento, timing del prelievo e metodica utilizzata, facilitando l'interpretazione del risultato e la sua integrazione nella pratica clinica.

Modulo richiesta biopsia liquida



ORGANIZZAZIONE E PRATICA CLINICA

In Regione Lombardia, il test di riferimento per la ricerca delle mutazioni di *ESR1* è rappresentato dalla biopsia liquida, generalmente richiesta alla progressione di malattia dopo terapia con inibitori delle cicline e inibitori dell'aromatasi. Dal punto di vista organizzativo, il modello regionale si basa su una rete hub-and-spoke: i prelievi possono essere effettuati nei centri sul territorio, nel rispetto delle procedure pre-analitiche, e successivamente inviati ai centri di riferimento dotati di piattaforme tecnologiche per gestire l'intero processo analitico. In alternativa, quando possibile, il/la paziente può essere indirizzato/a direttamente al centro di riferimento per l'esecuzione del prelievo.

Per quanto riguarda le tecnologie, nella pratica clinica prevale l'utilizzo di pannelli NGS, spesso integrati con Digital PCR, impiegata come metodica di conferma in condizioni specifiche, come nei casi caratterizzati da basso livello di ctDNA. L'utilizzo combinato delle due tecnologie consente di migliorare l'accuratezza diagnostica e

supportare le decisioni terapeutiche.

Nella routine clinica, la richiesta di test include frequentemente, oltre alle mutazioni di *ESR1*, anche *PIK3CA*, *PTEN* e *AKT*, e, in parallelo, la valutazione germinale di *BRCA1/2*. In questo contesto, è importante sottolineare come la richiesta di test germinale debba essere opportunamente indirizzata al genetista, in assenza di una chiara indicazione terapeutica. Inoltre, alcune alterazioni, come quelle a carico di *PTEN*, richiedono pannelli estesi da eseguire preferibilmente su campioni tissutali per essere adeguatamente rilevate.

ESPERIENZE REAL WORLD E CRITICITÀ

- In situazioni di oligoprogressione, caratterizzate da basso carico di malattia e ridotta quantità di ctDNA, il test su biopsia liquida può risultare falsamente negativo, rendendo necessario il retesting secondo le raccomandazioni delle linee guida. In questo contesto, l'indicazione al testing può risultare controversa, con approcci differenti tra i clinici.

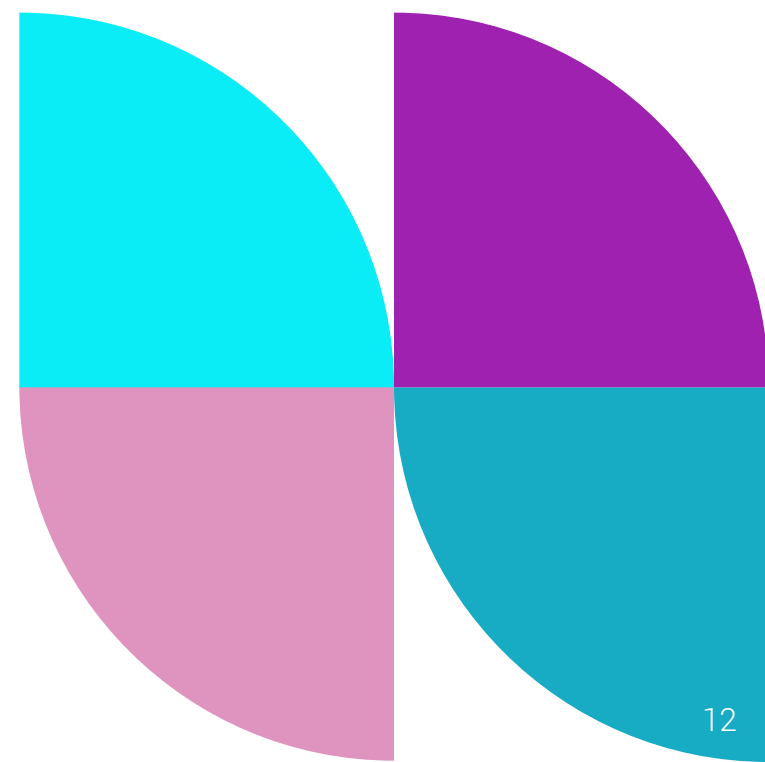
IL TESTING DELLE MUTAZIONI DI ESR1 IN REGIONE LOMBARDIA



- Un ulteriore aspetto riguarda l'ampiezza del pannello molecolare utilizzato. L'esperienza clinica ha evidenziato come un'analisi limitata alle sole mutazioni di ESR1 possa non essere sufficiente a identificare tutti i meccanismi di resistenza. In alcuni casi, l'estensione dell'analisi, anche su tessuto, ha consentito di individuare ulteriori alterazioni, come trascritti di fusione, con impatto diretto sulla strategia terapeutica. Quando è possibile, è dunque utile integrare l'analisi condotta con biopsia liquida con l'analisi tissutale, utilizzando pannelli in grado di individuare un numero adeguato di geni.
- Il turnaround time non è uniforme tra i diversi centri e può superare i tempi raccomandati, soprattutto nei contesti in cui il campione deve essere trasferito da un centro ad un altro.
- Anche il ruolo della *Variant Allele Fraction* (VAF) rimane oggetto di discussione, con approcci interpretativi eterogenei tra i clinici. È importante ricordare che l'efficacia dei

trattamenti, come dimostrato nello studio clinico EMERALD per elacestrant, non sembra dipendere dalla VAF, suggerendo che anche mutazioni presenti a basse frequenze possano avere rilevanza clinica (Bardia A et al., 2024).

L'elemento condiviso da tutti i centri è l'importanza del confronto multidisciplinare tra oncologi, anatomopatologi e biologi molecolari, fondamentale per l'ottimizzazione delle procedure diagnostiche, la corretta interpretazione dei risultati e per guidare le strategie terapeutiche.



KEY MESSAGES



- L'identificazione delle alterazioni molecolari rappresenta un passaggio fondamentale per ottimizzare il percorso diagnostico-terapeutico nel carcinoma mammario HR+/HER2-
- La profilazione molecolare a progressione di malattia è essenziale per intercettare meccanismi di resistenza acquisita e guidare le scelte terapeutiche.
- Il testing delle mutazioni di *ESR1* è raccomandato alla progressione clinica e radiologica dopo una prima linea di terapia endocrina e inibitori delle cicline.
- La biopsia liquida rappresenta il principale strumento per l'identificazione delle mutazioni di *ESR1* nella pratica clinica.
- Il timing del test è cruciale: il prelievo e la refertazione dovrebbero avvenire entro tempi compatibili con la decisione clinica (idealmente entro 10-14 giorni).
- La qualità del risultato dipende dalla corretta gestione delle fasi pre-analitica, analitica e post-analitica del processo diagnostico.
- L'organizzazione in reti hub-and-spoke consente di garantire standard elevati di qualità, appropriatezza e sostenibilità del testing.
- Pur in presenza di criticità, l'esperienza regionale dimostra che modelli organizzativi strutturati possono favorire una diffusione efficace della medicina di precisione.
- Il confronto multidisciplinare rappresenta un elemento chiave per integrare competenze diverse e migliorare l'efficacia del percorso diagnostico-terapeutico.



L'ALGORITMO DIAGNOSTICO E TERAPEUTICO DEL/LA PAZIENTE CON NEOPLASIA MAMMARIA METASTATICA HR+/HER2-



La gestione del carcinoma mammario metastatico HR+/HER2- è diventata progressivamente più complessa negli ultimi anni, grazie alla crescente disponibilità di nuove opzioni terapeutiche e all'evoluzione dei biomarcatori molecolari. Questo scenario è destinato a evolvere ulteriormente alla luce dei risultati degli studi clinici in corso.

È tuttavia importante ricordare gli obiettivi principali del trattamento nell'ambito più generale della malattia mBC:

l'aumento della sopravvivenza globale (OS, *overall survival*);

il controllo della malattia e il ritardo della sua progressione (PFS, *progression free survival*, sopravvivenza libera da progressione di malattia);

la gestione della tossicità e degli eventi avversi (AEs, *adverse effects*);

il mantenimento e miglioramento della qualità di vita

E forse è quest'ultimo punto a dare una pienezza di senso all'azione medica, e a riassumere i precedenti punti.

RESISTENZA, SENSIBILITÀ E REFRATTARIETÀ ALLA TERAPIA ENDOCRINA



Nel carcinoma mammario metastatico HR+/HER2-, una distinzione utile per comprendere il razionale delle varie scelte terapeutiche, è rappresentata dal grado di sensibilità alla terapia endocrina. In particolare, è possibile distinguere tre condizioni principali: 1) l'endocrino-resistenza; 2) l'endocrino-sensibilità; 3) l'endocrino-refrattarietà (o malattia endocrino non-sensibile):

1. l'endocrino-resistenza può essere classificata in due forme:

- di tipo primario, quando il/la paziente con mBC va in progressione entro i primi 6 mesi (≤ 6 m) di trattamento endocrino di 1L, oppure nella malattia *early-stage* recidiva entro 2 anni dall'avvio del trattamento adiuvante;
- di tipo **secondario (acquisito)**, quando la malattia progredisce dopo 6 mesi (>6 m) di trattamento endocrino di 1L, oppure recidiva dopo i primi 2 anni dall'avvio del trattamento adiuvante, oppure recidiva entro 12 mesi dal completamento del

trattamento in adiuvante, e spesso in associazione alla comparsa di mutazioni di ESR1 (Cardoso F. et al., 2018, Hartkopf A et al., 2020);

2. l'endocrino-sensibilità definisce invece la malattia HR+ metastatica de novo o la recidiva che si manifesta a distanza di almeno 12 mesi dal completamento della terapia endocrina adiuvante;

3. l'endocrino-refrattarietà è un concetto introdotto più recentemente, e identifica una progressione precoce, entro i primi 2 mesi dall'inizio dell'ultima linea di trattamento endocrino (*later line*). In questi casi, la probabilità di beneficio da ulteriori trattamenti endocrini è limitata, e può essere necessario considerare strategie terapeutiche alternative. (cfr. studi clinici EMERALD, SERENA-2, e DESTINY).

L'introduzione degli inibitori delle chinasi ciclina-dipendenti 4/6 (CDK4/6) ha profondamen-

te modificato l'approccio terapeutico in prima linea per le pazienti mBC HR+/HER2-, dimostrando un beneficio significativo rispetto alla chemioterapia anche in pazienti con malattia aggressiva, coinvolgimento viscerale o rapida progressione, come evidenziato dagli studi ABIGAIL e RIGHT-CHOICE. Sulla base di queste evidenze, la combinazione di terapia endocrina e inibitori di CDK4/6 rappresenta oggi lo standard di trattamento in prima linea anche nelle pazienti con alto carico di malattia.

Alla progressione, le linee guida ESO-ESMO (ABC5) (Cardoso et al. 2025) raccomandano una rivalutazione biologica della malattia mediante biopsia, al fine di confermare le caratteristiche istologiche, rivalutare le caratteristiche biologiche (ER e PgR; HER2) e identificare eventuali biomarcatori predittivi ESCAT1, tra cui le mutazioni di *PIK3CA*, *BRCA1/2* ed *ESR1* per i quali c'è un'indicazione terapeutica sulla base dei risultati raggiunti dagli studi registrativi (de Azambuja et al. 2026).

LA PRIMA LINEA DI TRATTAMENTO

Nelle pazienti con malattia endocrino-sensibile, inclusi i casi de novo metastatici, la prima linea di trattamento prevede l'utilizzo degli inibitori delle chinasi ciclina-dipendenti 4/6 (CDK4/6), quali palbociclib (studi clinici di fase 2 PALOMA-1 e di fase 3 PALOMA-2), ribociclib (studi clinici di fase 3 MONALEESA-2 e MONALEESA-3), e abemaciclib (Studio clinico di fase 3 MONARCH 3), in combinazione con inibitori dell'aromatasi (letrozolo o anastrozolo). (Finn RS et al., 2016) (Living ESMO 2023) (AIOM Linee Guida 2023). Questi approcci hanno dimostrato un significativo beneficio in termini di sopravvivenza libera da progressione (PFS) e, in alcuni studi, anche di sopravvivenza globale (OS), diventando l'attuale standard of care (SoC) nella pratica clinica. Nel caso di malattia endocrino-resistente, sono indicati i trattamenti con palbociclib (PALOMA-3), o ribociclib (MONALEESA-3) o abemaciclib (MONARCH-2) in combinazione con il fulvestrant (Slamon DJ et al., 2018) (Turner NC et al., 2018) (Sledge GW et al., 2019).

I tre inibitori di CDK4/6 attualmente disponibili hanno dimostrato un'efficacia comparabile in termini di PFS, con differenze principalmente

legate ai profili di tossicità e all'impatto sulla sopravvivenza globale. La scelta dell'agente deve pertanto essere personalizzata, tenendo conto delle caratteristiche cliniche della paziente, del carico di malattia e della tollerabilità del trattamento. In aggiunta, la scelta può avvalersi di alcune metriche e metodiche di valutazione della magnitudo del beneficio clinico (cfr. LHH, *The Likelihood of being helped or harmed*) (Mastrantoni L et al 2023) fondate sull'analisi della PFS e dell'OS, e sulla tollerabilità della terapia.

In presenza di alterazioni del pathway *PI3K/AKT/PTEN*, sono disponibili o in sviluppo diverse strategie terapeutiche mirate.

La combinazione di capivasertib e fulvestrant, approvata da EMA sulla base dei risultati dello studio di fase 3 CAPItello-291 (Turner NC et al., 2023), rappresenta un'opzione terapeutica nelle linee successive, mentre studi in corso, come il CAPItello-292 (ClinicalTrials.gov ID NCT04862663), ne stanno valutando l'impiego anche in prima linea.

Un'altra opzione è rappresentata dalla combinazione di alpelisib e fulvestrant, approvata sulla base dello studio SOLAR-1 (André F et al., 2021), nelle pazienti con mutazione di *PIK3CA*.

Tra le strategie emergenti, la tripla combinazione di inavolisib, palbociclib e fulvestrant (studio INAVO-120) ha mostrato risultati promettenti (Jhaveri KL, et al. 2025) e potrebbe rappresentare una opzione terapeutica per le pazienti endocrino-resistenti con mutazione di *PIK3CA*.



LA SECONDA LINEA DI TRATTAMENTO



La seconda linea di trattamento del carcinoma mammario metastatico HR+/HER2-, è guidata dal profilo molecolare della malattia. Nelle pazienti in progressione dopo terapia endocrina in combinazione con inibitori di CDK4/6, è fondamentale valutare lo stato mutazionale di *ESR1*, *PIK3CA* e *BRCA1/2*, al fine di orientare la strategia terapeutica successiva. In presenza di mutazioni di *ESR1*, elacestrant rappresenta un'opzione terapeutica efficace in monoterapia, avendo dimostrato nello studio EMERALD una significativa riduzione del rischio di progressione (studio clinico EMERALD, citato: -45% rischio di progressione della malattia).

Nelle pazienti con alterazioni del pathway *PI3K/AKT/PTEN*, possono essere impiegate strategie mirate, tra cui la combinazione di capivasertib e fulvestrant, sulla base dei risultati dello studio CAPItello-291 (studio clinico CAPItello-291: -50% rischio di progressione della malattia); in presenza di mutazione di *PIK3CA*, un'ulteriore opzione è rappresentata dalla combinazione di alpelisib e fulvestrant (studio SOLAR-1).

Nei casi con mutazioni germinali di *BRCA1/2*,

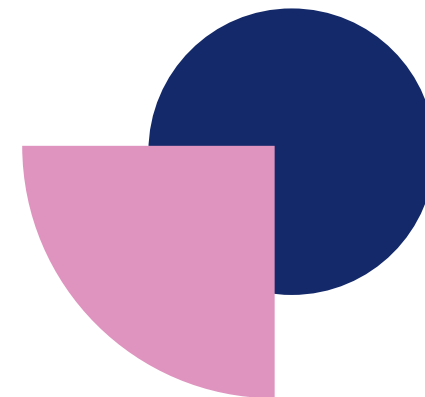
gli inibitori di PARP, quali olaparib e talazoparib, rappresentano un'alternativa terapeutica efficace, con un beneficio significativo in termini di controllo di malattia (studio clinico OlympiAD: 42% (Robson M, et al.2019) di riduzione del rischio progressione della malattia; studio clinico EMBRACA: 46% (Litton JK, et al, 2016) di riduzione del rischio di progressione della malattia);

In assenza di alterazioni molecolari targettabili, è possibile considerare ulteriori opzioni endocrine, come la combinazione di everolimus ed exemestane (studio BOLERO-2), tenendo conto del profilo clinico della paziente e della tollerabilità del trattamento.

Un aspetto rilevante nella gestione della seconda linea riguarda il ruolo dinamico del testing. La frequenza delle mutazioni di *ESR1* aumenta con il progredire della malattia, riflettendo l'evoluzione clonale sotto pressione terapeutica. Per questo motivo, in caso di negatività iniziale, è raccomandato ripetere il test alle successive progressioni, al fine di ampliare le opzioni terapeutiche disponibili, laddove

ritenuta clinicamente indicata una possibile ulteriore linea di endocrinoterapia.

Dal punto di vista della tollerabilità, le diverse opzioni terapeutiche presentano profili differenti. Elacestrant ha mostrato una buona tollerabilità nella pratica clinica, e negli studi clinici non è stato necessario ridurre la dose o discontinuare il farmaco per eventuali AEs. Nelle combinazioni sopra indicate, alpelisib ha mostrato una maggiore tossicità, in particolare iperglicemia e diarrea, che possono condizionare la continuità del trattamento. Questo aspetto contribuisce, nella pratica clinica, a orientare la scelta verso alternative meglio tollerate, come gli inibitori della via AKT.



IL TRATTAMENTO DELLA MALATTIA ENDOCRINO NON-SENSIBILE



Nelle pazienti con malattia endocrino non-sensibile, o non più candidabili a ulteriori trattamenti endocrini, e in assenza di biomarcatori targettabili, l'approccio terapeutico si orienta verso la chemioterapia o, più recentemente, verso l'utilizzo degli antibody-drug conjugates (ADC). Gli ADC rappresentano una classe innovativa di farmaci che combinano un anticorpo monoclonale con un agente citotossico, consentendo un rilascio selettivo del

farmaco direttamente nelle cellule tumorali e dimostrando un beneficio in termini di efficacia rispetto alla chemioterapia tradizionale.

Tra le opzioni disponibili, trastuzumab deruxtecan (T-DXd) ha dimostrato un beneficio significativo (studi DESTINY-Breast04 - Modi S, et al. 2022 e DESTINY-Breast06) nelle pazienti con carcinoma mammario metastatico HER2-low e ultra-low già trattate con terapia

endocrina e chemioterapia. Analogamente, sacituzumab govitecan, diretto contro il target TROP2, ha mostrato un miglioramento degli outcome (studio TROPICS-02 - Rugo HS, et al. 2023) in un setting clinico simile.

Questi dati hanno ridefinito il ruolo della chemioterapia nelle fasi avanzate della malattia, introducendo opzioni terapeutiche più efficaci e meglio tollerate.



CONCLUSIONE: GLI UNMET NEED E LE QUESTIONI APERTE



La scelta della migliore strategia terapeutica per il/la paziente può risultare ancora oggi una decisione estremamente complessa, nonostante le migliori conoscenze sui meccanismi biologici del BC, la disponibilità di farmaci innovativi, e la presenza di protocolli ben definiti e percorsi diagnostici ben strutturati, già attivi nei centri di riferimento lombardi. Il percorso comune che si sta delineando, va sempre di più verso una medicina, personalizzata, che consideri la condizione reale e le preferenze del/la singola paziente. Tuttavia, rimangono alcuni *unmet need* e questioni aperte, qui di seguito sinteticamente riassunte, che potranno/dovranno essere affrontate e gestite anche grazie alla ricerca scientifica e al confronto aperto fra specialisti sanitari e decisori politici.

1. Algoritmo terapeutico.

La scelta della terapia più appropriata deve essere fondata: a) sulle evidenze degli studi, b) sulla condizione real-world del/la paziente – che spesso presenta comorbidità non rappresentate negli studi clinici, ma che l'oncologo deve gestire nella pratica clinica; c) sulle preferenze del/la paziente, e sul mantenimento/miglioramento

della sua qualità della vita; d) sul confronto fra specialisti, sia all'interno del gruppo multidisciplinare o *breast unit* del centro, sia fra centri diversi, in una rete nazionale e/o internazionale.

2. Terapia personalizzata.

Se dunque il/la paziente deve essere il focus della scelta terapeutica - nella sua individualità e unicità - la scelta da parte dell'oncologo clinico non può essere generalizzata, e va operata anche sulla base dei dati che riguardano la singola persona: come sta de *facto* il/la paziente; com'è andato e quanto è durato il trattamento in 1L; il carico e le sedi di malattia; come si è evoluta la malattia; i desideri del/della paziente. Spesso gli studi hanno come endpoint la PFS, e non l'OS, ma scegliere un determinato farmaco perché ha mostrato nello studio una migliore PFS, può non impattare sulla sopravvivenza globale del/la paziente, né sulla sua qualità di vita.

3. Timing del test. Il test per individuare le mutazioni di *ESR1* (su biopsia liquida, secondo indicazione dello studio clinico EMERALD) va eseguito a progressione radiologica accertata (tramite TC) dalla 1L (entro due settimane, se-

condo LG). Tuttavia, gli studi clinici SERENA-4 e SERENA-6 (Bidard FC et al., 2025) anticipano il test prima della progressione clinica, con l'obiettivo di provare un vantaggio in termini di PFS. Ad oggi mancano ancora dati sufficientemente solidi perché l'anticipazione del test venga introdotta nella pratica clinica, ma si tratta di un dato in evoluzione, e di un'opportunità futura per il clinico e per i/le pazienti selezionati, ma su cui occorrerà fare una riflessione in termini di praticabilità clinica e *cost-effectiveness*.

Analogamente, anche il test per *PTK3CA* verrà anticipato in 1L con l'approvazione di inavolisib, attesa anche in Italia (Studio clinico INAVO120), dopo quella già avvenuta da parte di EMA (*European Medicines Agency*) lo scorso luglio 2025.

4. Scelte terapeutiche in presenza di multipli target molecolari. In presenza di più alterazioni target molecolari, la priorità terapeutica non è sempre definita. Le mutazioni germinali di *BRCA1/2* rappresentano un target ben consolidato di risposta (e non di resistenza) e, anche in presenza di alterazioni in altri geni ESCAT I, orientano la scelta, almeno inizialmente, sul PARP inibitore.

CONCLUSIONE: GLI UNMET NEED E LE QUESTIONI APERTE



In altri contesti, come la presenza concomitante di *ESR1* e altre mutazioni, la scelta terapeutica può risultare più complessa per l'assenza di dati solidi sulle sequenze ottimali. (Jackson EB et al., 2023). Se confermata la presenza di *ESR1* mutato, soprattutto in presenza di comorbidità, l'opzione terapeutica prevalente ricade su elacestrant.

5. Il/La paziente fragile.

Nel/la paziente in progressione, la scelta di proseguire con un trattamento endocrino, in monoterapia o in associazione con i farmaci target, deve emergere da una valutazione clinica del paziente: quali e quante comorbidità; il tipo e la durata del trattamento precedente, la sua qualità di vita, sono tutti fattori che impattano sulla scelta del medico, perché c'è una differenza fra una terapia endocrina in monoterapia, o in combinazione con un farmaco target che sicuramente presenterà una maggiore tossicità da gestire, e che va attentamente considerata. Il tema dell'impatto clinico, con la somministrazione di elacestrant in monoterapia rispetto a un trattamento in combinazione, e.g. capivasertib + fulvestrant (studio clinico CAPItello-291),

andrà valutato in base al vantaggio clinico caso per caso.

Tuttavia, la decisione di proseguire con una mono-endocrino terapia, come un tempo accadeva con il fulvestrant, può costituire un'opzione valida anche nel/la paziente giovane, perché la terapia è gestibile, permette di mantenere una buona qualità di vita, e ha il vantaggio della somministrazione orale.

6. Ormonoterapia o Chemioterapia? La scelta tra terapia endocrina e chemioterapia nelle fasi di progressione rimane spesso oggetto di discussione, soprattutto nei casi con coinvolgimento viscerale. In assenza di crisi viscerale, le terapie endocrine rimangono un'opzione valida anche in presenza di malattia epatica, inclusi i casi con mutazione di *ESR1*, con un follow up ravvicinato.

Metastasi epatiche e viscerali si osservano infatti frequentemente nei/nelle pazienti con mutazioni di *ESR1* (Wu Y et al., 2024) (Yoon SM et al., 2024) (nello studio EMERALD, ca. il 70%), e non rappresentano una condizione di esclusione al trattamento.

7. VAF. Il significato clinico della *Variant Allele Fraction* (VAF) è ancora oggetto di dibattito e non esistono soglie condivise per guidare le decisioni terapeutiche. È importante ricordare che l'efficacia dei trattamenti, come dimostrato nello studio EMERALD per elacestrant, non sembra dipendere dalla VAF, suggerendo che anche mutazioni presenti a basse frequenze possano avere rilevanza clinica (Bardia A et al., 2024).

8. Sequenze. In assenza di dati solidi, e nel rispetto delle indicazioni/limitazioni di AIFA, diventa ancora più importante studiare e mettere a punto una sequenza terapeutica che si modifichi sulla base dell'evoluzione della malattia stessa.

Una quota significativa di pazienti, infatti, non accede a linee successive di trattamento, rendendo cruciale garantire l'accessibilità tempestiva ai test predittivi e l'utilizzo tempestivo delle opzioni terapeutiche disponibili.

Oggi, a fronte della crescente disponibilità di valide alternative terapeutiche, l'ottimizzazione della strategia di sequenza resta una questione aperta e una delle principali sfide (Jackson EB et al., 2023).

Bibliografia

Andr  F, Ciruelos EM, Juric D et al. (2021). Alpelisib plus fulvestrant for PIK3CA mutated, hormone receptor positive, human epidermal growth factor receptor-2-negative advanced breast cancer: final overall survival results from SOLAR-1. *Ann Oncol*; 31(2):208-17.

AIOM, SNLG - Sistema Nazionale Linee Guida dell'Istituto Superiore di Sanit  (2023). Linea Guida Carcinoma mammario avanzato, Roma, 16 ottobre 2023. www.aiom.it/linee-guida-aiom-2023-carcinoma-mammario-avanzato

Angerilli V, Galuppini F, Pagni F, et al. (2021). The Role of Pathologist in the Next-Generation Era of Tumor Molecular Characterization. *Diagnostics*; 11:339.

ASCO Clinical Practice Guidelines. Breast Cancer. 2025 e 2024 Updates. www.ascopubs.org

Bardia A, Cortés J, Bidard F-C, et al. (2024). Elacestrant in ER+, HER2 – Metastatic Breast Cancer with ESR1-Mutated Tumors: subgroup Analyses from the Phase III EMERALD Trial by Prior Duration of Endocrine Therapy plus CDK4/6 Inhibitor and in Clinical Subgroups. *Clin Cancer Res*; 30(19):4299-4309.

Bardia A, Kaklamani V, Wilks S et al. (2021). Phase I Study of Elacestrant (RAD1901), a Novel Selective Estrogen Receptor Degradar, in ER-Positive, HER2-Negative Advanced Breast Cancer. *J Clin Oncol*; 39(12):1360-70.

Bardia A, Su Fei, Solovieff N et al. (2021). Genomic Profiling of Premenopausal HR+ and HER2-Metastatic Breast Cancer by Circulating Tumor DNA and Association of Genetic Alterations With Therapeutic Response to Endocrine Therapy and Ribociclib. *JCO Precis Oncol* 4; 5:1408-1420.

Bardia A, Hu X, Dent R, Yonemori K, Barrios CH, O'Shaughnessy JA, Wildiers H, Pierga JY, Zhang Q, Saura C, Biganzoli L, Sohn J, Im SA, Lévy C, Jacot W, Begbie N, Ke J, Patel G, Curigliano G; DESTINY-Breast06 Trial Investigators. Trastuzumab Deruxtecan after Endocrine Therapy in Metastatic Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2024 Dec 5;391(22):2110-2122. doi: 10.1056/NEJMoa2407086. Epub 2024 Sep 15. PMID: 39282896.

Baselga J, Campone M, Piccart M, Burris HA 3rd, Rugo HS, Sahmoud T, Noguchi S, Gnant M, Pritchard KI, Lebrun F, Beck JT, Ito Y, Yardley D, Deleu I, Perez A, Bachelot T, Vittori L, Xu Z, Mukhopadhyay P, Lebwohl D, Hortobagyi GN. Everolimus in postmenopausal hormone-receptor-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med*. 2012 Feb 9;366(6):520-9. doi: 10.1056/NEJMoa1109653. Epub 2011 Dec 7. PMID: 22149876; PMCID: PMC5705195.

Baek SY, Hong M, Lee S et al. (2026). Serial analysis of ESR1 mutations in cell-free DNA from hormone receptor-positive, HER2-negative metastatic breast cancer during palliative endocrine therapy. *Front Oncol*; 15:1709317.

Betz M, Massard V, Gilson P et al. (2023) ESR1 Gene Mutations and Liquid Biopsy in ER-Positive Breast Cancers: A small Step Forward, a Giant Leap for Personalization of Endocrine Therapy. *Cancers (Basel)*; 15(21):5169.

Bhave M, Quintanilha JCF, Tukachinsky HM et al. (2024). Comprehensive genomic profiling of ESR1, PIK3CA, AKT1, and PTEN in HR+HER2- metastatic breast cancer: prevalence along treatment course and predictive value for endocrine therapy resistance in real-world practice. *Breast Cancer Res Treat*; 207(3):599-609.

Bidard FC, Mayer EL, Park YH, et al. (2025). First-Line Camizestran for Emerging ESR1-Mutated Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med*; 393(6):569-580.

Bidard FC, Kaklamani VG, Neven P et al. (2022). Elacestrant (oral selective estrogen receptor degrader) Versus Standard Endocrine Therapy for Estrogen Receptor-Positive, Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Negative Advanced Breast Cancer: Results From the randomized Phase III EMERALD Trial. *J Clin Oncol*; 40(28):3246-56.

Borkar S, Markus F, Oetting A et al. (2025). Detection of ESR1 Mutations in Tissue and Liquid Biopsy with Novel Next-Generation Sequencing and Digital Droplet PCR Assays: Insights from Multi-Center Real Life Data of almost 6000 Patients. *Cancers (Basel)*; 17(8):10.3390.

Buglioni, S., et al. *Pathologica - Journal of the Italian Society of Anatomic Pathology and Diagnostic Cytopathology*, 117(2 (Suppl. 1). Retrieved from <https://www.pathologica.it/article/view/1217>

Cardoso F, Paluch-Shimon S, Senkus E et al. (2020). 5th ESO-ESMO international consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC 5). *Ann Oncol*; 31(12):1623-1649.

Cardoso F, Senkus E, Costa A, et al. (2018). 4th ESO-ESMO International Consensus Guidelines for Advanced Breast Cancer (ABC4). *Ann Oncol*; 29(8):1634-1657.

Clusan L, Ferri re F, Flouriot G, Pakdel F (2023). A Basic Review on Estrogen Receptor Signaling Pathways in Breast Cancer. *Int J Mol Sci*; 24(7):6834.

Bibliografia

Criscitiello C, Guerini-Rocco E, Viale G et al. (2022). Immunotherapy in Breast Cancer Patients: A Focus on the Use of the Currently Available Biomarkers in Oncology. *Anti-Cancer Agents in Medicinals Chemistry*; 22(4):787-800.

Curigliano G., Castelo-Branco, Gennari A et al. (2023) ESMO Metastatic Breast Cancer Living Guideline. *Living Guidelines*, v1.1.

<https://www.esmo.org/living-guidelines/esmo-metastatic-breast-cancer-living-guideline>

Dandachi N. Posch F, Graf R et al. (2020). Longitudinal tumor fraction trajectories predict risk of progression in metastatic HR+ breast cancer patients undergoing CDK4/6 treatment. *Molecular Oncol*; 15(9):2390-2400.

El Sayed R, El Jamal L, El Iskandarani et al (2019). Endocrine and Targeted Therapy for Hormone-Receptor-Positive, HER2-Negative Advanced Breast Cancer: Insights to Sequencing Treatment and Overcoming Resistance Based on Clinical Trials. *Front Oncol*; 9:510.

Finn RS, Martin M, Rugo HS, et al. (2016). Palbociclib and Letrozole in Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med*; 375(20):1925-1936.

Folta A, Sedeno Cortes A, Gupta P et al. (2025). Imprecision medicine: Systematic gaps in reporting variant of uncertain significance (VUS) and their reclassifications. *Genet Med*; 27(9): 10.1016.

Fusco N, Prunerì G, Pagni F & Malapelle U (2025). Molecular Testing in Solid Tumors: Best Practices from the Molecular Pathology and Precision Group of the Italian Society of Pathology (PMMP/SIAPeC). *Pathologica*; 117(2) Suppl.1:S1-S4.

Guerini-Rocco E, Venetis K, Bessi S et al. (2025). Guidelines, Part II. *Pathologica*; 117 (2) - suppl.1: S18-S35.

Guerini-Rocco E, Venetis K, Cursano G et al. (2024) Standardized molecular pathology workflow for ctDNA-based ESR1 testing in HR+/HER2-metastatic breast cancer. *Critic Rev in Oncol/Hemat* (Elsevier); 201.

Guerini-Rocco E, Bellerba F, Concardi A et al. (2024). Expression of immune-related genes and breast cancer recurrence in women with ductal carcinoma in situ. *Eur J Cancer*; 203:114063

Guttery DS, Page K, Hills A et al. (2015). Noninvasive detection of activating estrogen receptor 1 (ESR1) mutations in estrogen receptor-positive metastatic breast cancer. *Clin Chem*; 61(7):974-82.

Hartkopf AD, Grische E-M, Brucker SY (2020). Endocrine-Resistant Breast Cancer: Mechanism and Treatment. *Breast Care (Basel)*; 15(4):347-354.

Jackson EB, Chia SKL (2023). Sequencing of Endocrine and Targeted Therapies in Hormone-Sensitive, Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Negative Advanced Breast Cancer. *J Clin Oncol*; 41(24):3976-3983.

Jager A, de Vries EGE, der Houven van Oordt CWM et al. (2020). A phase 1b study evaluating the effect of elacestrant treatment on estrogen receptor availability and estradiol binding to the estrogen receptor in metastatic breast cancer lesions using 18F-FES PET/CT imaging. *Breast Cancer Res*; 22(1):97.

Jhaveri KL, Im SA, Saura C, Loibl S, Kalinsky K, Schmid P, Loi S, Thanopoulou E, Shankar N, Jin Y, Stout TJ, Clark TD, Song C, Juric D, Turner NC. Overall Survival with Inavolisib in PIK3CA-Mutated Advanced Breast

Cancer. *N Engl J Med*. 2025 Jul 10;393(2):151-161. doi: 10.1056/NEJMoa2501796. Epub 2025 May 31. PMID: 40454641.

Litton JK, Rugo HS, Ettl J, Hurvitz SA, Gonçalves A, Lee KH, Fehrenbacher L, Yerushalmi R, Mina LA, Martin M, Roché H, Im YH, Quek RGW, Markova D, Tudor IC, Hannah AL, Eiermann W, Blum JL. Talazoparib in Patients with Advanced Breast Cancer and a Germline BRCA Mutation. *N Engl J Med*. 2018 Aug 23;379(8):753-763. doi: 10.1056/NEJMoa1802905. Epub 2018 Aug 15. PMID: 30110579; PMCID: PMC10600918.

Maloberti T, Poppi L, Ciccimara G et al. (2025). ESR1 analysis of liquid biopsy in breast cancer, one year routine experience of an Italian clinical referral center. *J Liq Biopsy*; 10:100331.

Martella S, Cusumano G, Senevirathne TH, et al. (2025). Evolutionary Overview and Future Perspectives: ESR1 Mutations, Liquid Biopsy, and Artificial Intelligence for a New Era of Personalized Medicine in ER+ Breast Cancer. *Mol Diagn Ther*; 29(6):773-787.

Modi S, Jacot W, Yamashita T, Sohn J, Vidal M, Tokunaga E, Tsurutani J, Ueno NT, Prat A, Chae YS, Lee KS, Niikura N, Park YH, Xu B, Wang X, Gil-Gil M, Li W, Pierga JY, Im SA, Moore HCF, Rugo HS, Yerushalmi R, Zagouri F, Gombos A, Kim SB, Liu Q, Luo T, Saura C, Schmid P, Sun T, Gambhire D, Yung L, Wang Y, Singh J, Vitazka P, Meinhardt G, Harbeck N, Cameron DA; DESTINY-Breast04 Trial Investigators. Trastuzumab Deruxtecan in Previously Treated HER2-Low Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2022 Jul 7;387(1):9-20. doi: 10.1056/NEJMoa2203690. Epub 2022 Jun 5. PMID: 35665782; PMCID: PMC10561652.

Bibliografia

de Azambuja E, Barrios CH, Bartsch R, Curigliano G, Dent R, Gennari A, Loi S, Paluch-Shimon S, Pistilli B, Saura C, Schmid P, Spanic T, Toi M, Tolaney SM, Harbeck N; ESMO Guidelines Committee. Electronic address: clinicalguidelines@esmo.org. Metastatic breast cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up†. *Ann Oncol*. 2026 Dec 31:S0923-7534(26)00902-6. doi: 10.1016/j.annonc.2026.05.707. Epub ahead of print. PMID: 42217581.

NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Breast cancer. Version 8.2021 (2021) www.nccn.org

Pagliuca M, Donato M, Lagodin D'Amato A et al. (2022). New steps on an old path: Novel estrogen inhibitors in breast cancer. *Critic Rev in Oncol/Hematol* (Elsevier); 180:103861.

Raheem F, Arunachalam Karikalan S., Batalini F et al. (2023) Metastatic ER+ Breast Cancer: Mechanisms of Resistance and Future Therapeutic Approaches. *Int J of Molecular Sciences*.

Reinert T, de Paula B, Shafee MN, et al (2018). Endocrine therapy for ER-positive/HER2-negative metastatic breast cancer. *Chin Clin Oncol*; 7(3):25.

Reinert T, Saad Ed, Barrios CH et al. (2017). Clinical Implications os ESR1 mutations in hormone receptor-positive advanced breast cancer. *Front Oncol*; 7:26.

Robson M, et al. *N Engl J Med*. 2017;377(6):523–533.

Robson M, et al. *Ann Oncol*. 2019;30(4):558–566.

Rugo HS, Bardia A, Marmé F, Cortés J, Schmid P, Loirat D, Trédan O, Ciuelos E, Dalenc F, Gómez Pardo P, Jhaveri KL, Delaney R, Valdez T, Wang H, Motwani M, Yoon OK, Verret W, Tolaney SM. Overall survival with sacituzumab govitecan in hormone receptor-positive and human epidermal growth factor receptor 2-negative metastatic breast cancer (TROPI-CS-02): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. *Lancet*. 2023 Oct 21;402(10411):1423-1433. doi: 10.1016/S0140-6736(23)01245-X. Epub 2023 Aug 23. PMID: 37633306.

Slamon DJ, Neven P, Chia S et al. (2018) Phase III Randomized Study of Ribociclib and Fulvestrant in Hormone Receptor-Positive, Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Negative Advanced Breast Cancer: MONALEESA-3. *J Clin Oncol*; 36(24):2465-2472.

Sledge GW, Toi M, Neven P et al. (2019). The Effect of Abemaciclib Plus Fulvestrant on Overall Survival in Hormone Receptor-Positive, ERB-2-Negative Breast Cancer that Progressed on Endocrine Therapy- MONARCH 2. *Jama Oncol*; 6(1):116-124.

Tolaney SM, Punie K, Carey LA, et al. (2024). Real-world treatment patterns and outcomes in patients with HR+/HER2- metastatic breast cancer treated with chemotherapy in the United States. *ESMO Open*; 9(9):103701

Turner NC, Im SA, Saura C et al. (2024). Inavolisib-based therapy in PIK3CA-mutated advanced breast cancer. *N Engl J Med*; 391(17):1584-96.

Turner NC, Oliveira M, Howell SJ et al. (2023). Capivasertib in hormone receptor-positive advanced breast cancer. *N. Engl J Med*; 388(22):2058-70

Turner NC, Slamon DJ, Ro J et al. (2018). Overall Survival with palbociclib and Fulvestrant in Asdvanced Breast Cancer. *N Engl J Med*; 379(20):1926-1936.

Venetis K, Cursano G, Scafetta R, ...Guerini-Rocco E, et al. (2025). ESR1 testing on FFPE samples from metastatic lesions in HR+/HER2- breast cancer after progression on CDK4/6 inhibitor therapy. *Breast Cancer Res*; 27(1):79.

Venetis K, Pepe F, Pescia C, Guerini-Rocco E, et al. (2023). ESR1 mutations in HR+/HER2- metastatic breast cancer: Enhancing the accuracy of ctDNA testing. *Cancer Treat Rev*; 121:102642.

Westenend PJ, Meurs CJC, de Leeuw B, Akkers RC (2024) Estrogen-Receptor Loss and ESR1 Mutation in Estrogen-Receptor-Positive Metastatic Breast Cancer. *Cancers*; 16(17):3025.

Wu Y, Li Z, Lee AV et al. (2024) Liver tropism of ER mutant breast cancer is characterized by unique molecular changes and immune infiltration. *Breast Cancer Res Treat*; 205(2): 371-86.

Yoon S & Bazan JG (2024). Navigating Breast Cancer Oligometastasis and Oligoprogression: Current Landscape and Future Directions. *Curr Oncol Rep*; 26:647-664.

ALLEGATI



EMERALD, studio clinico di fase 3, internazionale (17 paesi), multicentrico (228 siti), in aperto, randomizzato 1:1, era finalizzato a valutare: 1) la sicurezza del trattamento con elacestrant (400mg al giorno) rispetto al trattamento standard (SoC, standard of care) scelto dallo sperimentatore (fulvestrant raccomandato in pazienti che non avevano ricevuto fulvestrant in precedenza; anastrozolo; letrozolo; exemestane) in 478 pazienti incluse/i nel trial, con a/m BC ER+, HER2- in progressione dopo una o due linee di terapia endocrina per malattia avanzata, di cui una in combinazione con gli inibitori di CDK4/6, e 2) l'efficacia in pazienti con ESR1 mutato. I criteri di stratificazione erano il trattamento precedente con fulvestrant; la presenza di ESR1; la presenza di metastasi viscerali.

Lo studio ha raggiunto gli **endpoint primari** della PFS nei pazienti con ESR1 mutato e ITT (intention-to-treat), valutata da BICR, dimostrando la superiorità del trattamento con elacestrant rispetto alla terapia standard in pazienti con a/mBC HR+, HER2- a seguito di terapia con gli inibitori di CDK4/6. Nella coorte con ESR1 mutato la riduzione del rischio di progressione della malattia o morte è stata a 6 mesi del 40,8% rispetto al 19,1% del braccio SOC, e a 12 mesi del 26,8% vs. l'8,2%.

Gli **endpoint secondari** erano l'OS nelle coorti di pazienti con ESR1 mutato (la mediana è stata di 24,2 mesi con elacestrant rispetto a 23,5 mesi con SOC) e ITT; la PFS e l'OS in pazienti senza ESR1 mutato; la PFS secondo lo sperimentatore; l'ORR, la DOR, la CBR; e la sicurezza/tollerabilità del farmaco.

Circa il tasso di **beneficio clinico** complessivo a 24 settimane, è stato del 18,4% nei/le pazienti trattati con elacestrant, rispetto al 13,5% nei/le pazienti trattate con la SOC. A un'analisi della PFS per sottogruppi, la superiorità di elacestrant sugli inibitori della chinasi 4/6 ciclina-dipendenti e su fulvestrant è risultata evidente.

Gli **AEs** osservati erano simili a quelli di altre terapie endocrine, e gestibili: i più frequenti AEs sono stati la nausea, la stanchezza (fatigue), il vomito, l'inappetenza e l'artralgia; il 6,3% dei pazienti ha discontinuato il trattamento, e non si sono verificate morti correlate al trattamento.

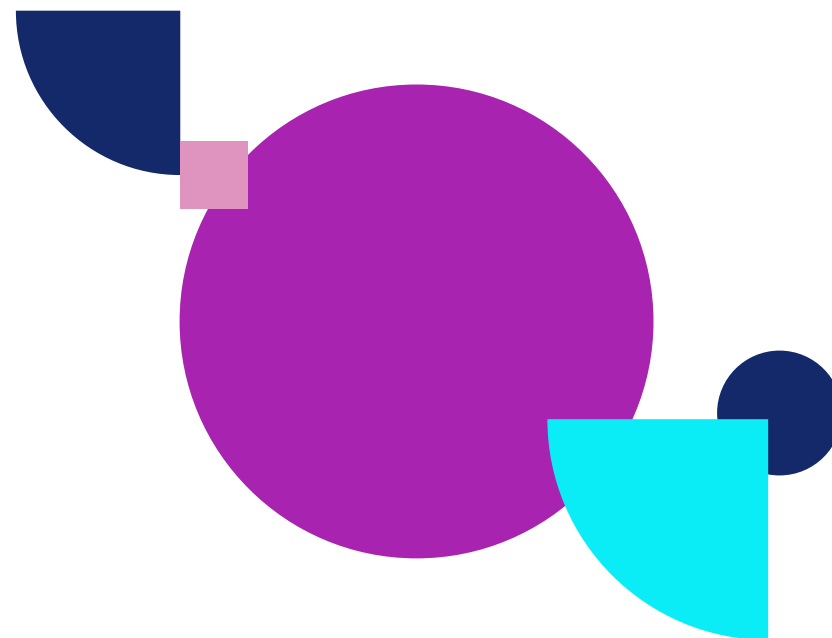
Lo studio, disegnato in aperto e con la SOC a scelta dello sperimentatore, con l'inclusione di pazienti trattati in precedenza con agenti inibitori della chinasi 4/6 ciclina-dipendenti e terapia endocrina, ha rispecchiato le raccomandazioni terapeutiche per i/le pazienti con a/mBC ER+/HER2- delle Linee Guida, in una **popolazione di pazienti il più possibile rappresentativa della situazione real world (RW)**, quella che il clinico comunemente affronta nella pratica clinica. Le evidenze emerse dallo studio EMERALD hanno confermato elacestrant come SERD orale in grado di apportare un

ALLEGATI



miglioramento statisticamente e clinicamente significativo della PFS in una popolazione di donne in postmenopausa, e uomini adulti, con a/mBC HR+ HER2- con mutazioni attivanti di ESR1, in 2L, dopo terapia con agenti inibitori della chinasi 4/6 ciclina-dipendenti e terapia endocrina.

Indicazione terapeutica. Elacestrant (nome commerciale ORSERDU) in monoterapia è indicato per il trattamento di donne in post menopausa, e di uomini adulti, con BC localmente avanzato o metastatico, HR+ HER2 - con mutazioni attivanti di ESR1, che mostrano progressione della malattia in seguito ad almeno una linea di terapia endocrina comprendente un inibitore di CDK4/6. La dose raccomandata è di 345 mg. (https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2023/2030915161089/anx_161089_it.pdf)



CLINICAL

Interview



Progetto realizzato con il contributo non condizionante di

