

## ALL. SUB B5)

### Scheda “Rapid HTA” report

#### 1. Identificazione del bene

| Programma preliminare (anno) | ID GIT            | Descrizione  |
|------------------------------|-------------------|--|
| 2021                         | 6430_integrazione | <p>NanoString nCOUNTER FLEX analysis system: piattaforma strumentale analitica innovativa che permette il conteggio digitale diretto e multiplo di acidi nucleici e proteine, con altissima precisione e sensibilità, in ambito clinico e di ricerca</p> <p>Lo strumento è costruito secondo gli standard GMP/ISO13485</p> |

#### 2. Finalità cliniche

2.1 Destinazione d'uso del dispositivo medico:

|             |                 |                |                 |                |
|-------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|
| Prevenzione | <u>Diagnosi</u> | <u>Terapia</u> | Interventistica | Riabilitazione |
|-------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|

2.2 Elencare/descrivere le patologie cui la tecnologia si collega e la relativa epidemiologia:

\_ ALL\_01\_INGCLI\_IO\_01 Allegato procedura programmazione fabbisogno tecnologie biomedicali

Per quanto di attinenza dell'Unità richiedente (Clinica Ematologica del P.O.U. "S. Maria della Misericordia" dell'Azienda Sanitaria Universitaria Friuli Centrale) la tecnologia si collega alla diagnosi e all'analisi della biologia di malattie ematologiche ed oncoematologiche (tra cui leucemie acute, sindromi mielodisplastiche, sindromi mieloproliferative croniche, linfomi, mielomi), ivi compreso il monitoraggio delle caratteristiche biologiche/immunitarie dei pazienti in ambito di trapianto di cellule staminali ematopoietiche.

In particolare, una peculiare applicazione prognostico/diagnostica con potenzialità di ricadute terapeutiche importanti della tecnologia (applicazione in via di certificazione diagnostica da parte della FDA, U.S. Food and Drug Administration) riguarda una forma aggressiva di linfoma, il linfoma diffuso a grandi cellule B (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL).

Nel mondo occidentale i linfomi maligni costituiscono la quinta neoplasia più diffusa e tra questi il DLBCL è la variante più frequente. In Italia, il DLBCL rappresenta oltre il 40% delle nuove diagnosi di linfoma, con una incidenza generale di circa 4 casi per 100000 abitanti e variabile in funzione dell'età e della distribuzione geografica. La prevalenza del DLBCL è maggiore nel sesso maschile e l'età mediana alla diagnosi è intorno alla sesta decade di vita.

Ad oggi, schemi chemioterapici di prima linea, contenenti anticorpi anti-CD20, permettono di curare "solo" circa il 60% dei pazienti portatori della patologia, poiché una cospicua percentuale di pazienti ha una malattia resistente o ricade.

La estrema variabilità della risposta è legata prevalentemente al fatto che il DLBCL è una malattia molto eterogenea dal punto di vista biologico per cui le sole analisi istomorfologiche e immunofenotipiche non sono in grado di individuare efficacemente i diversi sottotipi di patologia. Infatti, il processo di trasformazione maligna è diversa a seconda del sottotipo molecolare considerato per cui ad anomalie genetiche differenti corrispondono differenze nella presentazione clinica, nel tasso di guarigione dopo

\_ ALL\_01\_INGCLI\_IO\_01 Allegato procedura programmazione fabbisogno tecnologie biomedicali

chemio-immunoterapia e nella potenziale responsività a terapie bersaglio-specifiche. In particolare, negli ultimi anni, studi del profilo di espressione genica (GEP, gene expression profiling) nell'ambito del "Lymphoma/Leukemia Molecular profiling Project (LLMPP), mediante tecniche convenzionali di microarray (usando il test "Lymph2Cx", che è costituito da un pannello di 20 geni e usando campioni di RNA ottimali per quanto riguarda l'integrità delle molecole), hanno permesso di distinguere sottogruppi molecolari di DLBCL, sulla base della diversa cellula di origine (COO, cell-of-origin) degli stessi. Con tale approccio è stato possibile suddividere i DLBCL in due sottogruppi principali, a cui corrisponde una prognosi completamente diversa in seguito a trattamento chemioterapico standard [Alizadeh AA et al. *Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. Nature. 2000, 403(6769):503-11*]:

- 1) *germinal center B-like* (GCB-like), a indicare un'origine dal centro germinativo, con sopravvivenza globale a cinque anni del 76%
- 2) *activated B cell-like* (ABC-like), a indicare un'origine da linfociti post-centro germinativo, con sopravvivenza globale a cinque anni del 16%

E' stato possibile, inoltre, enucleare un terzo gruppo di casi (10-15%) che non rientrano in nessuna delle due principali categorie (casi non classificabili, DLBCL di tipo 3), con prognosi intermedia.

Inoltre, lo studio della patogenesi molecolare di questi 2 gruppi ha portato all'individuazione di terapie specifiche volte a migliorare la cattiva prognosi dei pazienti con DLBCL di tipo ABC e a tutt'oggi sono in corso studi clinici prospettici per stabilire se queste terapie debbano essere incorporate nella pratica clinica.

Poiché la distinzione basata su GEP è provvista di un importante potere prognostico e potenzialmente terapeutico anche nell'era della chemio-immunoterapia, l'ultima revisione WHO (World Health Organization) del 2016 della classificazione delle neoplasie linfoidi [Swerdlow SH et al., *The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. Blood 2016, 127(20):2375-90*] richiede la individuazione dei due sottogruppi principali di DLBCL sulla base della COO. A questo scopo, in considerazione del fatto che l'analisi mediante GEP su microarray convenzionali non è un test clinico di routine, la WHO ritiene accettabile cercare di sottoclassificare i DLBCL mediante indagini

\_ ALL\_01\_INGCLI\_IO\_01 Allegato procedura programmazione fabbisogno tecnologie biomedicali

immunoistochimiche supportate da algoritmi particolari, pur riconoscendo che le stesse non rappresentano un approccio ottimale poiché non sono in grado di riconoscere i tumori non classificabili mediante GEP (DLBCL di tipo 3), hanno problemi di riproducibilità e non hanno utilità prognostica.

Come promettente alternativa all'indagine immunoistochimica basata su diversi algoritmi, la WHO cita la possibilità di uso di nuovi metodi, non ancora accessibili nella maggior parte dei laboratori, basati sulla quantificazione di trascritti estratti da campioni di routine (e quindi anche parzialmente degradati) che producono risultati concordanti con i GEP microarray convenzionali, sono riproducibili tra laboratori diversi e catturano l'impatto prognostico della classificazione basata sulla cellula di origine. Tra questi, le citazioni riguardano analisi di GEP ottenuti sulla piattaforma strumentale proposta [Scott DW et al., *Prognostic significance of diffuse large B-cell lymphoma cell of origin determined by digital gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue biopsies. J Clin Oncol. 2015, 33(26):2848-56*].

### 2.3 La patologia è già trattata in azienda ?

|           | <b>N° procedure/anno trattate attualmente</b> | <b>Ipotesi di procedure trattabili con la nuova tecnologia rispetto alla situazione attuale</b> |
|-----------|---|---|
| <u>SI</u> | 50-60   | 100% rispetto al totale oggi trattato/anno  |
| NO        | NA  | NA  |

## 3. Descrizione della tecnologia e delle alternative

3.1 L'apparecchiatura richiesta rappresenta il "gold standard" per il "problema clinico" o trattasi di un'innovazione?

| Gold standard | <u>Innovazione</u> |
|---------------|--------------------|
|---------------|--------------------|

\_ ALL\_01\_INGCLL\_IO\_01 Allegato procedura programmazione fabbisogno tecnologie biomedicali

### 3.2 Indicazione della marca e modello di apparecchiatura, qualora noto e unico individuato sul mercato:

L'apparecchiatura proposta è il "nCounter FLEX" della ditta NanoString Technologies (Seattle, WA, USA), distribuito in Italia dalla Diatech Pharmacogenetics.

Questa piattaforma analitica rappresenta un'integrazione rispetto alla richiesta precedente, relativa all'anno 2017, in quanto è uno strumento più flessibile in grado di trasporre i dati di analisi del profilo molecolare dalla ricerca alla clinica.

### 3.3 Descrizione dei principi di funzionamento della tecnologia proposta rispetto alla tecnologia (apparecchiatura o processo) in uso (se presente) o al "gold standard":

Il sistema analitico proposto utilizza una nuova tecnologia digitale che è basata sulla quantificazione diretta di un gran numero di diverse proteine e/o di centinaia di diversi acidi nucleici in una singola reazione, senza bisogno di amplificazione della molecola bersaglio o di reazioni enzimatiche che potrebbero introdurre degli errori sistematici nei risultati finali.

Questo è reso possibile tramite una metodica di ibridizzazione in soluzione che utilizza un eccesso di sonde (probes), costruite come "coppie di sonde". Ciascuna coppia di sonde permette di riconoscere uno specifico bersaglio e di "marcarlo" in un modo unico attraverso un codice a barre molecolare, che si basa sulla diversa combinazione di quattro colori fluorescenti in sei posizioni diverse di una delle due sonde della coppia. In particolare, la coppia di sonde specifiche per ogni molecola bersaglio (di circa 100 nucleotidi) consiste di un "reporter probe" (di 50 nucleotidi, complementari a parte della sequenza bersaglio) che porta il segnale di riconoscimento colorato sulla sua estremità 5' e di un "capture probe" (di 50 nucleotidi, complementari ad un'altra porzione della sequenza bersaglio) che porta una molecola di biotina sulla sua estremità 3'. Dopo ibridizzazione delle coppie di sonde alla propria sequenza bersaglio, i complessi sonda-bersaglio vengono purificati e poi immobilizzati su una superficie solida tramite il legame tra la biotina del "capture probe" e la streptavidina che ricopre la cartuccia. In questa fase i

\_ ALL\_01\_INGCLI\_IO\_01 Allegato procedura programmazione fabbisogno tecnologie biomedicali

complessi sonda-bersaglio vengono anche allineati ed ordinati in senso orizzontale alla superficie per permettere la corretta lettura del codice a colori e quindi il riconoscimento unico ed il conteggio digitale delle singole diverse molecole bersaglio. Ciò viene ottenuto per mezzo di un “digital analyzer” che consiste di una telecamera CCD collegata ad un sistema di lenti in grado di catturare il segnale fluorescente dei “reporter probes” immobilizzati sulla cartuccia. Le immagini sono poi processate internamente ed i dati raccolti vengono presentati come semplici “output files” che comprendono il codice dell’identificatore colorato ed il diretto numero di conte associato, unitamente ad un insieme completo di dati relativi a controlli interni che permette a ciascun test di essere quantitativo.

### 3.4 Elencare eventuali alternative presenti sul mercato (come tecnologia o come procedura) evidenziandone le carenze essenziali rispetto alla tecnologia proposta limitatamente alle finalità cliniche d’interesse:

Lo strumento proposto rappresenta una piattaforma strumentale analitica innovativa e unica sul mercato poichè permette, in modo semplice e veloce e a partire da svariati tipi di campioni (lisati cellulari, sangue intero, cellule fissate, etc.), il conteggio digitale diretto di diverse molecole, quali:

- geni di fusione
- variazioni del numero di copie di DNA (CNV, copy number variation)
- polimorfismi a singolo nucleotide (SNP, single nucleotide polymorphism)
- RNA messaggero
- microRNA
- lncRNA (long noncoding RNA)
- DNA, RNA e proteine, simultaneamente, nello stesso tubo di reazione

con la potenzialità di rappresentare una valida alternativa a gran parte delle tecnologie correntemente in uso nel laboratorio della Clinica Ematologica (es. PCR quantitativa), rispetto alle quali presenta i seguenti vantaggi nel campo della ricerca e della diagnostica oncoematologica:

1. assenza di “steps” enzimatici di amplificazione delle molecole di interesse e di retrotrascrizione (con eliminazione di problematiche di inserimento di errori nella sequenza e comparabilità del dato e con maggiore tolleranza ad inibitori che inficiano reazioni enzimatiche)





**ASU FC**

Azienda sanitaria  
universitaria  
Friuli Centrale



REGIONE AUTONOMA  
FRIULI VENEZIA GIULIA

\_ ALL\_01\_INGCLI\_IO\_01 Allegato procedura programmazione fabbisogno tecnologie biomedicali

2. capacità di analisi su quantità minime di materiale di partenza (100 nanogrammi o meno), ideale per campioni clinici disponibili in quantità limitate
3. elevatissima riproducibilità: produzione di dati di altissima precisione e con sensibilità fino a 1 copia/cellula con possibilità, quindi, di usare un minor numero di repliche sperimentali, con grosso vantaggio per materiale clinico disponibile in quantità limitate
4. flessibilità del campione di partenza: possibilità di uso anche su campioni parzialmente degradati (come ad es., ma non solo, campioni fissati in formalina ed inclusi in paraffina), con adattamento ottimale, perciò, alla pratica clinica; infatti la sequenza bersaglio relativamente piccola, riconosciuta dalle coppie di sonde, permette sia l'identificazione univoca della regione bersaglio sia risultati affidabili in caso di campioni "difficili"
5. possibilità di analisi diretta sui campioni di partenza (es. lisati da sangue intero), senza necessità di purificazione degli acidi nucleici

Per quanto riguarda lo studio del profilo di espressione genica a livello di RNA (pertinente alle finalità cliniche di interesse citate):

- ❖ i punti 1), 2), 3), 4), 5) ed, inoltre, il fatto che la tecnologia proposta comporta una riduzione del rischio di saturazione del segnale con restituzione di valori molto precisi su una larga gamma di conte del materiale di partenza rappresentano caratteristiche uniche rispetto alla tecnologia convenzionale di ibridizzazione su microarrays (che sono stati usati come "gold standard" nello sviluppo dell'applicazione proposta con la tecnologia NanoString, per quanto riguarda la capacità di stratificazione molecolare dei linfomi a grandi cellule)
  - ❖ la tecnologia illustrata, inoltre, permette in modo molto più semplice e veloce la produzione di dati con eccellente corrispondenza a dati ottenuti mediante RNAseq (una applicazione di "next generation sequencing")
6. possibilità di analisi fino ad 800 targets diversi per singolo tubo di reazione (grande capacità di multiplexing, con generazione di un'enorme mole di dati anche a partire da piccole quantità di campione)
  7. elevato grado di automazione, con soli 15 minuti di lavoro manuale per l'operatore, con chiari vantaggi in campo clinico
  8. tempi di esecuzione dei tests rapidi, con ottenimento dei risultati entro 24-48 ore
  9. semplice analisi dei dati: nessuno step bioinformatico richiesto per l'analisi dei dati
  10. analisi "personalizzabili", con disegno mirato di pannelli di molecole di interesse

\_ ALL\_01\_INGCLI\_IO\_01 Allegato procedura programmazione fabbisogno tecnologie biomedicali

11. approccio “multiomico”: è l’unico strumento sul mercato che permette di eseguire simultaneamente, nello stesso tubo di reazione, studi relativi a DNA, RNA e proteine oppure ad RNA messaggero e microRNA per arrivare a eseguire una unica preparativa del campione di partenza e procedere con un unico test per geni, trascritti e proteine, con ovvi vantaggi nella comprensione dei meccanismi molecolari alla base delle patologie studiate, evitando enormi sforzi interpretativi e di sintesi che introducono delle variabili importanti quando le analisi su diversi tipi di molecole vengono fatte separatamente, utilizzando diversi approcci metodologici

Sulla base di tali requisiti, tra le svariate possibili applicazioni in campo ematologico, lo strumento permette, ad esempio:

- 1) la stratificazione di diverse tipologie di linfomi B a grandi cellule, con alto valore prognostico
- 2) la stratificazione di pazienti ad alto rischio in leucemie acute, con alto valore predittivo di resistenza a terapia di induzione
- 3) lo studio di traslocazioni geniche che determinano sensibilità a farmaci innovativi
- 4) l’utilizzo di profili di espressione genica, anche a livello proteico, di valore predittivo per l’azione di alcuni farmaci immunoterapici di nuova generazione (es. anticorpi anti-PD1/PDL-1), che hanno dimostrato efficacia anche in campo oncoematologico
- 5) studi immunologici in campo trapiantologico (ivi compresi anche studi di “immuno escape”)

3.5 La tecnologia è coerente con gli obiettivi strategici di:

- STRUTTURA (breve descrizione):

La Clinica Ematologica afferente al P.O.U. “Santa Maria della Misericordia” dell’AsuFC ha come obiettivo sanitario l’assistenza ed il trattamento di pazienti adulti affetti da patologia ematologica ed oncoematologica.

L’attività diagnostico-terapeutica è svolta in regime di ricovero ordinario, in regime di day hospital ed in regime ambulatoriale, mediante l’utilizzo di approccio multidisciplinare e con sviluppo di metodiche innovative per la diagnosi e il trattamento delle malattie ematologiche benigne e maligne.



\_ ALL\_01\_INGCLI\_IO\_01 Allegato procedura programmazione fabbisogno tecnologie biomedicali

La struttura, per la sua unicità e il livello altamente specialistico delle prestazioni erogate, rappresenta un Centro di Riferimento regionale ed extraregionale.

- AZIENDA (breve descrizione):

L'Azienda Sanitaria Universitaria Friuli Centrale svolge in modo unitario e coordinato funzioni di assistenza, didattica e ricerca, in modo da garantire alti standards di assistenza sanitaria nel servizio pubblico di tutela della salute, accrescere la qualità dei processi formativi e sviluppare le conoscenze biomediche e l'innovazione tecnologica.

In particolare, all'interno dell'Azienda, il Presidio Ospedaliero Universitario "Santa Maria della Misericordia" di Udine, a cui è afferente la Clinica Ematologica, è struttura ospedaliera di riferimento regionale ("hub" di secondo livello) che oltre alle funzioni di base assicura le funzioni di alta specializzazione anche di rilievo regionale

- MANDATI REGIONALI (breve descrizione):

#### 4. Diffusione della tecnologia

4.1 In base all'analisi di banche dati nazionali o a seguito di specifiche survey, riportare i più significativi centri nazionali ed internazionali che hanno regolarmente in uso la tecnologia:

Centri nazionali:

- Azienda Ospedaliero Universitaria Città della Salute e della Scienza di Torino
- Azienda Ospedaliero Universitaria di Modena-Policlinico di Modena
- Center for Genomic Science of Istituto Italiano di Tecnologia-European School of Molecular Medicine-Milano
- Fondazione per la Ricerca sul Cancro ONLUS-Candiolo-Torino

\_ ALL\_01\_INGCLI\_IO\_01 Allegato procedura programmazione fabbisogno tecnologie biomedicali

- Center for Life Nano Science of Istituto Italiano di Tecnologia-Sapienza Laboratories-Roma
- IEO-Istituto Europeo di Oncologia-Milano
- Dipartimento di Sanità Pubblica dell'Università degli Studi di Napoli Federico II-Napoli

#### Centri internazionali:

- Johns Hopkins Deep Sequencing & Microarray Core Facility-Johns Hopkins School of Medicine-Baltimore-Maryland-USA
- The nCounter Core Facility-Institute of Human Genetics-Heidelberg University Hospital-Heidelberg-Germany
- Genomic Technologies Facility-Faculty of biology, Medicine and Health-The University of Manchester-Manchester-UK

## 5. Evidenze clinico-scientifiche

Per la tecnologia proposta, dell'analisi condotta in letteratura ....

5.1 specificare la modalità di ricerca delle fonti (Pubmed, etc), il periodo considerato, altro

- NCBI/PubMed (periodo: 2000-2017)
- ClinicalTrial.gov
- SIE-Società Italiana di Ematologia/Hematology University (2016)
- 2016 ASH Annual Meeting-American Society of Hematology
- NCCN-National Comprehensive Cancer Network B-cell lymphomas guidelines (2017)
- ESMO-European Society for Medical Oncology B-cell lymphomas guidelines (2015-

2016)

5.2 fornire indicazione (allegando documentazione) di studi prodotti a convalida della tecnologia

- 1: Geiss GK et al. **Direct multiplexed measurement of gene expression with color-coded probe pairs.** Nat Biotechnol. 2008, 26(3):317-25
- 2: Veldman-Jones MH et al. **Evaluating robustness and sensitivity of the NanoString Technologies nCounter Platform to enable multiplexed gene expression analysis of clinical samples.** Cancer Res. 2015, 75(13):2587-93
- 3: Alizadeh AA et al. **Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling.** Nature. 2000, 403(6769):503-11
- 4: Rosenwald A et al. for the Lymphoma/Leukemia Molecular Profiling Project. **The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma.** N Engl J Med. 2002, 346(25):1937-47
- 5: Masqué-Soler N et al. **Molecular classification of mature aggressive B-cell lymphoma using digital multiplexed gene expression on formalin-fixed paraffin-embedded biopsy specimens.** Blood. 2013, 122(11):1985-6
- 6: Scott DW et al. **Determining cell-of-origin subtypes of diffuse large B-cell lymphoma using gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue.** Blood. 2014, 123(8):1214-7
- 7: Scott DW et al. **Prognostic significance of Diffuse Large B-Cell Lymphoma cell of origin determined by digital gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue biopsies.** J Clin Oncol. 2015, 33(26):2848-56
- 8: Sehn LH et al. **Diffuse large B-cell lymphoma: optimizing outcome in the context of clinical and biologic heterogeneity.** Blood. 2015, 125(1):22-32
- 9: Yoon N et al. **Cell-of-origin of diffuse large B-cell lymphomas determined by the Lymph2Cx assay: better prognostic indicator than Hans algorithm.** Oncotarget. 2017, 8(13):22014-22022
- 10: Nowakowski GS et al. **ROBUST: Lenalidomide-R-CHOP versus placebo-R-CHOP in previously untreated ABC-type diffuse large B-cell lymphoma.** Future Oncol. 2016, 12(13):1553-63

- 11: Jais JP et al. **Reliable subtype classification of diffuse large B-Cell lymphoma samples from GELA LNH2003 trials using the Lymph2Cx gene expression assay.** Haematologica, 2017 [Epub ahead of print]
- 12: Swerdlow SH et al. **The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms.** Blood. 2016, 127(20):2375-90
- 13: Jiang M et al. **Lymphoma classification update: B-cell non-Hodgkin lymphomas.** Expert Rev Hematol. 2017, 10(5):405-415
- 14: Leonard JP et al. **Practical Implications of the 2016 Revision of the World Health Organization Classification of Lymphoid and Myeloid Neoplasms and Acute Leukemia.** J Clin Oncol. 2017, 35(23):2708-2715
- 15: Jeon YK et al. **Molecular Testing of Lymphoproliferative Disorders: Current Status and Perspectives.** J Pathol Transl Med. 2017, 51(3):224-241
- 16: Keane C et al. **Ratios of T-cell immune effectors and checkpoint molecules as prognostic biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma: a population-based study.** Lancet Haematol. 2015, 2(10):e445-55
- 17: Liew M et al. **Detection of chromosomal translocations in formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) leukemic specimens by digital expression profiling.** Int J Lab Hematol. 2015, 37(5):690-8
- 18: Hu D et al. **Development of a NanoString assay to detect leukemogenic fusion transcripts in acute myeloid leukemia.** Int J Lab Hematol. 2016, 38(6):663-673
- 19: Akhter A et al. **Multiplexed automated digital quantification of fusion transcripts: comparative study with fluorescent in-situ hybridization (FISH) technique in acute leukemia patients.** Diagn Pathol. 2016, 11(1):89
- 20: Zuo Z et al. **Plasma circulating-microRNA profiles are useful for assessing prognosis in patients with cytogenetically normal myelodysplastic syndromes.** Mod Pathol. 2015, 28(3):373-82
- 21: Niederwieser C et al. **Prognostic and biologic significance of DNMT3B expression in older patients with cytogenetically normal primary acute myeloid leukemia.** Leukemia. 2015, 29(3):567-75
- 22: Payton JE et al. **High throughput digital quantification of mRNA abundance in primary human acute myeloid leukemia samples.** J Clin Invest. 2009, 119(6):1714-26
- 23: Ng SW et al. **A 17-gene stemness score for rapid determination of risk in acute**

**leukaemia.** Nature. 2016, 540(7633):433-437

## 6. Analisi dell'efficacia clinica

- 6.1 Sulla base dei riferimenti di letteratura di cui sopra, descrivere i principali risultati attesi in termini di miglioramento **dell'efficacia clinica** rispetto alle procedure oggi utilizzate, come conseguenza dell'adozione della tecnologia proposta:

L'analisi genomica di DLBCL ha dimostrato la estrema eterogeneità di questo tipo di tumori, mettendo in evidenza molti geni/vie di trasduzione del segnale che sono il bersaglio di lesioni genetiche e che, probabilmente, giocano un ruolo centrale nell'iniziare e mantenere il processo tumorale. Alcune di queste lesioni sono comuni ai sottotipi GCB e ABC di DLBCL, mentre altre sono preferenzialmente associate a sottotipi individuali di linfoma, suggerendo la possibilità di usare queste caratteristiche patologiche distintive per una stratificazione diagnostica e terapeutica.

Da questo punto di vista, la piattaforma analitica proposta ha efficacia clinica in quanto permette di riconoscere in modo estremamente veloce, semplice, efficace e riproducibile le differenze molecolari che influenzano il comportamento clinico dei sottotipi GCB e ABC-like di DLBCL con eventuale impatto anche sull'approccio terapeutico, consentendo di inserire i pazienti con prognosi peggiore in schemi intensificati di chemioterapia [*Molina TJ et al. Young patients with non-germinal center B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma benefit from intensified chemotherapy with ACVBP plus rituximab compared with CHOP plus rituximab: analysis of data from the Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte/lymphoma study association phase III trial LNH 03-2B. J Clin Oncol. 2014, 32(35):3996-4003*] e/o in studi terapeutici sperimentali.

Data l'estrema versatilità della piattaforma analitica proposta, si configura una simile utilità clinico/terapeutica anche nel caso di leucemie acute, in cui la veloce stratificazione dei pazienti a maggior rischio prima della terapia di induzione, mediante tecnologia



\_ ALL\_01\_INGCLI\_IO\_01 Allegato procedura programmazione fabbisogno tecnologie biomedicali

NanoString, può permettere l'inserimento di tali pazienti in studi sperimentali che prevedono strategie di induzione alternative [Ng SW et al. *A 17-gene stemness score for rapid determination of risk in acute leukaemia. Nature. 2016, 540(7633):433-437; Shlush LI et al. Tracing the origins of relapse in acute myeloid leukaemia to stem cells. Nature. 2017, 547(7661):104-108*].

- 6.2 Descrivere (e possibilmente fornire una stima quantitativa) quali siano gli **effetti sul paziente** dei miglioramenti dell'efficacia clinica sopra descritti in termini di: esiti prognostici (mortalità, morbilità, probabilità remissione completa), dolore, tempi e qualità del recupero funzionale, riduzione rischi per infezioni/effetti collaterali/ricadute, qualità della vita, altri aspetti (relazionali, sociali, lavorativi,..):

Sebbene pazienti DLBCL del sottotipo ABC mostrino una risposta inferiore alla chemioimmunoterapia con R-CHOP, al momento non ci sono ancora evidenze basate su studi prospettici randomizzati che giustifichino un cambio di terapia sulla base della cell-of-origin del linfoma. Comunque, molti farmaci, tra cui lenalidomide ed ibrutinib, si sono dimostrati preferenzialmente efficaci nei confronti dei difetti molecolari associati a tumori del tipo ABC. In particolare pazienti resistenti alla terapia di prima linea o ricaduti, hanno mostrato tassi di risposta globale a lenalidomide e ibrutinib molto incoraggianti, di circa il 30%, e, statisticamente in modo significativo, maggiori rispetto a pazienti con sottotipo GCB-like [Hernandez-Ilizaliturri FJ et al. *Higher response to lenalidomide in relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma in nongerminal center B-cell-like than in germinal center B-cell-like phenotype. Cancer. 2011, 117(22):5058-66; Wilson WH et al. Targeting B cell receptor signaling with ibrutinib in diffuse large B cell lymphoma. Nat. Med. 2015, 21(8):922-6*].

Attualmente sono in corso studi clinici prospettici internazionali che prevedono l'associazione di questi agenti terapeutici alla terapia con R-CHOP in pazienti ABC-like, individuati mediante analisi di espressione genica con tecnologia NanoString [Nowakowski GS et al. *ROBUST: Lenalidomide-R-CHOP versus placebo-R-CHOP in previously untreated ABC-type diffuse large B-cell lymphoma. Future Oncol. 2016, 12(13):1553-63*;



\_ ALL\_01\_INGCLI\_IO\_01 Allegato procedura programmazione fabbisogno tecnologie biomedicali

trial registration: *ClinicalTrials.gov NCT02285062*].

Allo studio ROBUST partecipa anche la Clinica Ematologica di Udine.

6.3 La tecnologia proposta presenta rischi e/o reazioni avverse? Quali e con quale frequenza? Si ritiene che siano stati sufficientemente valutati in letteratura?

NA

6.4 La tecnologia è inserita in raccomandazioni/linee guida di società scientifiche?

NO, la tecnologia non è ad oggi inserita in linee guida in ambito oncoematologico. Attualmente, si tratta, però della migliore tecnologia indicata in letteratura per l'esecuzione dell'analisi COO su linfomi B a grandi cellule ed appare nelle raccomandazioni di esperti di varie società scientifiche in campo oncologico, con richiamo alla nuova classificazione delle neoplasie linfoidi della WHO [*Tilly H et al. Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2015, 26 Suppl 5:v116-25; Jeon YK et al. Molecular Testing of Lymphoproliferative Disorders: Current Status and Perspectives. J Pathol Transl Med. 2017, 51(3):224-241; Leonard JP et al. Practical Implications of the 2016 Revision of the World Health Organization Classification of Lymphoid and Myeloid Neoplasms and Acute Leukemia. J Clin Oncol. 2017, 35(23):2708-2715*].

## 7. Analisi degli aspetti organizzativi ed economici legati all'utilizzo della tecnologia

7.1 Descrivere l'impatto sui costi "una tantum":

|   |  |
|---|--|
| Opere preliminari: edilizia ed impianti | <i>Es: adeguamento del locale ad uso medico, predisposizioni con gas-acqua-scarico, consolidamento dei solai, installazioni a soffitto, ecc...</i> |
|---|--|

\_ ALL\_01\_INGCLI\_IO\_01 Allegato procedura programmazione fabbisogno tecnologie biomedicali

|   |  |
|---|--|
|   | <p>La tecnologia non richiede particolari opere di adeguamento rispetto ai normali locali di laboratorio</p>   |
| <p>Altre forniture a corredo: apparecchiature accessorie, arredi, altro</p> | <p>Lo strumento necessita esclusivamente di un bancone di appoggio (dimensioni dell'nCounter FLEX: 89X67X62.5 cm), di un termociclatore con coperchio riscaldato, già in dotazione al laboratorio della Clinica Ematologica e di un magnete per piastre, non in dotazione al laboratorio della Clinica ematologica, che viene venduto da ThermoFisher al costo di listino di circa 670 Euro</p>  |
| <p>Oneri di formazione</p>  | <p><i>Es: Tecnologia particolarmente complessa o con un lungo periodo di ottimizzazione per la quale sono stimabili mesi per la completa configurazione e apprendimento</i></p> <p>La tecnologia è molto semplice nell'utilizzo e non richiede personale bioinformatico per l'analisi del dato ottenuto.</p> <p>I tempi di lavoro per l'operatore sono ristretti a circa 15 minuti. Si tratta quindi di una metodica anche molto standardizzata e ripetibile.</p> <p>Il corso di formazione ha una durata normalmente di tre giorni, al termine dei quali gli operatori sono completamente autonomi.</p> |

\_ ALL\_01\_INGCLI\_IO\_01 Allegato procedura programmazione fabbisogno tecnologie biomedicali

|       |   |
|-------|---|
| Altro | Dx Enablement Package for Flex per ottenere, se necessario per l'applicazione, l'upgrading diagnostico della piattaforma (costo di listino scontato: 32000 Euro). L'upgrade Dx può essere acquistato anche in un secondo momento rispetto all'installazione del Flex e non comporta modifiche hardware. |
|-------|---|

7.2 Descrizione delle **variazioni delle risorse** (fattori produttivi), per la stessa procedura clinica, tra l'attuale assetto e quello derivante dall'adozione della tecnologia proposta:

| Risorsa (umane, materiali, altre)   | Stima della variazione (positiva o negativa) della risorsa   |
|---|--|
| Personale sanitario   | <i>Ore/settimana in più o in meno delle diverse figure professionali</i><br><br>NA, trattasi di tecnologia innovativa          |
| Occupazione di sala operatoria per procedura  | <i>Tempi (ore) in aumento o diminuzione (inclusivi di preparazione, effettuazione e conclusione della procedura)</i><br><br>NA |
| Occupazione di ambulatorio per procedura  | <i>Tempi (ore) in aumento o diminuzione</i><br><br>NA  |
| Occupazione di posto letto in degenza   | <i>Tempi (giorni) in aumento o diminuzione</i><br><br>NA   |
| Occupazione di sala diagnostica (inclusivi di preparazione, effettuazione e conclusione dell'esame) | <i>Tempi (ore) in aumento o diminuzione</i><br><br>NA  |

\_ ALL\_01\_INGCLI\_IO\_01 Allegato procedura programmazione fabbisogno tecnologie biomedicali

|  |   |
|--|---|
| Tempi di ottenimento dell'esito diagnostico "in vitro" | <i>Tempi (ore) in aumento o diminuzione</i><br><br>NA, trattasi di tecnologia innovativa, che, comunque, è caratterizzata da tempi veloci di ottenimento dell'esito diagnostico (entro 24-48 ore)   |
| Farmaci specifici                                      | Potenzialmente lenalidomide, ibrutinib ed altri farmaci verosimilmente attivi su geni/vie di trasduzione del segnale differenzialmente rappresentati in GCB vs ABC-like DLBCL   |
| Oneri di manutenzione                                  | A cura Ingegneria Clinica   |
| Altri processi della struttura richiedente             | <i>Es: riduzione di altri esami all'interno della stessa struttura perché l'apparecchiatura concentra due o più funzioni.</i><br><br><i>La tecnologia, non considerando l'applicazione della tipizzazione dei DLBCL, potrebbe rappresentare una valida alternativa o essere complementare ad alcune tecnologie già presenti nel laboratorio della Clinica Ematologica</i> |
| Altri processi di <u>altre strutture</u> aziendali     | <i>Es: la procedura adottata evita o induce esami diagnostici (tipo Rx o in vitro)</i><br><br>NO  |
| Altro ....   |   |

### 7.3 Descrivere le ragioni di un'eventuale ricaduta su riduzione fuga e/o attrazione pazienti:

Trattasi di una tecnologia innovativa con applicazione altrettanto innovativa nella definizione della prognosi di pazienti portatori di una patologia oncoematologica

\_ ALL\_01\_INGCLI\_IO\_01 Allegato procedura programmazione fabbisogno tecnologie biomedicali

relativamente frequente

7.4 Indicare possibilità di condivisione della tecnologia:

esiste identica o equivalente tecnologia in azienda ?

No, Nanostring è una tecnologia unica nel suo genere

se sì, è condivisibile e a quali condizioni ? .....

se non è condivisibile, per quali ragioni ? .....

la nuova tecnologia che verrebbe introdotta sarebbe condivisibile in azienda ?

Si

se sì, a quali condizioni ?

NA

se no, per quali ragioni ? .....

7.5 La tecnologia necessita dell'approvvigionamento di materiale di consumo? Se sì, fornire stima di quantità/anno e spesa relativa:

| <p><b><u>Costo cessante per materiale di consumo con la dismissione della tecnologia in uso</u></b></p>                                | <p><b><u>Costo emergente per materiale di consumo con l'adozione della tecnologia proposta</u></b></p>   |
|--|--|
| <p><i>Elencare i materiali di consumo non più necessari indicandone il costo/anno</i></p> <p>NA, trattasi di tecnologia innovativa</p> | <p><i>Elencare i materiali di consumo necessari con l'adozione della nuova tecnologia indicandone il costo/anno emergente</i></p> <p>Stima minima dei costi emergenti/anno per materiale di consumo con l'adozione della</p> |

\_ ALL\_01\_INGCLI\_IO\_01 Allegato procedura programmazione fabbisogno tecnologie biomedicali

|  |  |
|--|--|
|  | <p><b>tecnologia proposta:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• pannello diagnostico “Lymph2Cx” per COO linfomi: circa 5400 Euro/anno</li> <li>• reagenti dedicati: circa 2600 Euro/anno</li> </ul> <p>per un totale di circa 8000 Euro/anno</p> |
|  |  |

7.6 Qualora la prestazione sia catalogata, si indichi il valore del rimborso

|                                       |                          |
|---------------------------------------|--------------------------|
| SI:                                   | <b><u>NO</u></b> ,       |
| Procedura attualmente in uso: € ..... | procedura non catalogata |
| Nuova procedura: € .....              |                          |

7.7 La tecnologia può permettere l’accesso a trial clinici o studi sperimentali? Se si descriverne le opportunità:

Sicuramente la tecnologia può permettere l’accesso a trials clinici o studi sperimentali ed un esempio in campo oncoematologico, che riguarda proprio l’applicazione discussa nel campo della sottotipizzazione dei DLBCL, è rappresentato dallo studio ROBUST [Nowakowski GS et al. ROBUST: Lenalidomide-R-CHOP versus placebo-R-CHOP in previously untreated ABC-type diffuse large B-cell lymphoma. *Future Oncol.* 2016,12(13):1553-63; trial registration: [ClinicalTrials.gov](http://ClinicalTrials.gov) NCT02285062].

## 8. Obiettivi misurabili

Si proponga almeno un indicatore che possa misurare nel modo più oggettivo possibile il raggiungimento - nell’arco temporale di un anno dall’avvio d’uso clinico della tecnologia - dell’obiettivo a cui l’investimento proposto è finalizzato.



Sottotipizzazione molecolare del 100% dei pazienti affetti da DLBCL che si riferiscono alla Clinica Ematologica

## 9. Conclusioni

9.1 Descrivere gli elementi di incertezza delle indicazioni precedenti (letteratura, efficacia clinica, stime costi, altro):

Studi prospettici randomizzati ancora in corso, i cui risultati sono necessari per confermare l'efficacia terapeutica di farmaci mirati ai diversi sottotipi molecolari di DLBCL

9.2 Sintesi delle principali osservazioni nei confronti della tecnologia e motivazioni per le quali l'Azienda debba prevedere l'introduzione della tecnologia proposta. Pareri espressi da:

➤ **STRUTTURA RICHIEDENTE:**

La piattaforma analitica NanoString nCounter FLEX utilizza una nuova tecnologia digitale basata su un codice a barre molecolare, a diverse combinazioni di colori, che permette la valutazione diretta e multipla del numero di diversi tipi di acidi nucleici e proteine, con altissimi livelli di precisione e sensibilità, sia in ambito di ricerca che in ambito clinico/diagnostico. La chimica particolare permette, inoltre, di analizzare, contemporaneamente, nello stesso tubo di reazione DNA, RNA e proteine, conferendo ulteriori caratteristiche di unicità allo strumento. La sua facilità d'uso, la velocità ed i costi relativamente bassi delle analisi eseguibili sulla piattaforma, lo rendono particolarmente adatto ad un uso in ambito clinico. Un'applicazione interessante in campo oncoematologico permette una migliore stratificazione prognostica di linfomi e leucemie con potenziale migliore appropriatezza terapeutica.

Nei linfomi B a grandi cellule (come in altre patologie tumorali che mostrano eterogeneità clinico/biologica), il progresso nelle terapie mirate sposterà l'approccio terapeutico attuale

\_ ALL\_01\_INGCLI\_IO\_01 Allegato procedura programmazione fabbisogno tecnologie biomedicali

da una polichemioterapia a largo spettro, con alti costi di tossicità generale per il paziente, a combinazioni terapeutiche basate sul meccanismo molecolare della patologia/sottopatologie. Il più grosso problema terapeutico si pone per pazienti ad alto rischio, specialmente pazienti con malattia resistente o in ricaduta. In questi casi si può pensare ad una medicina di precisione “adattativa”, in cui tutti i pazienti, sia al momento della diagnosi che al momento della ricaduta/ricadute, possono usufruire dello studio personalizzato delle caratteristiche molecolari del tumore (idealmente tramite un approccio “multiomico”, analizzando contemporaneamente DNA, RNA e proteine) e quindi di una susseguente terapia calibrata. In tutto questo processo è strategico disporre di una tecnologia robusta e veloce, come quella proposta, che permetta di predire la risposta o la resistenza ad una specifica terapia in tempi brevi, per selezionare un trattamento che possa migliorare la risposta dei pazienti ed, in ultima analisi, anche ridurre i costi globali del trattamento [Vermaat JS et al. *Precision medicine in diffuse large B-cell lymphoma: hitting the target. Haematologica. 2015, 100(8):989-93*].

In conclusione, lo strumento proposto presenta le migliori caratteristiche per potere ottimizzare ed implementare, con ricadute di indubbia innovazione, l’attuale attività clinico/diagnostica e di ricerca della Clinica Ematologica di Udine.

➤ INGEGNERIA CLINICA:

➤ DIREZIONE SANITARIA/MEDICA:

# Elenco firmatari

ATTO SOTTOSCRITTO DIGITALMENTE AI SENSI DEL D.P.R. 445/2000 E DEL D.LGS. 82/2005 E SUCCESSIVE MODIFICHE E INTEGRAZIONI

Questo documento è stato firmato da:

NOME: DENIS CAPORALE

CODICE FISCALE: CPRDNS75M11C758X

DATA FIRMA: 15/09/2020 13:23:46

IMPRONTA: 8419A06D686F2B5944F0F37E1011092FADB13BAFE96FB144039450EC1D837667  
ADB13BAFE96FB144039450EC1D8376671125DF7161C7EE152E3667542093D90E  
1125DF7161C7EE152E3667542093D90ECD3FA8A2BF040FBFEA280465AC674C49  
CD3FA8A2BF040FBFEA280465AC674C4957418013B1D0789603A9187993F264A3

NOME: ALESSANDRO FALDON

CODICE FISCALE: FLDLSN63E04C957S

DATA FIRMA: 15/09/2020 15:02:59

IMPRONTA: 40FF54F5433366ED6274EAED766128AB87181C1A07275583D58A992557383A9A  
87181C1A07275583D58A992557383A9A2BF4306AD9B033FE2C44EB380FADC313  
2BF4306AD9B033FE2C44EB380FADC313C7D2123916782C2F4A3F80446D1BBE09  
C7D2123916782C2F4A3F80446D1BBE0900DB1C6413556239DF0F87477015ECC9

NOME: LAURA REGATTIN

CODICE FISCALE: RGTLRA70L69L483A

DATA FIRMA: 15/09/2020 18:39:41

IMPRONTA: 59E0D7B7244BA753DE29552AF07807326CB3E7C24984C5141D2E25C0A9E62AAE  
6CB3E7C24984C5141D2E25C0A9E62AAED9D034EBAC1E12BFAF86E16AAB98413D  
D9D034EBAC1E12BFAF86E16AAB98413DD5E8EB1656421B48B4CE48DF501D20A9  
D5E8EB1656421B48B4CE48DF501D20A9F5C3BC2C388A868ECBFE7099A37AC6BD

NOME: MASSIMO BRAGANTI

CODICE FISCALE: BRGMSM58P17I155G

DATA FIRMA: 16/09/2020 08:48:03

IMPRONTA: 8040A15CC1CBF98A2B99423F49488AF75E7CEB6B29CD97A04B9B05C82CBD0D04  
5E7CEB6B29CD97A04B9B05C82CBD0D044316FDB234F12ADD51115D30E4E218DA  
4316FDB234F12ADD51115D30E4E218DA48DE6A68EC9970BA7A1D16BD3920D3AB  
48DE6A68EC9970BA7A1D16BD3920D3AB7F090D35DCE1613A21881474066A1968