

# Raccomandazioni AIOM

## I tumori ereditari dello stomaco e del colon-retto

Edizione Gennaio 2022

*In collaborazione con:*



**Coordinatore:**

Antonio Russo, Dip. Discipline Chirurgiche, Oncologiche e Stomatologiche, Università di Palermo, AIOM

**Segretario Scientifico:**

Lorena Incorvaia, Dip. Discipline Chirurgiche, Oncologiche e Stomatologiche, Università di Palermo, AIOM

**Estensori:****AIOM**

Giordano Beretta, Ospedale Humanitas Gavazzeni, Bergamo

Saverio Cinieri, Ospedale Sen. Antonio Perrino, Brindisi

Pierosandro Tagliaferri, Università Magna Graecia, Catanzaro

Enrico Ricevuto, Ospedale San Salvatore, L'Aquila, Ospedale SS Addolorata Sulmona, ASL1 Abruzzo, e Università di L'Aquila

**AIFEG**

Valentina Calò, Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico P.Giaccone, Palermo

Maria Grazia Tibiletti, Ospedale di Circolo ASST Settelaghi - Centro di ricerca per lo studio dei tumori eredo-familiari Università dell'Insubria, Varese

**Fondazione AIOM**

Stefania Gori, IRCCS Ospedale Don Calabria-Sacro Cuore di Negrar, Negrar di Valpolicella (Verona)

**SIAPEC-IAP**

Fiamma Buttitta, Università G. D'Annunzio Pescara

Matteo Fassan, Università degli Studi di Padova

Umberto Malapelle, Università Federico II, Napoli

Anna Sapino, Presidente SIAPEC-IAP, Università degli Studi di Torino

Mauro Truini, past president SIAPEC-IAP, ASST Ospedale Niguarda Milano

**SIBIOC**

Ettore Capoluongo, Università Federico II e CEINGE, Napoli

**SIGU**

Francesca Duraturo, Università Federico II, Napoli

Paola Ghiorzo, IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, Genova

Maurizio Genuardi, Policlinico A. Gemelli e Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma

**Revisori:**

Laura Cortesi, Università di Modena

Carmine Pinto, Azienda Unità Sanitaria Locale -IRCCS di Reggio Emilia Santini

Daniele Santini, Università Campus Bio-Medico, Roma

# 1. TUMORI EREDITARI DEL COLON-RETTO

## 1.1. INQUADRAMENTO GENERALE

### 1.1.1. Epidemiologia e sindromi genetiche

Si stima che all'incirca il 2-8% di tutti i carcinomi coloretali (CCR) e il 10-20% di quelli diagnosticati in età inferiore a 50 anni si sviluppino in individui che hanno un alto rischio su base genetica (1-6). La predisposizione genetica al CCR è associata a diverse condizioni ereditarie (**Tab. 1.1**), tradizionalmente distinte in forme poliposiche e NON poliposiche. Al gruppo delle forme NON poliposiche appartiene la condizione più frequente, che è la sindrome di Lynch (SL), dovuta a difetti dei geni del Mismatch Repair (MMR); La SL in passato era denominata "cancro ereditario non poliposico del colon retto" (HNPCC, dall'acronimo inglese), definizione in realtà inadeguata a causa dell'ampio spettro neoplastico e del non infrequente riscontro di polipi coloretali multipli.

Le sindromi poliposiche ereditarie del colon-retto, più rare rispetto alla sindrome di Lynch (nessuna di queste rappresenta >1% di tutti i CCR), possono a loro volta essere suddivise in base alle caratteristiche istologiche dei polipi in due gruppi principali: sindromi con polipi adenomatosi e sindromi con polipi amartomatosi. Sono note inoltre altre condizioni associate a polipi intestinali con origine non ancora determinata o che comprendono forme diverse di polipi e/o forme di polipi con caratteristiche istologiche miste (7).

La precoce identificazione e la corretta diagnosi genetica delle sindromi di predisposizione ereditaria al CCR rappresenta un elemento essenziale per stabilire il rischio oncologico associato a tali condizioni e le conseguenti strategie di prevenzione sia primaria che secondaria. Le sindromi di predisposizione ereditaria al CCR sono infatti geneticamente eterogenee e a seconda dello specifico gene coinvolto presentano uno specifico spettro di tumori.

### 1.1.2. Algoritmi diagnostici

L'identificazione dei CCR ereditari si giova della possibilità di effettuare test di screening sui campioni tumorali, che servono a dare un orientamento diagnostico e possono essere utilizzati su larga scala (Fig. 1.1). In diversi centri questi test vengono oggi eseguiti su tutti i CCR per identificare un deficit del MMR (dMMR) attraverso analisi molecolari che valutano l'instabilità dei microsatelliti (MSI) o tecniche di immunohistochimica (IHC) per valutare l'espressione delle proteine MMR (8). Il test somatico sui CCR identifica i casi con difettoso funzionamento del sistema MMR (dMMR). Tuttavia, circa il 70-80% dei casi di CCR dMMR non sono dovuti a SL (9). Ulteriori step analitici sui campioni istologici possono essere eseguiti se l'esame IHC evidenzia una mancata espressione della proteina MLH1. In particolare, per differenziare i CCR dMMR non ereditari da quelli correlati alla SL, è possibile effettuare ulteriori test somatici su DNA tumorale, in particolare l'analisi della mutazione p.V600E del gene *BRAF* e l'analisi della metilazione del promotore del gene *MLH1* (si veda il Capitolo 1.2.2 per ulteriori dettagli).

Considerando il beneficio dell'identificazione della sindrome e la scarsa sensibilità dei criteri clinici, in molti paesi USA ed europei, compresi molti centri italiani, è stato implementato lo screening universale mediante analisi IHC delle proteine MMR su tutti i CCR diagnosticati al fine di identificare i soggetti con sospetto di SL da inviare alla consulenza genetica e successivamente al test genetico.

Al contrario della SL, le poliposi ereditarie non sono identificabili attraverso un test di screening su campioni istologici, e la loro identificazione deve essere basata sul numero di polipi rilevati all'esame endoscopico, sulle loro caratteristiche istopatologiche e soprattutto sulla diagnosi genetica (**Fig. 1.1**).

L'analisi genetica è sempre proposta attraverso una consulenza genetica e a seconda delle modalità organizzative del laboratorio, può essere condotta utilizzando la strategia del gene o dei geni candidato/i oppure utilizzando test genetici a pannello più o meno ampi (es. per geni MMR o per geni delle poliposi, oppure per tutti i geni di predisposizione a CCR). Considerata la sovrapposizione fenotipica e l'eterogeneità

genetica, l'analisi di pannelli multigenici mediante *Next Generation Sequencing* (NGS) sta diventando sempre più diffusa, anche se non sempre è risolutiva per la corretta identificazione della sindrome coinvolta.

### 1.1.3. Implicazioni per la prevenzione

L'individuazione di soggetti a rischio elevato di CCR su base ereditaria ha una significativa importanza ai fini della prevenzione, con gli obiettivi primari di ridurre la mortalità e la morbilità sia nei soggetti affetti che nei parenti sani portatori di variante patogenetica (VP) in un gene di predisposizione. L'utilizzo del test genetico "a cascata", proposto ai parenti del caso indice attraverso la consulenza genetica, permette di allargare la prevenzione nell'ambito delle famiglie colpite dalla sindrome. Tutti i soggetti di una stessa famiglia portatori di VP di geni di predisposizione genetica al CCR possono essere indirizzati a misure di prevenzione primaria (chirurgia rischio-riduttiva, chemioprevenzione) o secondaria (sorveglianza clinico-strumentale). La colonscopia è particolarmente efficace per la diagnosi precoce di CCR e l'individuazione di adenomi e altre lesioni precancerose che possono essere rimosse endoscopicamente. Quando la situazione clinica non è gestibile con controlli e interventi endoscopici e il rischio di neoplasia maligna è molto alto (es. poliposi adenomatosa classica) è indicato ricorrere a interventi di chirurgia profilattica rischio-riduttiva. Le indicazioni generali sulle modalità di sorveglianza, inizio della stessa e intervalli di esecuzione, e su quelle di prevenzione chirurgica nelle diverse sindromi ereditarie con predisposizione al CCR sono schematizzate nella **Tabella 1.2**. Da diverso tempo è noto che la chemioprevenzione può essere efficace nella prevenzione del CCR, incluse le forme ereditarie. Gli antinfiammatori non steroidei sono stati utilizzati per ridurre il carico e la progressione dei polipi nelle poliposi adenomatose, ma non possono sostituire il gold standard delle misure di prevenzione, ovvero la chirurgia profilattica. Più recentemente, è stato evidenziato che il rischio di neoplasie associate alla sindrome di Lynch, incluso il CCR, può essere ridotto dall'assunzione quotidiana di aspirina (10).

### 1.1.4 Implicazioni per la terapia

I test di screening per identificare i CCR con dMMR rivestono un ruolo importante anche ai fini della terapia. L'immunoterapia è infatti diventata una realtà nel trattamento dei pazienti con CCR che mostrano difetti del complesso MMR (si veda il Capitolo 1.2). Inoltre, le neoplasie MMRd non rispondono a terapie basate sull'utilizzo del 5FU, utilizzato in regimi di chemioterapia adiuvante.

**Tabella 1.1.** Sindromi da predisposizione ereditaria al cancro coloretale (CCR) con base genetica nota.

SINDROME	GENE/I	EREDITARIETÀ*	% CCR TOTALI	RISCHIO ASSOLUTO DI CCR LIFETIME
Sindrome di Lynch	<i>MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM</i>	AD	3-5%	10-74%
Poliposi adenomatosa associata al gene <i>APC</i> (AAP)	<i>APC</i>	AD	1%	Forme classiche 100% Forme attenuate fino al 70%
Poliposi adenomatosa associata al gene <i>MUTYH</i> (MAP)	<i>MUTYH</i>	AR	1%	85-88%
Poliposi adenomatosa associata al gene <i>NTHL1</i>	<i>NTHL1</i>	AR	<1%	?
Poliposi adenomatosa associata al dominio proofreading delle polimerasi (PPAP)	<i>POLE, POLD1</i>	AD	<1%	?
Sindrome di Peutz-Jeghers	<i>STK11</i>	AD	<1%	28-57%
Poliposi giovanile	<i>SMAD4, BMPR1A</i>	AD	<1%	39-69%
Poliposi ereditaria mista	<i>GREM1</i>	AD	<1%	non conosciuto

\* AD: autosomica dominante; AR: autosomica recessiva

**Tabella 1.2.** Prevenzione primaria e secondaria (endoscopica) del CCR nella popolazione generale e nelle sindromi ereditarie più comuni. Adattata da Valle et al., J Pathol, 2019 [10].

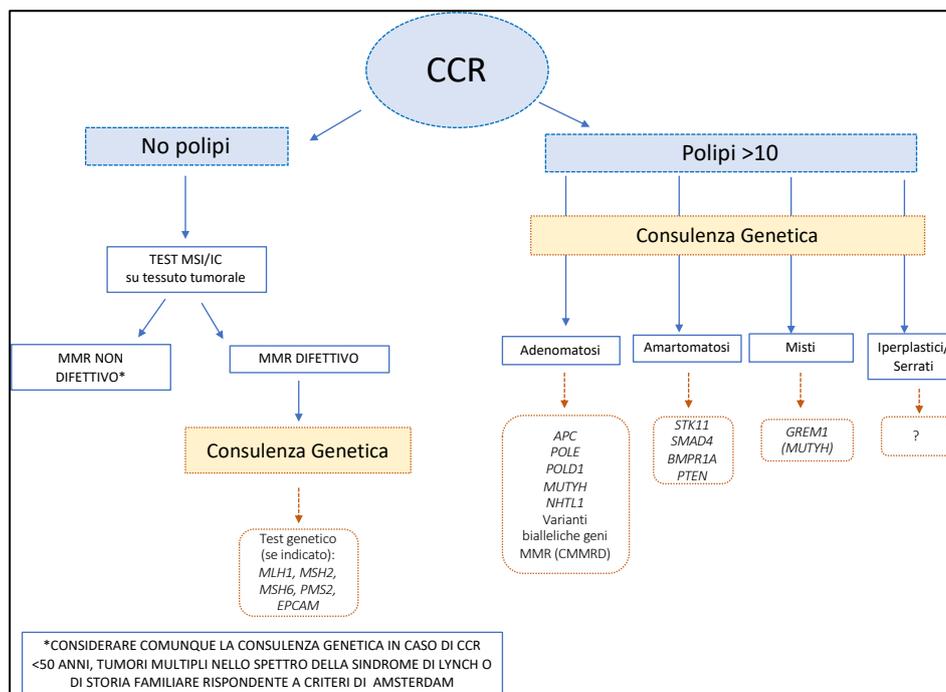
CONDIZIONE	STORIA FAMILIARE DI CCR#	ETÀ DI INIZIO (ANNI) SORVEGLIANZA ENDOSCOPICA PER CCR	INTERVALLO DI SORVEGLIANZA (ANNI) (se precedente esame negativo)	CHIRURGIA PREVENTIVA
Popolazione generale*	No	50	10	No
Popolazione generale*	Sì (≥1 FA)**	40°	5-10	No
Sindrome di Lynch	NR	20-25°	1-2	No (è possibile considerare colectomia subtotale in occasione della diagnosi di CCR)
AAP Classica Attenuata	NR NR	10-12 18-20	1 2-3	Sì (in funzione del numero di polipi; in genere a 18-20 anni) Sì (in base al quadro endoscopico)
MAP	NR	25-30°	1-3, a seconda del numero di polipi	Sì (giovani adulti, nelle forme classiche; più spesso dai 25-30 anni in poi nelle forme attenuate in base al quadro endoscopico)
Poliposi giovanile	NR	15	1-3, a seconda del numero di polipi	Sì, se il numero di polipi non è gestibile endoscopicamente
Peutz-Jeghers	NR	15	2-3, a seconda del numero di polipi	No

\*National Comprehensive Cancer Network. Genetic/Familial High-Risk Assessment: Colorectal (version 2.2017) and Colorectal Cancer Screening (version 2.2017). <https://www.nccn.org/>

\*\*Non rispondenti a criteri di forte sospetto: es. 1 solo parente di 1° grado affetto da CCR oppure 2 parenti di 2° grado. Nessuna alterazione rilevata al test genetico, se eseguito

#FA: familiare affetto NR: non rilevante ai fini della prevenzione

° oppure 10 anni prima dell'età in cui è stato diagnosticato il caso più precoce di CCR nella famiglia



**Fig. 1.1.** Tumori ereditari del colon-retto: approccio diagnostico e di consulenza genetica. IIC: ImmunoistoChimica; MSI: instabilità dei microsatteliti; ; MMR: MisMatch Repair; CMMRD: Constitutional MisMatch Repair Deficiency.

## 1.2. SINDROME DI LYNCH (ORPHA 144)

### 1.2.1. Aspetti epidemiologici e clinici

La SL, a seconda delle diverse popolazioni, ha un'incidenza variabile da 1:660 a 1:2000. Tuttavia, tali valori sono da considerarsi sottostime, considerato che l'identificazione delle famiglie con SL avviene storicamente utilizzando criteri clinici quali Amsterdam e Bethesda basati essenzialmente sulla storia familiare (11,12). La sensibilità di tale approccio si è dimostrata ridotta: Hampel *et al* hanno dimostrato che circa il 28% dei casi LS non vengono identificati dai criteri clinici (8,13). I dati più recenti indicano che la prevalenza nella popolazione generale di soggetti portatori di varianti patogenetiche responsabili della SL è intorno a 1:279 (14).

La SL è una condizione ereditaria a trasmissione autosomica dominante che predispone a diversi tipi di neoplasie (15,16). Lo spettro dei tumori coinvolti in questa sindrome comprende principalmente il CCR e il carcinoma dell'endometrio (CE). Sia i CCR che CE correlati alla sindrome tendono a presentarsi precocemente (in media la diagnosi avviene a circa 42 anni per il CCR e 44 anni per il CE) rispetto alle controparti non ereditarie. Inoltre, i pazienti affetti da SL hanno un rischio aumentato di sviluppare nell'arco della vita neoplasie a carico di diversi altri organi, in particolare ovaio, stomaco, intestino tenue, vie urinarie (tumori uroteliali), pancreas, vie biliari, sistema nervoso centrale (tumori di derivazione gliale) e tumori cutanei di specifico istotipo (adenomi e carcinomi sebacei, cheratoacantomi) (**Tab. 1.3**) (17).

Come specificato nel capitolo successivo, i soggetti affetti da Sindrome di Lynch sono portatori eterozigoti di una variante patogenetica costituzionale di uno dei geni MMR.

Sono inoltre descritti pazienti con VP a carico di entrambi gli alleli (*varianti bialleliche*) di uno dei geni MMR. Tale rara condizione è nota come "Constitutional Mismatch Repair Deficiency" (CMMRD; "*sindrome da difetto costituzionale del Mismatch Repair*"), una sindrome con esordio in età infantile o giovanile, con un quadro clinico oncologico severo comprendente tumori cerebrali ed ematologici, adenomi e adenocarcinomi colici intestinali, tumori dell'endometrio e macchie caffelatte (18–20).

### 1.2.2. Genetica

La SL è causata da difetti costituzionali in uno dei 4 geni principali (i.e. *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* e *PMS2*) coinvolti nel sistema di riparazione da Mismatch del DNA (MMR), o, più raramente, nel gene *EPCAM*. Quest'ultimo è coinvolto nella SL con un raro meccanismo, legato a delezioni della regione 3', che determinano inattivazione epigenetica di *MSH2* tramite ipermetilazione secondaria del promotore. Un altro raro meccanismo genetico alla base della SL è l'ipermetilazione ("epimutazione") costituzionale del promotore del gene *MLH1*, che impedisce la trascrizione, e di conseguenza la sintesi di RNA messaggero e di proteina.

La corretta espressione dei geni MMR è essenziale per la riparazione degli errati appaiamenti delle basi durante la normale replicazione del DNA. L'inattivazione biallelica conseguente alla comparsa di una seconda mutazione somatica di uno questi geni provoca il mancato funzionamento del sistema MMR determinando un aumento del tasso di mutazioni somatiche, in particolare sostituzioni di basi e alterazioni a livello di piccole regioni ripetitive del genoma umano, chiamate sequenze *microsatelliti*. Il coinvolgimento di queste sequenze ripetute determina un caratteristico fenotipo molecolare, definito MSI-H (MicroSatellite Instability High; alta instabilità dei microsatelliti).

#### *Test di prescreening per valutare il deficit del complesso MMR*

**-Test MSI.** L'analisi dell'instabilità dei microsatelliti (MSI) è uno dei due test condotti su campione tumorale per determinare lo stato di funzionalità del MMR come screening per valutare la probabilità che una neoplasia sia collegata a SL. Essa viene effettuata mediante analisi molecolare di un set generalmente comprendente 5 marcatori genetici microsatelliti su DNA isolato da tessuto tumorale (12,21). Tumori con instabilità in due o più di questi loci, ovvero nel 30% dei marcatori analizzati se l'esame viene esteso ad altre sequenze, sono definiti ad alta instabilità (MSI-H); quelli con 1 locus su 5 instabile (>0% e <30%) sono detti a bassa instabilità (MSI-L); tumori senza alterazioni sono definiti stabili (MSS; Microsatellite Stable) (**Tab. 1.4**).

La condizione MSI-H è indicativa di stato dMMR del tumore. La sensibilità del test varia a seconda del gene coinvolto: 80-91% per *MLH1* e *MSH2*, 55-77% per *MSH6* e *PMS2* (22).

-Test immunoistochimico. L'altro test utilizzato nello screening dei difetti del MMR è la valutazione immunoistochimica dell'espressione delle 4 principali proteine MMR (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6* e *PMS2*) codificate dai geni implicati nella LS. La mancata o alterata espressione di una o più di queste proteine è indice di dMMR. In genere, quando è coinvolto il gene *MSH2* all'esame IIC sono assenti le proteine *MSH2* e *MSH6*, mentre quando è coinvolto *MLH1* sono assenti *MLH1* e *PMS2*. In caso di VP a carico di *PMS2* o *MSH6* l'esame IC mostra anomala espressione delle singole proteine codificate dai rispettivi geni. Ciò accade perché *PMS2* e *MSH6* vengono rapidamente degradate se non si legano agli unici partner proteici disponibili, rispettivamente *MLH1* (per *PMS2*) e *MSH2* (per *MSH6*), mentre *MSH2* e *MLH1* si legano anche ad altre proteine e pertanto sono più stabili.

L'instabilità dei microsatelliti e il difetto di espressione immunoistochimica (IC) dei geni MMR sono due marcatori intercambiabili nel CCR, in quanto i due approcci hanno una concordanza superiore al 94% (23,24). Il fenotipo dMMR è presente in circa il 10-15% dei CCR. Di questi, il 70-80% circa non sono ereditari e quindi non sono correlati alla LS. Nella maggior parte di questi casi il fenotipo dMMR è determinato da un meccanismo epigenetico acquisito, l'ipermetilazione somatica del promotore del gene *MLH1*, che a sua volta è spesso associata alla presenza della mutazione somatica p.V600E del gene *BRAF*. Oggi la determinazione della mutazione p.V600E del gene *BRAF* è possibile anche con un test IC a basso costo, i cui risultati mostrano una buona concordanza con quelli dell'analisi molecolare (25). In questi casi l'esame IC mostra alterata espressione delle proteine *MLH1* e *PMS2*. Pertanto, l'analisi del gene *BRAF* può essere utile per escludere la LS (26). In rari casi, l'ipermetilazione di *MLH1* può presentarsi a livello costituzionale, quindi presente anche in tessuti normali; tuttavia questa condizione, anche se rappresenta un fattore di rischio aumentato per il soggetto portatore, generalmente non viene trasmessa in linea ereditaria (27), anche se questo può accadere in rari casi di ipermetilazione costituzionale. Un altro meccanismo alla base di tumori dMMR non LS-relati è lo sviluppo di mutazioni bialleliche somatiche che portano a inattivazione di un gene MMR limitata alle cellule tumorali.

**Tabella 1.3.** Rischio di sviluppare neoplasie nei portatori di varianti patogenetiche dei geni MMR\*. Adattata da: Kohlmann e Gruber [14].

NEOPLASIA	RISCHIO (%)	POPOLAZIONE GENERALE (%)
CCR—uomini	20–74	4-5
CCR—donne	10–53	
Endometrio	14–54	2
Ovaio	4–20	1
Gastrico	6–9	<1
Intestino tenue	4–12	<1
Pancreatico	0.4–4	1
Vie epatobiliari	0.2-4	Raro
Tratto urinario	0.2-25	Raro

\*Per il Cccr (carcinoma coloretale) e il Carcinoma dell'endometrio è riportato il range per i 4 geni MMR. I rischi si differenziano tra *MLH1/MSH2* (più alti) e *MSH6/PMS2* (più bassi).

**Tabella 1.4.** Classificazione dello stato “MSI” sul DNA estratto da tessuto tumorale.

DEFINIZIONE DI INSTABILITÀ	% RIPETIZIONI MICROSATELLITI INSTABILI
<b>Alta Instabilità (MSI-H)</b>	≥30%
<b>Bassa Instabilità (MSI-L)</b>	<30%
<b>Microsatelliti stabili (MSS)</b>	Assenza di ripetizioni instabili

### 1.2.3. Criteri di selezione per il test genetico

L’individuazione dei candidati al test genetico e il relativo percorso diagnostico possono partire dall’analisi dello stato dMMR tumorale oppure da un sospetto clinico formulato sulla base della storia personale e familiare (**Fig. 1.2**).

#### *Screening universale dei campioni tumorali*

Lo screening universale utilizzando l’analisi IIC delle proteine MMR (o, più raramente utilizzando il test MSI) dei campioni istologici (inclusi in paraffina) di tutti i CCR, eseguito al fine di identificare i casi dMMR, è ormai pratica comune in diversi centri.

I test IIC utili a tale scopo devono comprendere l’analisi dell’espressione delle 4 proteine MMR: MLH1, PMS2, MSH2 e MSH6. Qualora l’analisi IC identifichi l’assenza di espressione di uno o più geni MMR si procede ad ulteriori accertamenti come descritto sopra.

Il test genetico viene proposto a tutti i pazienti affetti da CCR dMMR, esclusi i casi che presentano mutazione somatica attivante di *BRAF* e/o ipermetilazione del promotore di *MLH1*. La presenza di ipermetilazione somatica e/o di mutazione *BRAF* esclude la SL, così come la presenza di mutazioni bialleliche somatiche di uno dei 4 geni MMR, identificabile con specifico test su tessuto tumorale, attualmente meno diffuso.

Va sottolineato che oggi, alla luce dei numerosi dati presenti in letteratura e delle raccomandazioni di un gruppo di esperti (28), è indicata l’applicazione del test universale con analisi IC delle proteine MMR anche per il carcinoma dell’endometrio (CE), al fine di aumentare l’efficienza della diagnosi di SL. Tuttavia, per questa neoplasia l’algoritmo diagnostico non comprende l’analisi del gene *BRAF* nel tessuto tumorale. L’AIFEG (Associazione Italiana per lo studio della Familiarità ed Ereditarietà dei tumori del tratto Gastroenterico) allineandosi alle Società Scientifiche Internazionali ha sviluppato uno specifico algoritmo per l’identificazione dei CCR e dei CE correlati alla SL (**Fig. 1.3**).

#### *Criteri di sospetto clinico*

Originariamente la SL era definita clinicamente sulla base dei cosiddetti criteri di Amsterdam (**Tab. 1.5**) (11). Benché questi siano ancora utili per individuare famiglie con forte sospetto di SL, la maggior parte dei casi oggi identificati con l’analisi molecolare non li soddisfa. Un altro approccio utilizzato prevede l’impiego di criteri meno stringenti, i cosiddetti criteri di Bethesda revisionati (**Tab. 1.6**), originariamente sviluppati per identificare i pazienti candidati a pre-screening dello stato dMMR su campione istologico prima di effettuare eventualmente il test genetico (12).

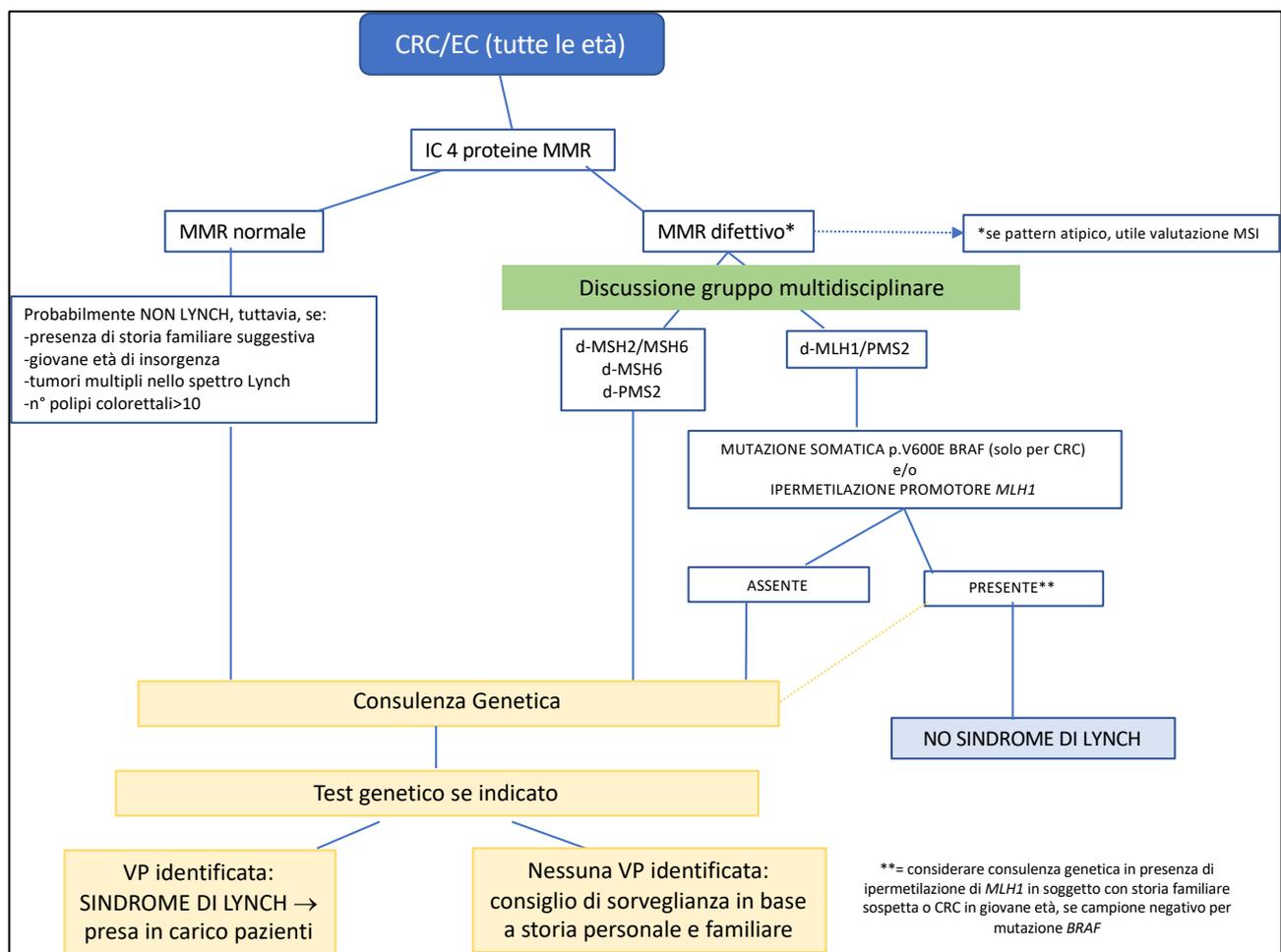
Le caratteristiche cliniche incluse nei criteri di Amsterdam o di Bethesda possono essere utili per l’individuazione, da parte del clinico, dei casi di CCR che hanno maggiore probabilità di essere relati a LS. In base alla forza del sospetto clinico, si può procedere direttamente all’analisi genetica per ricerca di VP nei geni MMR oppure all’esecuzione in via preliminare di test dMMR su campione tumorale. Non esiste una regola prestabilita a questo riguardo, ma è opportuno fare alcune considerazioni:

-La diffusione crescente dello screening universale IC porterà all’identificazione di casi con sospetto mirato su uno specifico gene in base all’esito dei test dMMR su tessuto tumorale. L’analisi potrà essere condotta in

maniera mirata, indagando il singolo gene, oppure nel contesto di un pannello multigenico, in funzione del flusso di laboratorio.

-In caso di sospetto derivato dalla storia clinica e familiare, molti laboratori oggi preferiscono ricorrere direttamente all'analisi NGS, sia per i costi ridotti, sia perché questa consente di evidenziare alterazioni a carico di altri geni. Altri laboratori preferiscono invece procedere prima con i test dMMR per poi focalizzarsi sul gene candidato individuato mediante l'analisi IC. E' importante sottolineare che questo secondo approccio può essere utile per comprendere meglio situazioni complesse o non chiare come ad esempio il significato clinico di alcune varianti genetiche e la loro correlazione con il fenotipo.

Infine, il test va proposto sempre ai consanguinei di portatori accertati di VP associate a SL (si veda di seguito "test a cascata").



**Fig. 1.2.** Algoritmo diagnostico dello screening universale per sindrome di Lynch. VP: variante patogenetica; d-MLH1, d-MSH2, d-MSH6, d-PMS2: deficit di espressione rispettivamente delle proteine MLH1, MSH2, MSH6, PMS2. CCR: Carcinoma ColoRettale.

	GENE MMR COINVOLTO				
		MLH1	MSH2	MSH6	PMS2
PATTERN IC MMR	d-MLH1 + d-PMS2	x	-	-	RARE
	d-MSH2 + d-MSH6	-	x	-	-
	d-MSH6	-	-	x	-
	d-PMS2	RARE	-	-	x

**Fig. 1.3.** Pattern immunoistochimici (IIC) in relazione al locus genetico inattivato da varianti patogenetiche. d-MLH1, d-MSH2, d-MSH6, d-PMS2: deficit di espressione IC rispettivamente di MLH1, MSH2, MSH6, PMS2. IIC: ImmunoistoChimica; VP: Variante Patogenetica.

**Tabella 1.5.** Criteri di Amsterdam.

Almeno tre familiari affetti da CCR, carcinoma dell'endometrio, dell'intestino tenue, o uroteliale)
Un paziente deve essere un parente di primo grado di uno degli altri due
I tumori si presentano in almeno due generazioni successive
Almeno un caso deve essere diagnosticato <50 anni
Deve essere esclusa la diagnosi di poliposi adenomatosa familiare
I tumori devono essere verificati mediante visione dei referti istologici o adeguata documentazione clinica

**Tabella 1.6.** Criteri di Bethesda revisionati. Adattata da: Umar et al., 2004 [18]

<b>CCR diagnosticato &lt;50 anni</b>
<b>Presenza di CCR e/o altri tumori nello spettro della LS* sincroni o metacroni;</b>
<b>CCR diagnosticato &lt;60 anni con aspetti istopatologici associati a fenotipo MSI-H**</b>
<b>CCR diagnosticato in un paziente con almeno un parente di primo grado con tumore nello spettro LS, uno dei quali sia stato diagnosticato &lt;50 anni;</b>
<b>Uno dei tumori diagnosticato &lt;50 anni;</b>
<b>CCR diagnosticato in un paziente con almeno due parenti di primo o secondo grado con tumori nello spettro LS.</b>

\*Tumori nello spettro della sindrome di Lynch: CCR, tumori endometriali, dell'intestino tenue, uroteliali, dello stomaco, dell'ovaio, dell'encefalo (tumori gliali), del tratto epatobiliare, pancreatici, adenomi e carcinomi sebacei della cute.

\*\*aspetti istopatologici associati a MSI-H: presenza di infiltrato linfocitario, reazione linfocitaria Crohn-like, differenziazione mucinosa, pattern di crescita midollare

#### 1.2.4. Test genetico per ricerca di varianti germinali dei geni MMR

Il test genetico per la SL può essere effettuato a scopo diagnostico o per l'individuazione dei familiari a rischio ("test a cascata"). In genere si utilizza DNA isolato da sangue periferico.

*Il test diagnostico* ha lo scopo di identificare la specifica VP causa di SL in una famiglia. Analizza l'intero gene o più geni e deve comprendere l'analisi sia delle varianti puntiformi che l'analisi dei grossi riarrangiamenti (delezioni/duplicazioni). Se positivo, viene confermata la diagnosi di SL. Un risultato negativo va invece considerato non informativo, poiché non è possibile escludere la presenza di VP in regioni non indagate dal test (in particolare regioni non codificanti) e, inoltre, tutte le metodiche utilizzate hanno limiti di sensibilità, sia pure molto contenuti. Non raramente (circa 5% dei casi) si identificano varianti di significato sconosciuto (VUS), che è opportuno rivalutare periodicamente per verificare se la classificazione clinica è cambiata (nel caso siano riclassificate come patogenetiche si potrà poi procedere al test sui familiari)(29).

*Il test "a cascata"* viene effettuato sui parenti biologici dei probandi in cui è stata identificata una VP, per verificare chi ha ereditato la VP familiare causa di LS ed è quindi candidato a misure di prevenzione specifiche. E' un test mirato, che analizza una piccola regione del gene, e viene generalmente effettuato con sequenziamento Sanger o tecnica MLPA (si veda sotto), a seconda della tipologia di alterazione riscontrata nel probando. I parenti che non hanno ereditato la VP familiare hanno un rischio oncologico assimilabile a quello della popolazione generale.

Le metodiche usate sono:

-Sequenziamento diretto tradizionale Sanger (utilizzabile per analisi di un singolo gene dopo test dMMR positivo su tumore e soprattutto per ricerca della VP familiare);

-Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification (MLPA) per la ricerca di ampi riarrangiamenti sbilanciati (delezioni/duplicazioni), incluse le delezioni di *EPCAM*, anche questa eseguita in maniera mirata sui singoli geni, quando la VP identificata nella famiglia appartenga alla categoria di alterazioni identificabili con questa metodica;

-Analisi di pannelli multigenici con metodica NGS: i pannelli possono comprendere i soli geni MMR, oppure anche altri geni di predisposizione a CCR, o ancora un numero ampio di geni di predisposizione a neoplasie; la metodica NGS può anche essere opportunamente calibrata per individuare ampie delezioni/duplicazioni attraverso appositi algoritmi;

-Infine, per l'identificazione di ipermetilazione costituzionale di *MLH1* si deve ricorrere a tecniche specifiche, tra cui la più usata è la MLPA metilazione sensibile, MS-MLPA (27).

#### 1.2.5. Management dei pazienti affetti da sindrome di Lynch

*-Sorveglianza clinico-strumentale*

La sorveglianza colonscopica è fondamentale per la riduzione della mortalità da neoplasie coloretali nei soggetti portatori di VP nei geni MMR. L'intervallo di sorveglianza è generalmente stabilito tra 1 e 2 anni, anche se dati recenti di un ampio studio prospettico suggeriscono che questo possa essere allungato a 3 anni (11,30,31).

Per altri organi non vi sono evidenze di misure efficaci ai fini della riduzione del rischio o della diagnosi precoce (**Tab. 1.7**). Tuttavia, alcune procedure possono essere effettuate, preferibilmente nell'ambito di studi clinici e presso centri di riferimento. Dato l'alto rischio di CE e il rischio aumentato di carcinoma ovarico, è opportuno considerare una visita annuale opzionale a partire dall'età di 25 anni per discutere l'eventuale presenza di sintomi sentinella di tumori ginecologici (26).

#### *-Strategie chirurgiche per la riduzione del rischio*

La colectomia profilattica non è raccomandata, tuttavia è possibile optare, in casi selezionati e in relazione alla volontà del paziente, per una colectomia subtotale al momento della diagnosi di carcinoma (32). Può essere invece discussa l'opzione di eseguire isteroannessiectomia profilattica al completamento del ciclo riproduttivo, per la riduzione del rischio di CE e carcinoma ovarico.

Va comunque tenuto presente che il CE ha un'elevata sopravvivenza mentre la prognosi del carcinoma ovarico associato alla LS è mediamente migliore rispetto alla media dei carcinomi ovarici (33).

#### *Chemioprevenzione*

L'aspirina è stato il primo antiinfiammatorio non steroideo valutato per la chemioprevenzione nella LS. Nello studio CAPP2, a un totale di 861 pazienti con LS sono stati somministrati 600 mg di aspirina o placebo per un massimo di 4 anni. Complessivamente, 600 mg di aspirina somministrati su una media di 25 mesi sono risultati efficaci nel ridurre la ricorrenza di CCR nei pazienti con SL. Come follow-up, è stato avviato CAPP3, uno studio clinico di *dosage finding* mirato a studiare l'effetto a lungo termine dell'aspirina in 3000 pazienti con SL a tre differenti dosi: 100, 300 o 600 mg/giorno (34).

#### **1.2.6. Approcci terapeutici per il CCR associato a sindrome di Lynch**

Da tempo è noto che i CCR che insorgono in pazienti con SL e quelli "MSI-H" non ereditari sono associati ad una prognosi favorevole quando non sono sottoposti a trattamento con 5-fluorouracile in terapia adiuvante. Questo dato è probabilmente correlato alla caratteristica dell'infiltrato linfocitario dei tumori dMMR, indicativa di una risposta immunitaria antitumorale che può essere abrogata dagli effetti immunosoppressivi di questo trattamento chemioterapico (35).

Gli agenti inibitori del checkpoint immunitario sono stati testati in due studi clinici di fase II in pazienti con CCR dMMR. Il primo trial ha dimostrato che pembrolizumab, un anticorpo monoclonale anti-PD-1 umano, somministrato come agente singolo ha indotto un tasso di risposta del 40% e un tasso di sopravvivenza libera da progressione immune a 20 settimane del 78% nei pazienti con CCR MSI-H (ad alto grado di instabilità dei microsatelliti) metastatico (30). Il secondo studio ha testato nivolumab, un altro anticorpo bloccante IgG4 PD-1, che ha dimostrato attività come singolo agente e in combinazione con ipilimumab, un anticorpo monoclonale anti-CTLA4 completamente umano, ottenendo così un doppio blocco del checkpoint (37). La combinazione di entrambi gli inibitori del checkpoint ha permesso di ottenere notevoli risultati (38). Questa notevole attività anti-tumorale mostrata dagli inibitori del checkpoint ha portato la FDA ad approvare l'uso di pembrolizumab nel maggio 2017, poi di nivolumab nel luglio 2017 e successivamente la combinazione di ipilimumab con nivolumab nel luglio 2018 per il trattamento del CCR metastatico dMMR, dopo la progressione alla chemioterapia standard (29). La relativa recente pubblicazione del trial KEYNOTE-177 ha di fatto determinato l'utilizzo standard dei regimi immunoterapici nei tumori MMRd.

Considerazioni analoghe possono essere fatte anche per le forme legate a difetti dei geni *POLE* e *POLD1*, che mostrano un alto tasso di mutazione somatica (*tumori ultraipermutati*)(39).

Anche i CCR con fenotipo dMMR dovuti ad alterazioni esclusivamente somatiche (ipermetilazione del promotore del gene *MLH1* o eventi di doppia mutazione somatica di un gene MMR) giovano del trattamento con i suddetti farmaci (40).

L'utilizzo dello screening tumorale su base universale consente quindi di individuare una quota più ampia di pazienti che possono beneficiare di queste terapie rispetto alle sole forme ereditarie.

**Tabella 1.7.** Misure strumentali e chirurgiche di riduzione del rischio per i soggetti affetti da LS. Adattata da Vasen et al. 2013 [25].

ORGANO	ETÀ DI INIZIO DELLA SORVEGLIANZA (ANNI)*	INTERVALLO DI SORVEGLIANZA (ANNI)*	PROCEDURE
<b>Colon</b>	20–25	1–2	-Colonscopia
<b>Endometrio e ovaio</b>	35–40	1	-Ecografia transvaginale ( <i>NB: Da discutere con la paziente poiché non attualmente non vi sono prove di efficacia</i> ). Biopsie endometriali multiple. -Considerare isterectomia e ooforectomia bilaterale dopo il completamento dei piani riproduttivi o in caso di intervento addominale (es, colectomia), in particolare dopo l'età di 40 anni.
<b>Stomaco</b>	30–35	1-2	-Esofagogastroduodenoscopia in famiglie provenienti da paesi con alta incidenza di carcinoma gastrico, preferibilmente in ambito di ricerca. Screening dei portatori per infezione da <i>H. pylori</i> > 25 anni e terapia antibiotica in soggetti positivi. <i>NB: Attualmente non vi sono prove del beneficio di sopravvivenza in seguito alla sorveglianza.</i>
<b>Urinario</b>	30-35	1	Considerare esame citologico delle urine annuale ed ecografia sono in ambito di ricerca o se i risultati sono raccolti in maniera sistematica da un registro. <i>NB: Attualmente non vi sono prove del beneficio di sopravvivenza in seguito alla sorveglianza.</i>
<b>Altro</b>	ns	ns	-Eventualmente su base di ricerca e in presenza di storia familiare specifica (es. per il pancreas, risonanza magnetica/ecoendoscopia se presenti casi di carcinoma pancreatico in famiglia). <i>Attualmente non vi sono prove del beneficio di sopravvivenza in seguito alla sorveglianza.</i> -Sorveglianza dermatologica per tumori sebacei

\*ns = non specificato

### 1.3. POLIPOSIS ASSOCIATA AL GENE APC (ORPHA:733)

#### 1.3.1. Aspetti epidemiologici e clinici

Per molto tempo questa forma è stata identificata con la “Poliposi Adenomatosa Familiare” (FAP, dall’acronimo inglese), definizione che descrive il fenotipo clinico, comune ad altri tipi con basi genetiche diverse. Per questo motivo oggi si preferisce la definizione, basata sul gene coinvolto, di poliposi associata al gene APC (APC associated poliposis, AAP)(1). La AAP ha una prevalenza di circa 1 su 10.000 ed è alla base di circa l'1% di tutti i CCR. Gli individui affetti sviluppano da centinaia a migliaia di polipi adenomatosi in giovane età (seconda decade di vita) nella forma classica, e un numero più basso di polipi (tra 10 e 100), in età mediamente più avanzata, nella cosiddetta forma attenuata (AFAP o AAAP, rispettivamente da *Attenuated FAP* e *Attenuated AAP*). Nella forma classica l’evoluzione in CCR è inevitabile, con età media di 39 anni alla diagnosi, se non viene effettuata chirurgia profilattica (si veda dopo), mentre la penetranza è incompleta in almeno alcune famiglie con la forma attenuata, nella quale l’età media alla diagnosi è tra 50-55 anni.

La cosiddetta sindrome di Gardner, caratterizzata dallo sviluppo di cisti epidermoidi, fibromi, osteomi mandibolari, anomalie congenite dentarie (denti non erotti, assenza congenita di denti o denti soprannumerari), è una comune variante clinica della AAP (41). Una frequente manifestazione extracolica, innocua dal punto di vista clinico, è l'ipertrofia congenita dell'epitelio pigmentato della retina (CHRPE), presente in circa l'80% dei casi di FAP.

Vi sono anche rischi aumentati di sviluppare tumori a carico di altri organi (Tab. 1.8). Nel tratto digerente il rischio di carcinoma duodenale e gastrico è rispettivamente intorno a 4-12% e 1% (42). Sono più frequenti le neoplasie benigne, adenomi nel duodeno, in particolare nella zona periampollare, e poliposi fundica, ma possono anche osservarsi adenomi, che rappresentano il precursore del carcinoma, a livello dello stomaco (43).

Il 10-30% dei pazienti sviluppa tumori desmoidi (44,45), in 2/3 dei casi in sede intra-addominale o sulla parete dell’addome, spesso in seguito a intervento chirurgico.

Tra i tumori non gastrointestinali (Tab. 1.8), nell’adulto è documentato un aumento del rischio, fino al 12% nelle donne, di cancro della tiroide, in particolare la variante cribriforme-morulare del carcinoma papillare (46,47). Nell’età pediatrica è aumentato il rischio di epatoblastoma e medulloblastoma. L’associazione tra tumori encefalici e poliposi/cancro del colon è definita sindrome di Turcot, e non è limitata al gene APC, poiché si può riscontrare anche nella SL e nella poliposi associata ai geni *POLE/POLD1*, nelle quali si osservano prevalentemente tumori di derivazione gliale (41). Il rischio di tumori extracolici è più basso nelle forme attenuate.

**Tabella 1.8.** Rischio di neoplasie extra-colorettali nella FAP/AAP.

TUMORE	RISCHIO		ETÀ MEDIA ALLA DIAGNOSI (ANNI)
	FAP	AFAP <sup>2</sup>	
Carcinoma duodenale	4-12%	nd	37-42
Carcinoma papillare tiroideo	0,4-12%	nd	37-59
Medulloblastoma	1%	nd	28
Epatoblastoma	<2%	nd	34-40
Desmoidi	10-30%	nd	43

nd = non definito

### 1.3.2. Genetica

La trasmissione è autosomica dominante, anche se una quota significativa di casi si presenta in maniera sporadica per mutazione geminale *de novo* o per mosaicismo somatico conseguente a mutazione post-zigotica nelle prime fasi dello sviluppo embrionale (48,49). È ben documentata l'esistenza di correlazioni genotipo/fenotipo. Fenotipi gravi, caratterizzati dalla presenza di più di 5000 polipi (poliposi "profuse") e insorgenza precoce della malattia, sono associati a specifiche varianti tra i codoni 1250 e 1464 del gene APC (4). Esclusa la suddetta regione, alterazioni localizzate tra i codoni 168 e 1580, sono generalmente associate al fenotipo classico. Le varianti patogenetiche situate alle estremità 5' o 3' del gene APC e nell'esone 9 del gene tendono invece ad essere associate a fenotipi attenuati (50). Tutte le varianti patogenetiche finora identificate a carico del gene APC determinano la codifica di una proteina tronca, e non sono conosciute semplici sostituzioni o delezioni di singoli aminoacidi di rilevanza clinica accertata.

### 1.3.3. Criteri di selezione per il test genetico

L'analisi del gene APC è indicata in due circostanze: A) pazienti con numero di polipi adenomatosi superiore a 10, con o senza CCR; B) parenti sani a rischio di soggetti con variante patogenetica documentata di APC; in questo caso il test è indicato a partire dall'età di 10-12 anni quando è presente una storia familiare di forma classica, poiché lo sviluppo dei polipi può essere molto precoce e richiedere tempestiva esecuzione di intervento chirurgico preventivo; in presenza di una familiarità per la forma attenuata (AAP) il test può essere eseguito nella tarda adolescenza essendo la sorveglianza raccomandata in età più avanzata.

Tecnicamente, è possibile eseguire test in epoca prenatale (diagnosi prenatale o preimpianto), tenendo presente che la gravità delle manifestazioni non è prevedibile a priori. È anche possibile eseguire anche diagnosi genetica preimpianto. In entrambi i casi il rischio di ricorrenza deve essere elevato (un genitore affetto) e deve essere nota la VP familiare causa della patologia.

### 1.3.4. Test genetico per ricerca di varianti germinali del gene APC

Il test genetico può essere effettuato a scopo diagnostico o per l'individuazione dei familiari a rischio ("test a cascata"). In genere si utilizza DNA isolato da sangue periferico.

*Il test diagnostico* ha lo scopo di confermare il sospetto diagnostico e di identificare la specifica VP causa del fenotipo clinico. Analizza l'intero gene (o più geni, ad esempio nel caso si utilizzi un pannello NGS). Se positivo, viene confermata la diagnosi di AAP/FAP. Un risultato negativo va invece considerato non informativo, poiché non è possibile escludere la presenza di VP in regioni non indagate dal test (in particolare regioni non codificanti) e, comunque, tutte le metodiche utilizzate hanno limiti di sensibilità, sia pure molto contenuti. È possibile, anche se più raramente rispetto ai geni MMR il riscontro di varianti di significato sconosciuto, che è opportuno rivalutare periodicamente per verificare se la classificazione clinica è cambiata (nel caso siano riclassificate come patogenetiche si potrà procedere al test sui familiari).

*Il test "a cascata"* viene effettuato sui parenti biologici dei probandi in cui è stata identificata una VP, per verificare chi ha ereditato la VP familiare causa della patologia ed è quindi candidato a misure di prevenzione specifiche. È un test mirato, che analizza una piccola regione del gene, e viene generalmente effettuato con sequenziamento Sanger o tecnica MLPA (si veda sotto), a seconda della tipologia di alterazione riscontrata nel probando. I parenti che non hanno ereditato la VP familiare hanno un rischio oncologico assimilabile a quello della popolazione generale.

Le metodiche usate sono:

- Sequenziamento diretto tradizionale Sanger (utilizzabile per analisi dell'intero gene e soprattutto per ricerca della VP familiare);
- Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification (MLPA) per la ricerca di ampi riarrangiamenti sbilanciati (delezioni/duplicazioni), eseguita anche per ricerca della variante familiare quando la VP appartenga alla categoria di alterazioni identificabili con questa metodica;
- Analisi di pannelli multigenici con metodica NGS: i pannelli utilizzati spesso comprendono anche altri geni di predisposizione a CCR, o anche geni di predisposizione a neoplasie di altro tipo; la metodica NGS può anche

essere opportunamente calibrata per individuare ampie delezioni/duplicazioni attraverso appositi algoritmi; inoltre, è la metodica di elezione per l'identificazione di casi di mosaicismo.

### 1.3.5. Management dei pazienti FAP

Diverse società scientifiche e gruppi di lavoro hanno pubblicato linee guida riguardo alle misure per la riduzione del rischio nella FAP (51-53).

#### *-Sorveglianza clinico-strumentale*

Nelle forme classiche la colonscopia (o sigmoidoscopia fino al riscontro dei primi polipi), su base annuale, è indicata a partire dall'età di 12-15 anni, fino a quando il numero di polipi non cresca significativamente e/o questi non siano più maneggiabili endoscopicamente e diventi necessario l'approccio chirurgico. Dopo l'intervento, va effettuato monitoraggio del moncone rettale o della tasca ileale, a seconda del tipo di operazione eseguita (si veda sotto). L'inizio dei controlli endoscopici è ritardato nelle forme attenuate (tarda adolescenza).

Per il tratto digerente superiore è indicata esofagogastroduodenoscopia (EGDS) a partire dal 20-25 anni di età o prima dell'intervento di chirurgia profilattica del colon, ad intervalli compresi tra 3 mesi e 4 anni a seconda della situazione rilevata in occasione dell'ultimo esame (54).

Per il carcinoma tiroideo, si può prendere in considerazione esame clinico annuale della tiroide a partire dai 18 anni circa ed ecografia tiroidea ogni 2-5 anni, con intervalli più ravvicinati in caso di familiarità positiva per neoplasia tiroidea (53).

#### *-Strategie chirurgiche per la riduzione del rischio*

I pazienti affetti da forma classica sono sottoposti ad asportazione dell'intero colon-retto al momento della diagnosi clinica oppure, nei soggetti sani in follow, quando il numero o altre caratteristiche dei polipi non consentono di limitarsi all'asportazione per via endoscopica. Le principali opzioni chirurgiche sono: pancolectomia con anastomosi ano-tasca ileale (IPAA) oppure ileorettoanastomosi (IA); la scelta dipende in parte dal numero di polipi rettali presenti. Nelle forme attenuate la decisione chirurgica va valutata di caso in caso in base al quadro endoscopico.

#### *-Chemioprevenzione*

Diversi antiinfiammatori non steroidei (aspirina, celecoxib, sulindac) sono stati impiegati in studi mirati a verificarne gli effetti sul numero e la dimensione dei polipi, a livello coloretale e duodenale. Allo stato attuale nessun farmaco è approvato a questo scopo dalle autorità regolatorie, per cui sorveglianza e prevenzione chirurgica restano il gold standard (53). Lo stesso vale per l'acido eicosapentanoico, un acido grasso poli-insaturo omega 3.

## 1.4. POLIPOSIS ASSOCIATA AL GENE *MUTYH* (MAP)<sub>1</sub>(ORPHA:733)

### 1.4.1. Aspetti epidemiologici e clinici

La prevalenza della MAP è stimata tra 1/5.000 e 1/40.000. Dal punto di vista clinico le caratteristiche sono simili a quelle della FAP/AAP, con fenotipo mediamente più lieve (non sono note forme profuse) e comparsa in età più avanzata, in media a 50 anni. Il rischio di CCR è intorno all'85-88% (55) (Tab. 1.1), e le manifestazioni extracoliche sono più rare (54). Oltre ai polipi adenomatosi sono stati descritti anche polipi iperplastici e serrati (55).

### 1.4.2. Genetica

La MAP è trasmessa come carattere autosomico recessivo. Ciò rende conto anche della modalità di presentazione, che in genere è sporadica o riguarda individui appartenenti ad una stessa fratria. Raramente si può osservare trasmissione verticale da genitore a figlio, quando l'altro genitore è portatore sano di una VP. La condizione è dovuta alla presenza di alterazioni a carico di entrambe le copie (varianti bialleliche) del gene *MUTYH*, implicato nel riparo del DNA per escissione di basi (Base Excision Repair, BER). L'inattivazione del sistema BER determina un aumento di specifiche mutazioni somatiche che hanno frequenza particolarmente elevata nelle neoplasie associate a MAP (58), in particolare c.34G>T del gene *KRAS* (59).

Nella popolazione europea due varianti, p.Tyr179Cys e p.Gly396Asp, sono particolarmente frequenti, rappresentando più della metà delle VP di *MUTYH* identificate in pazienti MAP in pazienti europei (60). La frequenza dei portatori sani di varianti monoalleliche è stimata in circa 1-2% (61); alcuni dati indicano che i soggetti portatori potrebbero un moderato aumento di rischio di CCR (55).

#### 1.4.3. Criteri di selezione per il test genetico

Le condizioni di sospetto clinico di MAP per le quali è indicato il test genetico sono principalmente:

- riscontro endoscopico di  $\geq 10$  adenomi sviluppati entro i 60 anni, oppure  $>20$  tra polipi adenomatosi, iperplastici e serrati sessili sviluppati a qualunque età;
- CCR che presenta le sopramenzionate caratteristiche molecolari della MAP, mutazione c.34G>T *KRAS* e/o *signature* mutazionale caratteristica di difetto BER, indipendentemente dalla presenza di polipi, nelle cellule neoplastiche di in un paziente affetto da CCR.

Per quanto riguarda l'analisi dei parenti di un probando con diagnosi confermata dal test genetico (2 VP identificate), sono da considerare diversi scenari:

- i fratelli di un probando con VP bialelica sono testati per verificare a) se hanno anch'essi ereditato entrambe le varianti (nel qual vanno indirizzati al percorso specifico per la riduzione del rischio oncologico), oppure b) se hanno una variante monoallelica, condizione che non comporta rischi clinici significativi ma che può essere rilevante per i rischi nella prole (si veda sotto in merito ai figli dei probandi)
- i figli: questi sono tutti portatori sani obbligati. Considerata l'alta frequenza dei portatori sani nella popolazione generale, è opportuno verificare se lo sia l'altro genitore eseguendo l'analisi dell'intero gene. In questo caso il test può essere eseguito direttamente sul figlio oppure sul genitore (in teoria preferibile, perché, se non risultasse portatore, non vi sarebbero rischi per nessuno dei figli)
- parenti oltre il 1° grado (zii, cugini): sono testati per verificare l'eventuale stato di portatore sano; in caso di positività, vale quanto detto sopra per i figli.

#### 1.4.4. Test genetico per ricerca di varianti germinali del gene *MUTYH*

Il test genetico può essere effettuato a scopo diagnostico o per l'individuazione dei familiari a rischio e dei portatori sani ("test a cascata"). In genere si utilizza DNA isolato da leucociti di sangue periferico.

*Il test diagnostico* ha lo scopo di confermare il sospetto diagnostico e di identificare le specifiche VP causa del fenotipo clinico. Analizza l'intero gene (o più geni, ad esempio nel caso si utilizzi un pannello NGS). Se positivo, viene confermata la diagnosi di MAP. Un risultato negativo oppure il riscontro di un'unica variante monoallelica va invece considerato non informativo, poiché non è possibile escludere la presenza di VP in regioni non indagate dal test (in particolare regioni non codificanti) e, comunque, tutte le metodiche utilizzate hanno limiti di sensibilità, sia pure molto contenuti. Non è raro il riscontro varianti di significato sconosciuto, che è opportuno rivalutare periodicamente per verificare se la classificazione clinica è cambiata (nel caso siano riclassificate come patogenetiche si potrà procedere al test sui familiari).

*Il test "a cascata"* viene effettuato sui parenti biologici dei probandi in cui sono state identificate alterazioni bialeliche. E' un test mirato, che analizza una piccola regione del gene, e viene generalmente effettuato con sequenziamento Sanger o tecnica MLPA (si veda sotto), a seconda della tipologia di alterazione riscontrata nel probando.

I parenti che non hanno ereditato la VP familiare hanno un rischio oncologico assimilabile a quello della popolazione generale. Per i parenti con varianti monoalleliche si veda più avanti.

Come precedentemente detto, nei figli dei soggetti affetti da MAP è indicato il sequenziamento dell'intero gene, al fine di escludere la presenza di una variante ereditata dall'altro genitore.

Le metodiche usate sono:

- Sequenziamento diretto tradizionale Sanger (utilizzabile per analisi dell'intero gene e soprattutto per ricerca della VP familiare);
- Eventualmente Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification (MLPA) per la ricerca di ampi riarrangiamenti sbilanciati (delezioni/duplicazioni), tenendo conto che questo tipo di alterazioni è molto raro per *MUTYH*;

-Analisi di pannelli multigenici con metodica NGS: i pannelli utilizzati spesso comprendono anche altri geni di predisposizione a CCR, o anche geni di predisposizione a neoplasie di altro tipo; la metodica NGS può anche essere opportunamente calibrata per individuare ampie delezioni/duplicazioni attraverso appositi algoritmi.

#### **1.4.5. Management dei pazienti MAP**

##### *-Sorveglianza clinico-strumentale*

La colonscopia è indicata a partire dall'età di 25-30 anni, ad intervalli di 1-2 anni. Per il tratto digerente superiore è indicata EGDS a partire dal 30-35 anni di età, ad intervalli compresi tra 3 mesi e 4 anni a seconda della situazione rilevata in occasione dell'ultimo esame (54). Allo stato attuale, non vi sono indicazioni specifiche per i portatori di VP monoalleleliche di *MUTYH*; in caso di storia familiare di CCR in un parente di I grado è indicata colonscopia a partire dall'età di 40 anni oppure 10 anni prima dell'età in cui è stato diagnosticato il caso più precoce di CCR in famiglia (53).

##### *-Strategie chirurgiche per la riduzione del rischio*

I pazienti affetti da forma classica sono sottoposti ad asportazione dell'intero colon-retto al momento della diagnosi clinica oppure, nei soggetti sani in follow-up, quando il numero o altre caratteristiche dei polipi non consentono di limitarsi all'asportazione per via endoscopica. Le opzioni chirurgiche sono quelle indicate per la FAP.

##### *-Chemioprevenzione*

Non essendo disponibili dati da trial clinici, non vi sono indicazioni specifiche per la MAP.

### **1.5. SINDROME DI PEUTZ-JEGHERS (ORPHA:2869)**

#### **1.5.1. Aspetti epidemiologici e clinici**

La sindrome di Peutz-Jeghers (PJS) ha una prevalenza variamente stimata tra 1/25.000 e 1/280.000 (62). Clinicamente è caratterizzata dallo sviluppo di polipi amartomatosi, caratteristica pigmentazione mucocutanea e aumento del rischio di neoplasie. I polipi sono localizzati prevalentemente nel tratto gastrointestinale (più frequenti nell'intestino tenue), ma anche in altri distretti (cistifellea, vie nasali, vie urinarie, polmoni). Hanno aspetto tipico, consistente nella presenza di un nucleo centrale di fibre muscolari lisce ramificate ricoperte da mucosa con epitelio ghiandolare normale o iperplastico, che consente di distinguerli da altri polipi amartomatosi, in particolare quelli giovanili (56). I polipi, spesso a comparsa in età pediatrica, possono causare ostruzione intestinale da intussuscezione o anemia da sanguinamento cronico. La pigmentazione consiste in macchie melanocitarie di colore da bluastro a marrone scuro, localizzate a livello della regione periorale, all'interno delle narici, nella regione perianale, all'interno della bocca e sulle dita. Tendono a comparire dopo i 5 anni e sbiadiscono fino a scomparire con l'età. Il rischio neoplastico riguarda diversi distretti (**Tab. 1.9**), anche se l'incidenza effettiva potrebbe essere diversa dato che le stime sono basate su casistiche di dimensioni piuttosto limitate a causa della rarità della condizione (62-64). Caratteristiche sono alcune neoplasie molto rare nella popolazione generale, come il tumore ovarico di tipo SCTAT e l'adenocarcinoma della cervice mucinoso di tipo gastrico (ex adenoma maligno della cervice) (65). La diagnosi di PJS può essere formulata clinicamente quando è presente almeno uno dei seguenti criteri (66): A)  $\geq 3$  polipi intestinali di tipo PJS; B)  $\geq 1$  polipo di tipo PJS in un soggetto che ha storia familiare confermata di PJS in parenti di I grado; C) caratteristica pigmentazione mucocutanea in un soggetto che ha storia familiare confermata di PJS in parenti di I grado; D)  $\geq 1$  polipo PJS in un soggetto che ha anche pigmentazione caratteristica.

#### **1.5.2. Genetica**

La condizione è trasmessa come carattere autosomico dominante a penetranza apparentemente completa. Sono relativamente frequenti i casi sporadici dovuti a mutazioni germinali *de novo*. Finora un unico gene, l'oncosoppressore *STK11*, è stato implicato nella PJS. Varianti patogenetiche inattivanti a carico di *STK11* sono

riscontrate in più del 90% dei casi rispondenti ai criteri diagnostici. La maggior parte delle alterazioni sono di tipo puntiforme, ma una proporzione rilevante (10-30%) è rappresentata da ampi riarrangiamenti sbilanciati (67,68).

### 1.5.3. Criteri di selezione per il test genetico

Il test genetico è indicato in A) pazienti con sospetto clinico (es., >2 polipi PJS, pigmentazione caratteristica, SCTAT) o diagnosi stabilita in base ai criteri clinici menzionati sopra; B) parenti sani a rischio di soggetti con VP documentata; in questo caso il test è indicato a partire dall'infanzia, poiché lo sviluppo dei polipi può essere molto precoce e richiedere attento monitoraggio; C) individui apparentemente sani con storia familiare di PJS (diagnosi clinica confermata, test genetico non effettuato o risultato non disponibile).

### 1.5.4. Test genetico per ricerca di varianti germinali del gene *STK11*

Il test genetico può essere effettuato a scopo diagnostico o per l'individuazione dei familiari a rischio ("test a cascata"). In genere si utilizza DNA isolato da leucociti periferici.

*Il test diagnostico* ha lo scopo di confermare il sospetto diagnostico e di identificare la specifica VP causa del fenotipo clinico. Analizza l'intero gene *STK11*. Se positivo, viene confermata la diagnosi di PJS. Un risultato negativo va invece considerato non informativo, poiché non è possibile escludere la presenza di VP in regioni non indagate dal test (in particolare regioni non codificanti) o a carico di altri geni ancora non identificati. E' possibile il riscontro di varianti di significato sconosciuto, che è opportuno rivalutare periodicamente per verificare se la classificazione clinica è cambiata (nel caso siano riclassificate come patogenetiche si potrà procedere al test sui familiari).

*Il test "a cascata"* viene effettuato sui parenti biologici dei probandi in cui è stata identificata una VP, per verificare chi ha ereditato la VP familiare causa della patologia ed è quindi candidato a misure di prevenzione specifiche. E' un test mirato, che analizza una piccola regione del gene, e viene generalmente effettuato con sequenziamento Sanger o tecnica MLPA (si veda sotto), a seconda della tipologia di alterazione riscontrata nel probando. I parenti che non hanno ereditato la VP familiare hanno un rischio oncologico assimilabile a quello della popolazione generale.

Le metodiche usate sono:

- Sequenziamento diretto tradizionale Sanger (utilizzabile per analisi dell'intero gene e soprattutto per ricerca della VP familiare); dato che ad oggi è conosciuto un solo gene responsabile di PJS, di dimensioni relativamente piccole, questo approccio può essere preferibile quando la diagnosi è clinicamente confermata, anche se non è in grado di rilevare eventuali mosaicismi somatici;
- Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification (MLPA) per la ricerca di ampi riarrangiamenti sbilanciati (delezioni/duplicazioni), eseguita anche per ricerca della variante familiare quando la VP appartenga alla categoria di alterazioni identificabili con questa metodica;
- Analisi di pannelli multigenici con metodica NGS: i pannelli utilizzati spesso comprendono anche altri geni di predisposizione a CCR, o anche geni di predisposizione a neoplasie di altro tipo; la metodica NGS può anche essere opportunamente calibrata per individuare ampie delezioni/duplicazioni attraverso appositi algoritmi; inoltre, è la metodica di elezione per l'identificazione di casi di mosaicismo.

Tecnicamente è possibile eseguire test in epoca prenatale (diagnosi prenatale o preimpianto) quando uno dei genitori è affetto, tenendo presente che la gravità delle manifestazioni non è prevedibile a priori.

### 1.5.5. Management dei pazienti PJS

#### -Sorveglianza clinico-strumentale

Per l'apparato gastrointestinale sono indicate colonscopia e EGDS basale in tarda adolescenza, da ripetere ad intervalli di 2-3 anni in caso di esito positivo, oppure, in caso di esito negativo, a 18 anni, e quindi ogni 3 anni. Per la sorveglianza dell'intestino tenue è indicata videocapsula endoscopica o enterografia RM sempre a partire dall'età di 8 anni ad intervalli di 3 anni. Considerato il rischio di altre neoplasie è raccomandato mettere in atto altre misure specifiche (**Tab. 1.10**).

*-Strategie chirurgiche per la riduzione del rischio*

Non sono indicati interventi preventivi per neoplasie gastrointestinali.

**Tabella 1.9.** Rischio di neoplasie extra-colorettali nella sindrome di Peutz-Jeghers. Adattata da Van Lier et al., 2010 (61).

NEOPLASIA	RISCHIO	ETÀ MEDIA ALLA DIAGNOSI (ANNI)
Carcinoma gastrico	29%	30-40
Carcinoma intestino tenue	13%	37-42
Carcinoma mammario	32%-54%	37-59
Tumore maligno ovarico dello stroma e dei cordoni sessuali ( <i>Sertoli Cell Tumor with Annular Tubules, SCTAT</i> )	21%	28
Adenoarcinoma della cervice mucinoso di tipo gastrico	10%	34-40
Carcinoma endometriale	9%	43
Carcinoma pancreatico	11%-36%	41-52
Tumori testicolare a cellule del Sertoli	9%	6-9
Carcinoma pancreatico	7%-17%	47

**Tabella 1.10.** Sorveglianza nella sindrome di Peutz-Jeghers. Adattata da Beggs et al., 2010 (63).

SEDE	MISURE SUGGERITE	ETÀ/INTERVALLO DI TEMPO
<b>Apparato genitale</b>	-Esame obiettivo testicolare -Ecografia scrotale -Pap test in fase liquida	-da 0 a 12 anni/annuale  -In presenza di anomalie riscontrate all'esame obiettivo  -Dai 25 anni/ogni 3 anni
<b>Apparato gastrointestinale</b>	-EGDS  -Colonscopia  -Videocapsula endoscopica	-Basale a 8 anni/Se positiva per polipi: ripetere ogni 3 anni fino a 50 anni; se negative, ripetere a 18 anni, poi ogni 3 anni fino a 50 anni  -Basale a 8 anni/ Se positiva per polipi: ripetere ogni 3 anni fino a 50 anni; se negative, ripetere a 18 anni, poi ogni 3 anni fino a 50 anni; > 50 anni ogni 1-2 anni  -8 anni/cadenza triennale
<b>Mammelle</b>	-Autopalpazione  -Risonanza magnetica  -Mammografia	-18 anni/mensile  -25-30 anni/annual fino a 50 anni  ->50 anni/annuale
<b>Indicazioni generali</b>	-Emocromo  -Test di funzionalità epatica  -Esame obiettivo	-dalla nascita/annuale  -dalla nascita/annuale  -dalla nascita/annuale

## 1.6. POLIPOSIS GIOVANILE (ORPHA:2929)

### 1.6.1 Aspetti epidemiologici e clinici

La poliposi giovanile ha una prevalenza stimata tra 1/100.000 e 1/160.000 (67), ed è caratterizzata dallo sviluppo di polipi amartomatosi del tratto gastrointestinale (stomaco, intestino tenue e crasso). Il termine “giovane” è riferito più all’aspetto istologico che all’età di comparsa, anche se la diagnosi avviene mediamente all’età di 18 anni (53); i polipi sono di forma tondeggianti con crescita di lamina propria edematosa contenente ghiandole con dilatazioni cistiche rivestite da epitelio rigenerativo serrato e a volte ricchi di infiltrato infiammatorio (56); questo aspetto è marcatamente diverso rispetto al polipo PJS. Il rischio lifetime di CCR è compreso tra 39 e 68% (70). E’ stato rilevato un aumento di rischio di carcinoma gastrico, fino al 30% lifetime, e pancreatico, ancora non definito. Dal punto di vista clinico, la diagnosi di poliposi giovanile può essere formulata in presenza di uno dei seguenti criteri: A)  $\geq 5$  polipi coloretali di istotipo giovanile; B) molteplici polipi coloretali nel tratto digerente superiore e inferiore; C) almeno un polipo giovanile in presenza di storia familiare di poliposi giovanile confermata (70).

Poiché il pathway molecolare alterato nella poliposi giovanile è coinvolto anche nello sviluppo dell’apparato vascolare, possono essere presenti le seguenti manifestazioni a questo livello, teleangectasie e malformazioni artero-venose tipiche della teleangectasia emorragica ereditaria (HHT) e aneurisma dell’aorta toracica, in particolare nelle forme associate a difetti del gene *SMAD4* (71).

### 1.6.2. Genetica

La trasmissione è autosomica dominante, anche se più di metà dei casi si presenta in maniera sporadica per mutazione geminale *de novo* (65). Allo stato attuale si conoscono due geni implicati nella poliposi giovanile, *SMAD4* e *BMPR1A*, entrambi appartenenti alla via di segnalazione del TGF $\beta$  (*transforming growth factor  $\beta$* ). VP che causano perdita di funzione di questi geni sono riscontrate in circa il 50-60% dei casi rispondenti ai criteri diagnostici (56). La maggior parte delle alterazioni sono di tipo puntiforme, ma una proporzione rilevante (15-17%) è rappresentata da ampi riarrangiamenti sbilanciati (72). Tra questi ultimi, le microdelezioni della regione cromosomica 10q23.2-10q23.3 sono caratterizzati da fenotipo particolarmente aggressivo ad insorgenza precoce, denominato *poliposi giovanile infantile*, dovuto alla concomitante delezione del gene *PTEN*, anch’esso contenuto nel tratto deletato.

### 1.6.3. Criteri di selezione per il test genetico

Il test genetico è indicato in A) pazienti con sospetto clinico ( $>2$  polipi giovanili) o diagnosi stabilita in base ai criteri clinici menzionati sopra; B) parenti sani a rischio di soggetti con VP documentata; in questo caso il test è indicato a partire dall’infanzia, poiché lo sviluppo dei polipi può essere molto precoce e richiedere attento monitoraggio; C) individui apparentemente sani con storia familiare di PJS (diagnosi clinica confermata, test genetico non effettuato o risultato non disponibile).

### 1.6.4. Test genetico per ricerca di varianti germinali dei geni *SMAD4* e *BMPR1A*

Il test genetico può essere effettuato a scopo diagnostico o per l’individuazione dei familiari a rischio (“test a cascata”). In genere si utilizza DNA isolato da leucociti da sangue periferico.

Il test diagnostico ha lo scopo di confermare il sospetto diagnostico e di identificare la specifica VP causa del fenotipo clinico. Analizza gli interi geni *SMAD4* e *BMPR1A* (o anche ulteriori geni, qualora si utilizzi un pannello NGS più ampio). Se positivo, viene confermata la diagnosi di poliposi giovanile. Un risultato negativo va invece considerato non informativo, poiché non è possibile escludere la presenza di VP in regioni non indagate dal test (in particolare regioni non codificanti) o a carico di altri geni ancora non identificati. E’ possibile il riscontro di varianti di significato sconosciuto, che è opportuno rivalutare periodicamente per verificare se la classificazione clinica è cambiata (nel caso siano riclassificate come patogenetiche si potrà procedere al test sui familiari).

Il test “a cascata” viene effettuato sui parenti biologici dei probandi in cui è stata identificata una VP, per verificare chi ha ereditato la VP familiare causa della patologia ed è quindi candidato a misure di prevenzione specifiche. E’ un test mirato, che analizza una piccola regione del gene, e viene generalmente effettuato con sequenziamento Sanger o tecnica MLPA (si veda sotto), a seconda della tipologia di alterazione riscontrata nel probando. I parenti che non hanno ereditato la VP familiare hanno un rischio oncologico assimilabile a quello della popolazione generale.

Le metodiche usate sono:

-Sequenziamento diretto tradizionale Sanger (utilizzabile per analisi dell’intero gene e soprattutto per ricerca della VP familiare);

-Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification (MLPA) per la ricerca di ampi riarrangiamenti sbilanciati (delezioni/duplicazioni), eseguita anche per ricerca della variante familiare quando la VP appartenga alla categoria di alterazioni identificabili con questa metodica;

-Analisi di pannelli multigenici con metodica NGS: i pannelli utilizzati spesso comprendono anche altri geni di predisposizione a CCR, o anche geni di predisposizione a neoplasie di altro tipo; la metodica NGS può anche essere opportunamente calibrata per individuare ampie delezioni/duplicazioni attraverso appositi algoritmi; inoltre, è la metodica di elezione per l’identificazione di casi di mosaicismo.

Tecnicamente è possibile eseguire test in epoca prenatale (diagnosi prenatale o preimpianto) quando uno dei genitori è affetto, tenendo presente che la gravità delle manifestazioni non è prevedibile a priori.

#### **1.6.5. Management dei pazienti con poliposi giovanile**

*-Sorveglianza clinico-strumentale*

In soggetti positivi al test è indicata colonscopia a partire dai 15 anni, da ripetere ogni 3 anni in caso di esito negativo o annualmente in caso di esito positivo. E’ indicata EGDS per il rischio di carcinoma gastrico e del duodeno; l’età d’inizio e gli intervalli di sorveglianza sono oggetto di discussione; l’inizio varia da 15 a 18 e a 25 anni, e può essere stabilito in base al gene coinvolto, poiché sono stati osservati rischi più alti per *BMPR1A* rispetto a *SMAD4* (73); l’intervallo varia da 1-3 anni in base ai risultati precedenti (72,73). Da considerare anche monitoraggio e sorveglianza per problematiche cardiovascolari collegate a HHT in pazienti con VP di *SMAD4* (52,69,72,73). Questi pazienti devono sempre essere inviati in centri specializzati per HHT.

*-Strategie chirurgiche per la riduzione del rischio*

La colectomia va considerata se il numero, le dimensioni e/o le dei polipi dimensioni non sono gestibili endoscopicamente. Anche la gastrectomia può essere considerata in caso di displasia di alto grado, carcinoma o poliposi massiva non trattabile endoscopicamente.

#### **1.7. ALTRE POLIPOSIS SU BASE GENETICA**

Sono note almeno altre due forme, molto rare, di poliposi adenomatosa, non ancora ben caratterizzate clinicamente, associate caratterizzate da aumentato rischio di CCR (54). Una forma, dominante, è dovuta a difetti dei geni *POLD1* e *POLE* (*PPAP*, *Polymerase Proofreading Associated Polyposis*), che codificano subunità di due DNA polimerasi. Sono descritti diversi casi di tumori extracolici (gliomi, carcinoma dell’endometrio), e la caratteristica comune delle neoplasie patogeneticamente legate ad alterazioni di questi geni è rappresentata dalla presenza di un grande numero di mutazioni somatiche (fenotipo iper-ultramutato, con altissimo carico mutazionale), che rappresenta un potenziale indicatore di risposta a trattamenti con inibitori di PDL1).

La poliposi legata a difetti del gene *NHTL1*, implicato nel BER, autosomica recessiva, è una vera e propria sindrome multitumorale, di cui ad oggi sono noti pochi casi.

Un’altra rara forma di poliposi associata a rischio di CCR, dovuta a difetti del gene *GREM1* è di tipo misto, con polipi adenomatosi, iperplastici e giovanili (74).

Infine, polipi amartomatosi giovanili e altre neoplasie benigne del tratto gastrointestinale, tra cui ganglioneuromi, si osservano nella sindrome amartomatosa multitumorale associata al gene *PTEN*, che ha uno spettro fenotipico tumorale e non tumorale molto ampio (56).

## 2. CARCINOMA GASTRICO EREDITARIO

### 2.1. INQUADRAMENTO GENERALE

#### 2.1.1. Epidemiologia e sindromi genetiche

Circa il 10% dei pazienti con carcinoma gastrico (CG) ha una storia familiare positiva per la stessa neoplasia, e si stima che l'1-3% dei casi sia di natura propriamente ereditaria (73). Si conosce attualmente una condizione caratterizzata da alto rischio di CG con base genetica nota: la sindrome del CG ereditario di istotipo diffuso (HDGC). Un aumento del rischio di carcinoma gastrico è stato riportato anche in altre condizioni, anche se con rischi inferiori, tra cui poliposi giovanile, sindrome di Lynch, una forma di AAP con coinvolgimento pressochè esclusivamente gastrico (GAPPS) e sindrome di Peutz-Jeghers (**Tab. 2.1**); per queste sindromi, si rimanda al Capitolo 1. Esistono inoltre diverse famiglie con 2 o più casi di carcinoma gastrico di istotipo intestinale, ma allo stato attuale non sono stati identificati geni coinvolti in questa associazione.

#### 2.1.2. Criteri diagnostici

La diagnosi si basa su elementi specifici per ciascuna condizione: numero di casi in famiglia, età alla diagnosi, associazione con altri specifici tipi di neoplasie (altamente specifica è l'associazione tra carcinoma gastrico diffuso e carcinoma della mammella - CM - di istotipo lobulare; CLM) e con altre caratteristiche cliniche o molecolari (es. evidenza di deficit del MMR – dMMR - nei tumori associati a sindrome di Lynch).

La conferma diagnostica viene data dal test genetico, che può essere condotta analizzando un singolo gene o pannelli multigenici mediante NGS.

#### 2.1.3. Implicazioni per la prevenzione

L'individuazione di soggetti a rischio elevato di CG su base ereditaria ha una significativa importanza ai fini della prevenzione primaria e secondaria sia nei soggetti affetti che nei parenti sani portatori di VP in un gene di predisposizione. Allo stato attuale non vi sono evidenze di efficacia di strumenti di screening, inclusa in particolare l'endoscopia, ai fini della diagnosi precoce in individui a basso rischio. Studi osservazionali eseguiti su popolazioni ad alto rischio (Cina, Corea del Sud e Giappone) hanno evidenziato una sostanziale riduzione della mortalità per CG in soggetti sottoposti a screening endoscopico, ma non sono disponibili dati derivati da studi prospettici (76). In linea di principio, lo screening endoscopico, associato a biopsie, può essere effettuato in soggetti ad alto rischio su base ereditaria, ma attualmente non vi sono evidenze di efficacia. La gastrectomia totale profilattica è riservata alle forme associate ad alta mortalità per GC, HDGC in particolare. Diversi casi familiari di GC senza base genetica nota coincidono con aggregazione familiare di infezione da *H. pylori*. I risultati di studi condotti su una popolazione ad alto rischio suggeriscono che il trattamento specifico per *H. pylori* potrebbe ridurre il rischio di CG nei parenti di I grado di pazienti affetti da CG (77). Lo screening per *H. pylori* e il conseguente trattamento specifico sono indicati nella sindrome di Lynch (Tab. 1.7).

#### 2.1.4 Implicazioni per la terapia

Come per il CCR, il riscontro di dMMR può essere utile per l'identificazione di pazienti candidati a immunoterapia, anche se solo una piccola frazione dei casi positivi ha la sindrome di Lynch.

**Tabella 2.1.** Sindromi associate a predisposizione al carcinoma gastrico con basi genetiche note. Adattata da Slavin et al., 2019 (75).

Sindrome	Geni coinvolti	Rischio lifetime di carcinoma gastrico
HDGC	<i>CDH1, CTNNA1</i>	Fino a 70%
GAPPS	<i>APC</i>	Significativo, ma non ancora determinato
Sindrome di Lynch	<i>MLH1, MSH2, MSH6, PMS2</i>	6-9%
Sindrome di Peutz-Jeghers	<i>STK11</i>	Fino a 29%
Sindrome di Li-Fraumeni	<i>TP53</i>	1-4%
AAP (FAP)	<i>APC</i>	<1%
Poliposi giovanile	<i>SMAD4, BMPR1A</i>	Fino a 21%

## 2.2. CARCINOMA GASTRICO EREDITARIO DIFFUSO (HDGC) (ORPHA:26106)

### 2.2.1. Aspetti clinici ed epidemiologici

L'incidenza dell'HDGC è stimata in 5-10/100.000 nati (78). Dal punto di vista clinico, la sindrome è caratterizzata da elevato rischio di CG e CM, rispettivamente di istotipo diffuso (CGD) e lobulare (CLM). Il CGD è caratterizzato dalla presenza di cellule ad anello con castone e tende a svilupparsi in età particolarmente precoce, con una media alla diagnosi di 37 anni (79). Analizzando famiglie con caratteristiche di predisposizione ereditaria, il rischio di GC entro l'età di 80 anni è pari a 70% per i maschi e 56% per le femmine (80). Tuttavia, studi successivi, eseguiti su casistiche che includevano pazienti non rispondenti ai criteri di selezione per il test genetico tradizionalmente usati hanno mostrato valori più bassi (78). Nelle donne, il rischio di CM è compreso tra 39% e 55%. In alcune famiglie si osserva labio- e/o palatoschisi (81).

### 2.2.2. Genetica

L'HDGC è trasmesso come carattere autosomico dominante a penetranza incompleta. Il gene principalmente coinvolto è *CDH1*, un oncosoppressore coinvolto nell'adesione cellulare codificante la E-caderina. I CGD e i CLM, ereditari o meno, sono caratterizzati da assenza di espressione di questa molecola. VP costituzionali di *CDH1* si riscontrano in circa il 10-40% dei casi con sospetto HDGC. In rare famiglie sono state identificate VP a carico del gene *CTNNA1*, codificante l' $\alpha$ -catenina, che, insieme alla  $\beta$ -catenina, lega la E-caderina. Non sono ancora stati definiti i rischi associati a difetti di *CTNNA1*, ma ad oggi nelle famiglie individuate non sono stati riscontrati casi di CLM (75).

### 2.2.3. Criteri di selezione per il test genetico

I criteri per la selezione dei casi da indirizzare al test genetico sono stati recentemente rivisti dall'International Gastric Cancer Linkage Consortium (IGCLC), anche alla luce delle crescenti evidenze che indicano ampia variabilità interfamiliare del rischio neoplastico (78). I nuovi criteri sono suddivisi in base alla presenza di indicatori legati alla storia familiare e a caratteristiche individuali:

#### Criteri familiari

1.  $\geq 2$  casi di CG in famiglia, a qualunque età, almeno uno dei quali sia documentato come CGD
2.  $\geq 1$  caso di CGD a qualunque età e  $\geq 1$  caso di CLM diagnosticato <70 anni in altri membri della famiglia
3.  $\geq 2$  parenti affette ai CLM diagnosticato <50 anni

### Criteria individuali

- CGD diagnosticato <50 anni (a qualunque età se il paziente è di etnia Maori, considerata la elevata prevalenza di portatori di VP *CDH1* in questa popolazione)
- CGD a qualunque età in persone con storia personale o familiare (in parenti di I grado) di labio-o palatoschisi.
- CGD e CLM nella stessa persona, diagnosticati entrambi <70 anni
- CLM bilaterale diagnosticato <70 anni
- Riscontro di cellule ad anello con castone in situ o con diffusione pagetoide nello stomaco in un individuo < 50 anni

E' fondamentale aver verificato la diagnosi istologica delle neoplasie, o di almeno una neoplasia se il criterio prevede la presenza di almeno due tumori. Altre tipologie istologiche di CG e CM non vanno considerate nell'ambito di questi criteri di selezione, poiché non sono associate con l'HDGC.

### **2.2.4. Test genetico per ricerca di varianti germinali responsabili di HDGC**

Il test genetico può essere effettuato a scopo diagnostico o per l'individuazione dei familiari a rischio ("test a cascata"). In genere si utilizza DNA isolato da leucociti da sangue periferico.

*Il test diagnostico* ha lo scopo di confermare il sospetto diagnostico e di identificare la specifica VP causa del fenotipo clinico. Analizza l'intero gene *CDH1* (o più geni, in particolare *CTNNA1*, nel caso si utilizzi un pannello NGS). Se positivo, viene confermata la diagnosi di HDGC. Un risultato negativo va invece considerato non informativo, poiché non è possibile escludere la presenza di VP in regioni non indagate dal test (in particolare regioni non codificanti) e, comunque, tutte le metodiche utilizzate hanno limiti di sensibilità, sia pure molto contenuti. Non è raro il riscontro varianti di significato sconosciuto, che è opportuno rivalutare periodicamente per verificare se la classificazione clinica è cambiata (nel caso siano riclassificate come patogenetiche si potrà procedere al test sui familiari).

*Il test "a cascata"* viene effettuato sui parenti biologici dei probandi in cui è stata identificata una VP, per verificare chi ha ereditato la VP familiare causa della patologia ed è quindi candidato a misure di prevenzione specifiche. E' un test mirato, che analizza una piccola regione del gene, e viene generalmente effettuato con sequenziamento Sanger o tecnica MLPA (si veda sotto), a seconda della tipologia di alterazione riscontrata nel probando. I parenti che non hanno ereditato la VP familiare hanno un rischio oncologico assimilabile a quello della popolazione generale.

Le metodiche usate sono:

- Sequenziamento diretto tradizionale Sanger (utilizzabile per analisi del singolo gene o di più geni es. *CDH1* e *CTNNA1* e soprattutto per ricerca della VP familiare);
- Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification (MLPA) per la ricerca di ampi riarrangiamenti sbilanciati (delezioni/duplicazioni), eseguita anche per ricerca della variante familiare quando la VP appartenga alla categoria di alterazioni identificabili con questa metodica;
- Analisi di pannelli multigenici con metodica NGS: i pannelli utilizzati spesso comprendono anche altri geni di predisposizione a CG, o anche geni di predisposizione a neoplasie di altro tipo; la metodica NGS può anche essere opportunamente calibrata per individuare ampie delezioni/duplicazioni attraverso appositi algoritmi; inoltre, è la metodica di elezione per l'identificazione di casi di mosaicismo.

### **2.2.5. Management dei pazienti con HDGC**

Si fa qui riferimento alle linee guida per la prevenzione primaria e secondaria recentemente riviste dal gruppo multidisciplinare IGCLC (78)(Fig. 2.1).

#### *-Sorveglianza clinico-strumentale*

Nei portatori di varianti VP di *CDH1*, è possibile effettuare sorveglianza endoscopica, discutendone preliminarmente i limiti con l'interessato, in particolare la difficoltà di visualizzare il CGD e l'assenza di evidenze riguardo all'effetto sull'aspettativa di vita. La sorveglianza dovrebbe essere eseguita con cadenza annuale, da parte di endoscopisti esperti di HDGC, con esecuzione di biopsie multiple random nelle diverse regioni dello stomaco, incluse regioni di mucosa gastrica presenti nell'esofago. Foci di cellule tumorali ad anello con castone sono identificati nel 40-61% delle biopsie gastriche effettuate, e nel 95% dei pazienti si

riscontra almeno una lesione già alla prima procedura. Nonostante si ritenga che questi possono restare indolenti per molti anni, la velocità di progressione non è prevedibile. La scelta tra sorveglianza e chirurgia profilattica va quindi discussa con i singoli interessati. La prima potrebbe essere più indicata in situazioni in cui la penetranza sembra essere ridotta, come ad esempio nei soggetti che non soddisfano i criteri di selezione per il test genetico sopra delineati o nei portatori di VP del gene *CTNNA1*.

Per il CM è indicata sorveglianza annuale con RM mammaria a partire dall'età di 30 anni, eventualmente con aggiunta di mammografia dai 40 anni. La mammografia da sola non è indicata per lo screening del CLM, a meno che la paziente abbia controindicazioni alla RM. In questo caso, si esegue annualmente mammografia (non prima dei 35 anni), intervallata ogni 6 mesi ad ecografia mammaria.

#### *-Strategie chirurgiche per la riduzione del rischio*

La gastrectomia profilattica totale è la misura di elezione per i soggetti ad alto rischio genetico di CGD. Dovrebbe essere eseguita preferibilmente in età giovane adulta, tra 20 e 30 anni. Questa procedura è associata a importanti rischi e comporta un periodo di recupero molto lungo, per cui, tranne casi particolari, non è raccomandata per pazienti di età superiore a 70 anni.

Va inoltre discussa la mastectomia bilaterale profilattica, generalmente a partire dall'età di 30 anni.

#### *-Chemioprevenzione e altri interventi*

Allo stato attuale non esistono approcci chemiopreventivi o terapie specifiche per i pazienti portatori di VP *CDH1*, e questo campo è oggetto di ricerche (82). Nei portatori di VP è indicato eseguire ricerca di *H. pylori* ed eventuale eradicazione nei soggetti positivi.

### 2.3. ADENOCARCINOMA GASTRICO ASSOCIATO A POLIPOSÌ PROSSIMALE DELLO STOMACO CORRELATA AL GENE *APC* (GAPPS)

#### **2.3.1. Aspetti clinici ed epidemiologici**

Si tratta di una condizione molto rara, la cui prevalenza non è nota, caratterizzata dallo sviluppo di poliposi gastrica massiva (decine, spesso centinaia, di polipi) di tipo fundico con occasionali polipi iperplastici e adenomatosi, associata a rischio aumentato di di CG di istotipo intestinale (tubulare secondo classificazione OMS) o misto intestinale/diffuso (83). L'entità del rischio di CG non è ancora definita (84).

#### **2.3.2. Genetica**

La GAPPS è trasmessa in maniera autosomica dominante, a penetranza non determinata, considerato il basso numero di famiglie ad oggi identificate. Le VP responsabili di GAPPS sono localizzate nel promotore 1B di *APC*.

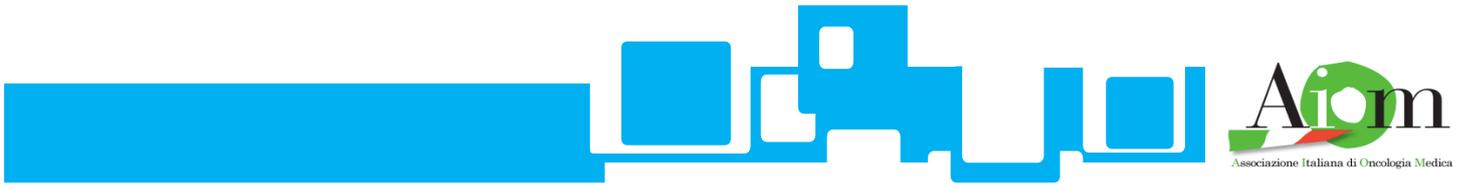
Il sospetto di GAPPS deve scaturire dall'osservazione, in un individuo, di polipi gastrici limitati al fondo e al corpo, senza interessamento dell'antro, in numero > 100, con o senza storia personale e/o familiare di polipi fundici displastici o adenocarcinoma gastrico.

Il test genetico può essere effettuato a scopo diagnostico o per l'individuazione dei familiari a rischio ("test a cascata"). Il test genetico ma l'analisi deve riguardare specificamente il promotore 1 B di *APC*. Se positivo, viene confermata la diagnosi di GAPPS.

#### **2.3.3. Management dei pazienti con GAPPS**

##### *-Sorveglianza clinico-strumentale*

Considerate la rarità della condizione e la limitata conoscenza della storia naturale della malattia, allo stato attuale non vi sono raccomandazioni o linee guida di consorzi di esperti o di società scientifiche per il management dei pazienti con GAPPS. È indicata sorveglianza endoscopica con EGDS; anche se non è stabilita un'età d'inizio, considerata la giovane età di diagnosi di CG in alcuni pazienti, è opportuno eseguire i primi controlli almeno all'età di 20 anni. Tuttavia, va fatto presente che l'efficacia della EGDS ai fini della diagnosi precoce di carcinoma in questa condizione non è ancora determinata. Data la descrizione di pazienti con associate neoplasie del colon-retto, è prudente eseguire anche colonscopia (85).



*-Strategie chirurgiche per la riduzione del rischio*

La gastrectomia può essere presa in considerazione al riscontro di carcinoma gastrico in stadio precoce. Attualmente non vi sono specifiche indicazioni per eseguire gastrectomia a scopo profilattico.

## BIBLIOGRAFIA

1. Mork ME, You YN, Ying J, Bannon SA, Lynch PM, Rodriguez-Bigas MA, et al. High Prevalence of Hereditary Cancer Syndromes in Adolescents and Young Adults With Colorectal Cancer. *J Clin Oncol*. 1 novembre 2015;33(31):3544–9.
2. DeRycke MS, Gunawardena S, Balcom JR, Pickart AM, Waltman LA, French AJ, et al. Targeted sequencing of 36 known or putative colorectal cancer susceptibility genes. *Mol Genet Genomic Med*. settembre 2017;5(5):553–69.
3. Pearlman R, Frankel WL, Swanson B, Zhao W, Yilmaz A, Miller K, et al. Prevalence and Spectrum of Germline Cancer Susceptibility Gene Mutations Among Patients With Early-Onset Colorectal Cancer. *JAMA Oncol*. 1 aprile 2017;3(4):464.
4. Stoffel EM, Koeppe E, Everett J, Ulintz P, Kiel M, Osborne J, et al. Germline Genetic Features of Young Individuals With Colorectal Cancer. *Gastroenterology*. marzo 2018;154(4):897-905.e1.
5. Yurgelun MB, Kulke MH, Fuchs CS, Allen BA, Uno H, Hornick JL, et al. Cancer Susceptibility Gene Mutations in Individuals With Colorectal Cancer. *J Clin Oncol*. 1 aprile 2017;35(10):1086–95.
6. AlDubayan SH, Giannakis M, Moore ND, Han GC, Reardon B, Hamada T, et al. Inherited DNA-Repair Defects in Colorectal Cancer. *Am J Hum Genet*. marzo 2018;102(3):401–14.
7. Lucci-Cordisco E, Risio M, Venesio T, Genuardi M. The growing complexity of the intestinal polyposis syndromes. *Am J Med Genet A*. 2013;161A:2777-2787. doi: 10.1002/ajmg.a.36253
8. Hampel H, Frankel W, Panescu J, Lockman J, Sotamaa K, Fix D, et al. Screening for Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer) among endometrial cancer patients. *Cancer Res*. 1 agosto 2006;66(15):7810–7.
9. Haraldsdottir S, Hampel H, Tomsic J, Frankel WL, Pearlman R, de la Chapelle A, et al. Colon and endometrial cancers with mismatch repair deficiency can arise from somatic, rather than germline, mutations. *Gastroenterology*. dicembre 2014;147(6):1308-1316.e1.
10. Burn J, Sheth H, Elliott F, Reed L, Macrae F, Mecklin J-P, et al. Cancer prevention with aspirin in hereditary colorectal cancer (Lynch syndrome), 10-year follow-up and registry-based 20-year data in the CAPP2 study: a double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 13 giugno 2020;395(10240):1855–63.
11. Vasen HFA, Blanco I, Aktan-Collan K, Gopie JP, Alonso A, Aretz S, et al. Revised guidelines for the clinical management of Lynch syndrome (HNPCC): recommendations by a group of European experts. *Gut*. giugno 2013;62(6):812–23.
12. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Rüschoff J, et al. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst*. 18 febbraio 2004;96(4):261–8.
13. Hampel H. Point: justification for Lynch syndrome screening among all patients with newly diagnosed colorectal cancer. *J Natl Compr Cancer Netw JNCCN*. maggio 2010;8(5):597–601.

14. Win AK, Jenkins MA, Dowty JG, Antoniou AC, Lee A, Giles GG, et al. Prevalence and penetrance of major genes and polygenes for colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* marzo 2017;26(3):404-412.
15. Baglioni S, Genuardi M. Simple and complex genetics of colorectal cancer susceptibility. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 15 agosto 2004;129C(1):35-43.
16. Vasen HFA. Progress in Genetic Testing, Classification, and Identification of Lynch Syndrome. *JAMA.* 27 aprile 2005;293(16):2028.
17. Idos G, Valle L. Lynch Syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Mirzaa G, et al., curatori. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [citato 10 febbraio 2021]. Disponibile su: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1211/>
18. Wimmer K, Kratz CP, Vasen HFA, Caron O, Colas C, Entz-Werle N, et al. Diagnostic criteria for constitutional mismatch repair deficiency syndrome: suggestions of the European consortium 'Care for CMMRD' (C4CMMRD). *J Med Genet.* giugno 2014;51(6):355-65.
19. Blount J, Prakash A. The changing landscape of Lynch syndrome due to *PMS2* mutations. *Clin Genet.* luglio 2018;94(1):61-9.
20. Suerink M, Rodríguez-Girondo M, van der Klift HM, Colas C, Brugieres L, Lavoine N, et al. An alternative approach to establishing unbiased colorectal cancer risk estimation in Lynch syndrome. *Genet Med.* dicembre 2019;21(12):2706-12.
21. Goel A, Nagasaka T, Hamelin R, Boland CR. An Optimized Pentaplex PCR for Detecting DNA Mismatch Repair-Deficient Colorectal Cancers. *Najbauer J, curatore. PLoS ONE.* 24 febbraio 2010;5(2):e9393.
22. Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention (EGAPP) Working Group. Recommendations from the EGAPP Working Group: genetic testing strategies in newly diagnosed individuals with colorectal cancer aimed at reducing morbidity and mortality from Lynch syndrome in relatives. *Genet Med.* Gennaio 2009;11:35-41.
23. Baudhuin LM, Burgart LJ, Leontovich O, Thibodeau SN. Use of Microsatellite Instability and Immunohistochemistry Testing for the Identification of Individuals at Risk for Lynch Syndrome. *Fam Cancer.* 1 settembre 2005;4(3):255-65.
24. Signoroni S, Tibiletti MG, Ricci MT, Milione M, Perrone F, Pensotti V, et al. Performance of tumor testing for Lynch syndrome identification in patients with colorectal cancer: A retrospective single-center study. *Tumori J.* 1 febbraio 2019;105(1):76-83.
25. Toon CW, Chou A, DeSilva K, Chan J, Patterson J, Clarkson A, et al. BRAFV600E immunohistochemistry in conjunction with mismatch repair status predicts survival in patients with colorectal cancer. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc.* maggio 2014;27(5):644-50.
26. Duraturo, Francesca, Izzo, Paola. Detection analysis of microsatellite instability status for the diagnosis and therapy of Lynch syndrome-related cancers. *Biochim Clin.* 2018;42:152-4.

27. Crucianelli F, Tricarico R, Turchetti D, Gorelli G, Gensini F, Sestini R, et al. *MLH1* constitutional and somatic methylation in patients with *MLH1* negative tumors fulfilling the revised Bethesda criteria. *Epigenetics*. 3 ottobre 2014;9(10):1431–8.
28. Crosbie EJ, Ryan NAJ, Arends MJ, Bosse T, Burn J, Cornes JM, et al. The Manchester International Consensus Group recommendations for the management of gynecological cancers in Lynch syndrome. *Genet Med*. ottobre 2019;21(10):2390–400.
29. Valle L, Vilar E, Tavtigian SV, Stoffel EM. Genetic predisposition to colorectal cancer: syndromes, genes, classification of genetic variants and implications for precision medicine. *J Pathol*. aprile 2019;247(5):574–88.
30. Giardiello FM, Allen JI, Axilbund JE, Boland RC, Burke CA, Burt RW, et al. Guidelines on Genetic Evaluation and Management of Lynch Syndrome: A Consensus Statement by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer: *Am J Gastroenterol*. agosto 2014;109(8):1159–79.
31. Dominguez-Valentin M, Seppälä TT, Sampson JR, Macrae F, Winship I, Evans DG, et al. Survival by colon cancer stage and screening interval in Lynch syndrome: a prospective Lynch syndrome database report. *Hered Cancer Clin Pract*. 14 ottobre 2019;17(1):28.
32. Stupart DA, Goldberg PA, Baigrie RJ, Algar U, Ramesar R. Surgery for colonic cancer in HNPCC: total vs segmental colectomy: Surgery for colonic cancer in HNPCC. *Colorectal Dis*. dicembre 2011;13(12):1395–9.
33. Ryan NAJ, Evans DG, Green K, Crosbie EJ. Pathological features and clinical behavior of Lynch syndrome-associated ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. marzo 2017;144(3):491–5.
34. Burn J, Mathers JC, Bishop DT. Chemoprevention in Lynch syndrome. *Fam Cancer*. dicembre 2013;12(4):707–18.
35. Li LS, Morales JC, Veigl M, Sedwick D, Greer S, Meyers M, et al. DNA mismatch repair (MMR)-dependent 5-fluorouracil cytotoxicity and the potential for new therapeutic targets. *Br J Pharmacol*. ottobre 2009;158(3):679–92.
36. Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med*. 25 giugno 2015;372(26):2509–20.
37. Overman MJ, McDermott R, Leach JL, Lonardi S, Lenz H-J, Morse MA, et al. Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study. *Lancet Oncol*. settembre 2017;18(9):1182–91.
38. Overman MJ, Lonardi S, Wong KYM, Lenz H-J, Gelsomino F, Aglietta M, et al. Durable Clinical Benefit With Nivolumab Plus Ipilimumab in DNA Mismatch Repair–Deficient/Microsatellite Instability–High Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol*. 10 marzo 2018;36(8):773–9.
39. Bourdais R, Rousseau B, Pujals A, Boussion H, Joly C, Guillemin A, et al. Polymerase proofreading domain mutations: New opportunities for immunotherapy in hypermutated colorectal cancer beyond MMR deficiency. *Crit Rev Oncol Hematol*. maggio 2017;113:242–8.

40. Duraturo F, Liccardo R, De Rosa M, Izzo P. Genetics, diagnosis and treatment of Lynch syndrome: Old lessons and current challenges (Review). *Oncol Lett* [Internet]. 18 gennaio 2019 [citato 10 febbraio 2021]; Disponibile su: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ol.2019.9945>
41. Venesio T, Genuardi M. The Intestinal Polyposis: Clinical and Molecular Overview. In: Boardman LA, curatore. *Intestinal Polyposis Syndromes: Diagnosis and Management* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2016 [citato 10 febbraio 2021]. pag. 1–24. Disponibile su: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-28103-2\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-28103-2_1)
42. Jasperson KW, Patel SG, Ahnen DJ. APC-Associated Polyposis Conditions. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Mirzaa G, et al., curatori. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [citato 10 febbraio 2021]. Disponibile su: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1345/>
43. Walton S-J, Frayling IM, Clark SK, Latchford A. Gastric tumours in FAP. *Fam Cancer*. luglio 2017;16(3):363–9.
44. Nieuwenhuis MH, Mathus-Vliegen EM, Baeten CG, Nagengast FM, van der Bijl J, van Dalsen AD, et al. Evaluation of management of desmoid tumours associated with familial adenomatous polyposis in Dutch patients. *Br J Cancer*. gennaio 2011;104(1):37–42.
45. Sinha A, Tekkis PP, Gibbons DC, Phillips RK, Clark SK. Risk factors predicting desmoid occurrence in patients with familial adenomatous polyposis: a meta-analysis. *Colorectal Dis Off J Assoc Coloproctology G B Irel*. novembre 2011;13(11):1222–9.
46. Herraiz M, Barbesino G, Faquin W, Chan-Smutko G, Patel D, Shannon KM, et al. Prevalence of Thyroid Cancer in Familial Adenomatous Polyposis Syndrome and the Role of Screening Ultrasound Examinations. *Clin Gastroenterol Hepatol*. marzo 2007;5(3):367–73.
47. Pradhan D, Sharma A, Mohanty SK. Cribriform-morular variant of papillary thyroid carcinoma. *Pathol - Res Pract*. 1 ottobre 2015;211(10):712–6.
48. Spier I, Drichel D, Kerick M, Kirfel J, Horpaopan S, Laner A, et al. Low-level *APC* mutational mosaicism is the underlying cause in a substantial fraction of unexplained colorectal adenomatous polyposis cases. *J Med Genet*. marzo 2016;53(3):172–9.
49. Ciavarella M, Miccoli S, Prossomariti A, Pippucci T, Bonora E, Buscherini F, et al. Somatic *APC* mosaicism and oligogenic inheritance in genetically unsolved colorectal adenomatous polyposis patients. *Eur J Hum Genet EJHG*. marzo 2018;26(3):387–95.
50. Nieuwenhuis MH, Vasen HFA. Correlations between mutation site in *APC* and phenotype of familial adenomatous polyposis (FAP): A review of the literature. *Crit Rev Oncol Hematol*. febbraio 2007;61(2):153–61.
51. Church J, Simmang C, Standards Task Force, American Society of Colon and Rectal Surgeons, Collaborative Group of the Americas on Inherited Colorectal Cancer and the Standards Committee of The American Society of Colon and Rectal Surgeons. Practice parameters for the treatment of patients with dominantly inherited colorectal cancer (familial adenomatous polyposis and hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *Dis Colon Rectum*. agosto 2003;46(8):1001–12.

52. Syngal S, Brand RE, Church JM, Giardiello FM, Hampel HL, Burt RW. ACG Clinical Guideline: Genetic Testing and Management of Hereditary Gastrointestinal Cancer Syndromes: Am J Gastroenterol. febbraio 2015;110(2):223–62.
53. genetics\_colon.pdf [Internet]. [citato 10 febbraio 2021]. Disponibile su: [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/genetics\\_colon.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/genetics_colon.pdf)
54. Spigelman AD, Williams CB, Talbot IC, Domizio P, Phillips RK. Upper gastrointestinal cancer in patients with familial adenomatous polyposis. Lancet Lond Engl. 30 settembre 1989;2(8666):783–5.
55. Win AK, Dowty JG, Cleary SP, Kim H, Buchanan DD, Young JP, et al. Risk of Colorectal Cancer for Carriers of Mutations in MUTYH, With and Without a Family History of Cancer. Gastroenterology. maggio 2014;146(5):1208-1211.e5.
56. Lucci-Cordisco E, Risio M, Venesio T, Genuardi M. The growing complexity of the intestinal polyposis syndromes. Am J Med Genet A. novembre 2013;161(11):2777–87.
57. Boparai KS, Dekker E, Van Eeden S, Polak MM, Bartelsman JFWM, Mathus-Vliegen EMH, et al. Hyperplastic polyps and sessile serrated adenomas as a phenotypic expression of MYH-associated polyposis. Gastroenterology. dicembre 2008;135(6):2014–8.
58. Viel A, Bruselles A, Meccia E, Fornasarig M, Quaia M, Canzonieri V, et al. A Specific Mutational Signature Associated with DNA 8-Oxoguanine Persistence in MUTYH-defective Colorectal Cancer. EBioMedicine. giugno 2017;20:39–49.
59. van Puijenbroek M, Nielsen M, Tops CMJ, Halfwerk H, Vasen HFA, Weiss MM, et al. Identification of Patients with (Atypical) MUTYH-Associated Polyposis by KRAS2 c.34G > T Prescreening Followed by MUTYH Hotspot Analysis in Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissue. Clin Cancer Res. 1 gennaio 2008;14(1):139–42.
60. Aretz S, Tricarico R, Papi L, Spier I, Pin E, Horpaopan S, et al. MUTYH-associated polyposis (MAP): evidence for the origin of the common European mutations p.Tyr179Cys and p.Gly396Asp by founder events. Eur J Hum Genet. luglio 2014;22(7):923–9.
61. Cleary SP, Cotterchio M, Jenkins MA, Kim H, Bristow R, Green R, et al. Germline MutY human homologue mutations and colorectal cancer: a multisite case-control study. Gastroenterology. aprile 2009;136(4):1251–60.
62. Tchekmedyian A, Amos CI, Bale SJ, Zhu D, Arold S, Berrueta J, et al. Findings from the Peutz-Jeghers Syndrome Registry of Uruguay. PLoS ONE [Internet]. 19 novembre 2013 [citato 10 febbraio 2021];8(11). Disponibile su: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3834183/>
63. van Lier MGF, Wagner A, Mathus-Vliegen EMH, Kuipers EJ, Steyerberg EW, van Leerdam ME. High cancer risk in Peutz-Jeghers syndrome: a systematic review and surveillance recommendations. Am J Gastroenterol. giugno 2010;105(6):1258–64; author reply 1265.
64. Resta N, Pierannunzio D, Lenato GM, Stella A, Capocaccia R, Bagnulo R, et al. Cancer risk associated with STK11/LKB1 germline mutations in Peutz–Jeghers syndrome patients: Results of an Italian multicenter study. Dig Liver Dis. luglio 2013;45(7):606–11.

65. Garg K, Karnezis AN, Rabban JT. Uncommon hereditary gynaecological tumour syndromes: pathological features in tumours that may predict risk for a germline mutation. *Pathology (Phila)*. 1 febbraio 2018;50(2):238–56.
66. Beggs AD, Latchford AR, Vasen HFA, Moslein G, Alonso A, Aretz S, et al. Peutz-Jeghers syndrome: a systematic review and recommendations for management. *Gut*. luglio 2010;59(7):975–86.
67. McGarrity TJ, Amos CI, Baker MJ. Peutz-Jeghers Syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Mirzaa G, et al., curatori. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [citato 10 febbraio 2021]. Disponibile su: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1266/>
68. Borun P, De Rosa M, Nedoszytko B, Walkowiak J, Plawski A. Specific Alu elements involved in a significant percentage of copy number variations of the STK11 gene in patients with Peutz–Jeghers syndrome. *Fam Cancer*. 2015;14(3):455–61.
69. Latchford AR, Neale K, Phillips RKS, Clark SK. Juvenile polyposis syndrome: a study of genotype, phenotype, and long-term outcome. *Dis Colon Rectum*. ottobre 2012;55(10):1038–43.
70. Larsen Haidle J, Howe JR. Juvenile Polyposis Syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Mirzaa G, et al., curatori. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [citato 10 febbraio 2021]. Disponibile su: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1469/>
71. Wain KE, Ellingson MS, McDonald J, Gammon A, Roberts M, Pichurin P, et al. Appreciating the broad clinical features of SMAD4 mutation carriers: a multicenter chart review. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. agosto 2014;16(8):588–93.
72. Cohen S, Hyer W, Mas E, Auth M, Attard TM, Spalinger J, et al. Management of Juvenile Polyposis Syndrome in Children and Adolescents: A Position Paper From the ESPGHAN Polyposis Working Group. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. marzo 2019;68(3):453–62.
73. Blatter R, Tschupp B, Aretz S, Bernstein I, Colas C, Evans DG, et al. Disease expression in juvenile polyposis syndrome: a retrospective survey on a cohort of 221 European patients and comparison with a literature-derived cohort of 473 SMAD4/BMP1A pathogenic variant carriers. *Genet Med*. settembre 2020;22(9):1524–32.
74. Lieberman S, Walsh T, Schechter M, Adar T, Goldin E, Beerl R, et al. Features of Patients With Hereditary Mixed Polyposis Syndrome Caused by Duplication of GREM1 and Implications for Screening and Surveillance. *Gastroenterology*. 1 giugno 2017;152(8):1876–1880.e1.
75. van der Post RS, Oliveira C, Guilford P, Carneiro F. Hereditary gastric cancer: what’s new? Update 2013–2018. *Fam Cancer*. luglio 2019;18(3):363–7.
76. PDQ Screening and Prevention Editorial Board. Stomach (Gastric) Cancer Screening (PDQ®): Health Professional Version. In: *PDQ Cancer Information Summaries* [Internet]. Bethesda (MD): National Cancer Institute (US); 2002 [citato 10 febbraio 2021]. Disponibile su: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK65730/>
77. Choi IJ, Kim CG, Lee JY, Kim Y-I, Kook M-C, Park B, et al. Family History of Gastric Cancer and Helicobacter pylori Treatment. *N Engl J Med*. 30 gennaio 2020;382(5):427–36.

78. Blair VR, McLeod M, Carneiro F, Coit DG, D'Addario JL, Dieren JM van, et al. Hereditary diffuse gastric cancer: updated clinical practice guidelines. *Lancet Oncol.* 1 agosto 2020;21(8):e386–97.
79. Slavin TP, Weitzel JN, Neuhausen SL, Schrader KA, Oliveira C, Karam R. Genetics of gastric cancer: what do we know about the genetic risks? *Transl Gastroenterol Hepatol.* 2019;4:55.
80. Hansford S, Kaurah P, Li-Chang H, Woo M, Senz J, Pinheiro H, et al. Hereditary Diffuse Gastric Cancer Syndrome: CDH1 Mutations and Beyond. *JAMA Oncol.* aprile 2015;1(1):23–32.
81. Figueiredo J, Melo S, Carneiro P, Moreira AM, Fernandes MS, Ribeiro AS, et al. Clinical spectrum and pleiotropic nature of *CDH1* germline mutations. *J Med Genet.* aprile 2019;56(4):199–208.
82. Bougen-Zhukov N, Nouri Y, Godwin T, Taylor M, Hakkaart C, Single A, et al. Allosteric AKT Inhibitors Target Synthetic Lethal Vulnerabilities in E-Cadherin-Deficient Cells. *Cancers.* 13 settembre 2019;11(9):1359.
83. Worthley DL, Phillips KD, Wayte N, Schrader KA, Healey S, Kaurah P, et al. Gastric adenocarcinoma and proximal polyposis of the stomach (GAPPS): a new autosomal dominant syndrome. *Gut.* maggio 2012;61(5):774–9.
84. Li J, Woods SL, Healey S, Beesley J, Chen X, Lee JS, et al. Point Mutations in Exon 1B of APC Reveal Gastric Adenocarcinoma and Proximal Polyposis of the Stomach as a Familial Adenomatous Polyposis Variant. *Am J Hum Genet.* maggio 2016;98(5):830–42.
85. Rudloff U. Gastric adenocarcinoma and proximal polyposis of the stomach: diagnosis and clinical perspectives. *Clin Exp Gastroenterol.* dicembre 2018;Volume 11:447–59.