



Comune di Fragagnano
Provincia di Taranto

PREVENZIONE È SALUTE

Il miglior modo per amarsi è la prevenzione

Percorso informativo sul delicato tema della prevenzione oncologica
con l'intervento di noti specialisti e professionisti della materia

19 febbraio 2023 – 16.00

Sala Consiliare | Viale Virgilio

SALUTI ISTITUZIONALI

Dott. Giuseppe FISCHETTI

Sindaco di Fragagnano

INTERVENTI

Dott. Vito Gregorio COLACICCO

Direttore Generale ASL/TA

Dott.ssa Gloria SARACINO

Direttore Distretto Sanitario 7 di Manduria

Dott. Giuseppe TURCO

Dirigente Medico ASL/TA | relatore ed organizzatore scientifico

19 febbraio 2023 - 16.30

Prevenzione e terapia del tumore al seno

Dott. Luigi Antonio GRECO

Dirigente Biologo Genetista ASL/TA

Dott. Salvatore PISCONTI

Dirigente Oncologia Medica Dipartimento Oncoematologia Medica ASL/TA

4 marzo 2023 - 9.30/13.00

Screening tumori della pelle

Dott. Martino Carriero

Dermatologo Distretto di Manduria

7 marzo 2023 - 17.00

Prevenzione e terapia del carcinoma colon retto

Dott. Roberto MASSAFRA

U.O. Chirurgia Generale Casa di Cura Bernardini

Arresto cardiaco improvviso: trattamento

Dott. Mario Giosuè BALZANELLI

Dirigente 118 ASL/TA Presidente Nazionale SIS 118

Prevenzione e terapia del tumore al seno

Il Tumore ereditario della mammella e dell'ovaio

Dr Luigi Antonio Greco



*Dirigente Biologo Specialista in Genetica Medica
U.O.C. di Patologia Clinica P.O. Centrale
Sez. di Genetica Medica - S.O. "S. Marco" Grottaglie (TA)*

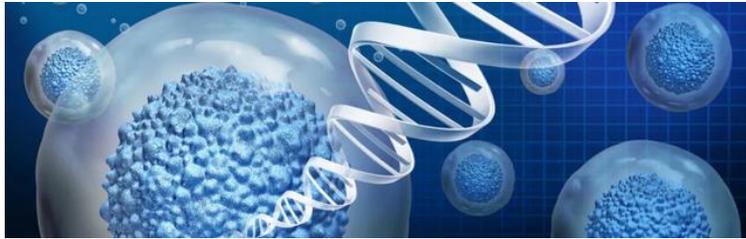
*GdS Genetica Umana ONB Puglia e Basilicata
GdL Genetica Oncologica SIGU*



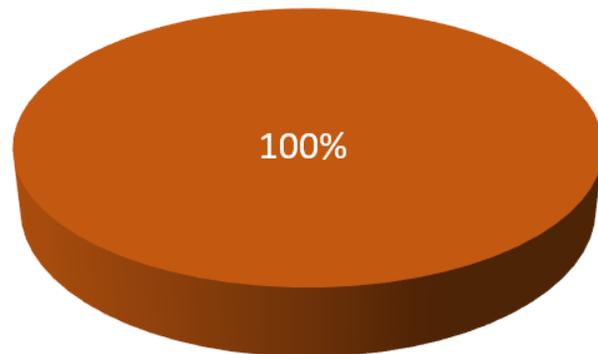
Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome (HBOC) is considered the main genetic cause of predisposition to **Breast cancer (BC)** and **Ovarian cancer (OC)**



Il cancro è una malattia genetica

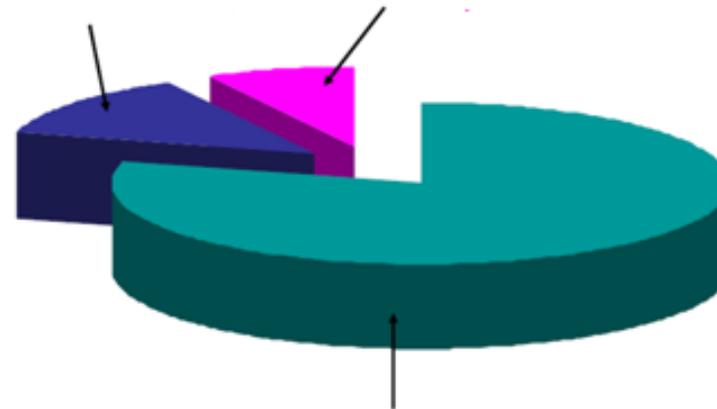


tutti i tumori sono dovuti a «mutazioni» nei nostri geni



la maggior parte dei tumori NON è ereditaria

Familial 10-20% Hereditary 5-10%



Sporadic 70-85%

Hereditary

- Gene mutation is inherited in family
- Significantly increased cancer risk

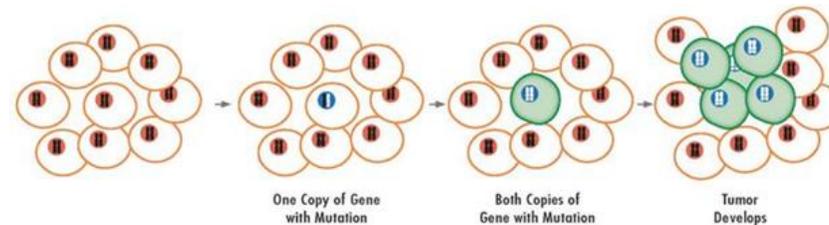
Familial

- Multiple genes & environmental factors may be involved
- Some increase in cancer risk

Sporadic

- Cancer occurs by chance or related to environmental factors
- General population cancer risk

I tumori sporadici sono dovuti a mutazioni somatiche





hereditary cancers

Con il termine di “*tumori ereditari*” ci si intende riferire a quelle patologie oncologiche che insorgono a causa della presenza di varianti genetiche costitutive che conferiscono rischi di cancro sensibilmente superiori a quelli della popolazione generale.



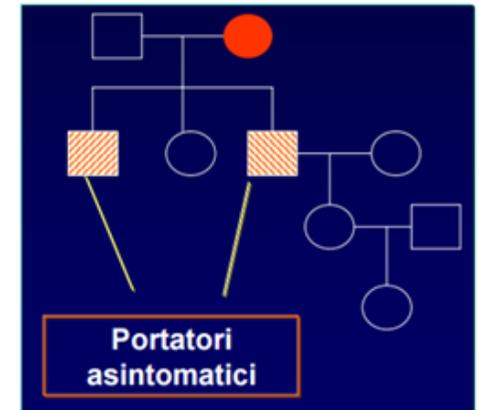
Ciò che viene ereditato non è la malattia, bensì la

predisposizione



In assenza di ulteriori mutazioni nella cellula

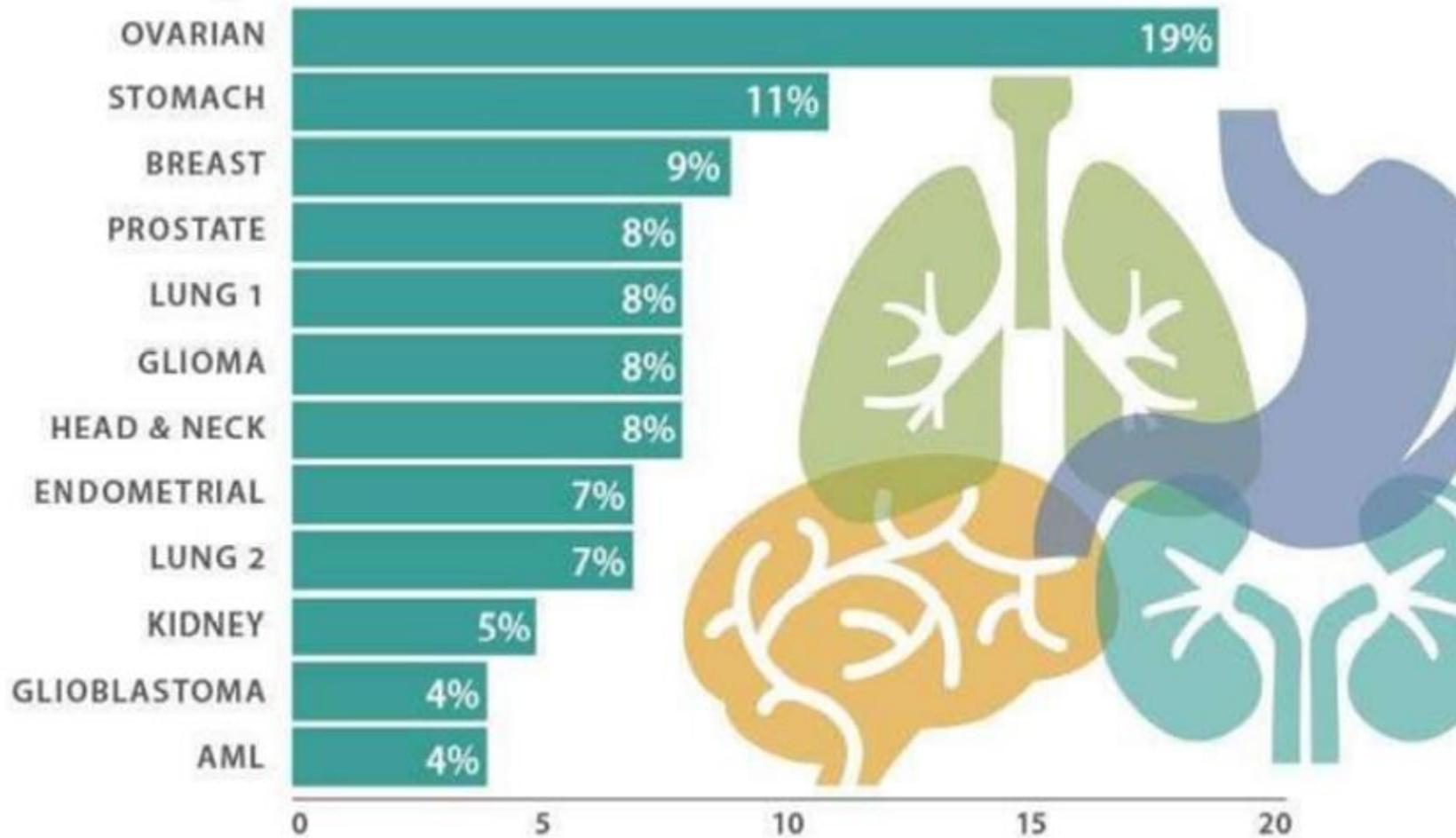
no cancro



Cancers with inherited mutations



Tumor type



Percentage of tumors with inherited mutations



Sindrome di Lynch

EPCAM,
MLH1, MSH2,
MSH6,
PMS2

Sindrome di Nijmegen

NBN,
RAD50

Tumore al Pancreas

PALB2,
BRCA2,
STK11

Tumore della Mammella e dell'Ovaio

BRCA1, BRCA2, PALB2,
ATM, STK11, CDH1,
PTEN, MUTYH, CHEK2,
BARD1, BRIP1, RAD50,
NBN, TP53, MLH1,
MSH6, PMS2, MSH2,
EPCAM, XRCC2,
RAD51C, RAD51D,
MRE11A

Tumore Colon

CDH1, CHECK2
EPCAM, MLH1,
MSH2, MSH6,
MUTYH, PMS2,
PTEN, XRCC2

Adenocarcinoma Gastrico diffuso ereditario

CDH1

Sindrome di Cowden

PTEN

Sindrome di Li-Fraumeni

TP53

Sindrome di Peutz-Jeghers

STK11

Poliposi Adenomatosa Familiare

APC
MUTYH

Indizi

- Aggregazione familiare di specifici tumori (es. mammella/ovaio; colon/endometrio; ca midollare della tiroide/feocromocitoma)
- Insorgenza in età precoce
- Neoplasie multiple nello stesso individuo
- Segni fenotipici caratteristici



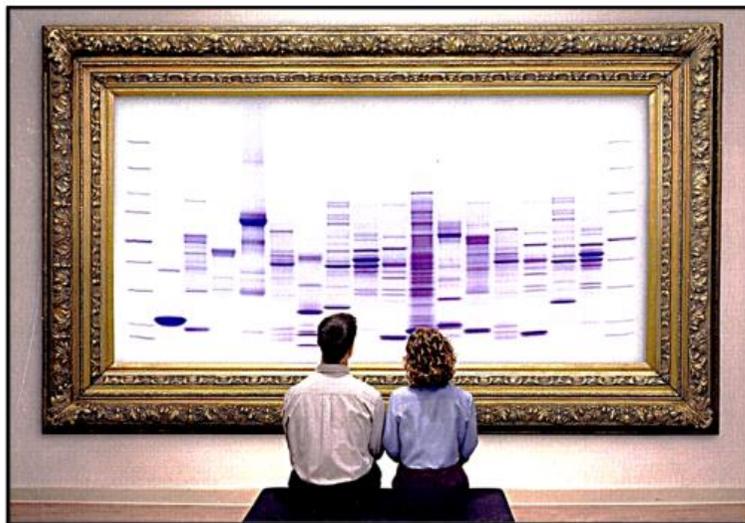


HBOC

Per questi tumori, la disponibilità dei test genetici ha portato alla messa a punto di percorsi di **prevenzione primaria** e/o di **diagnosi precoce** di provata efficacia

I test genetici costituiscono il prodotto più importante della ricerca genetica applicata alla medicina

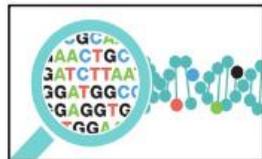




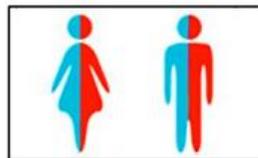
«I test genetici sono analisi mediche che identificano eventuali modificazioni nei cromosomi, nei geni o nei loro prodotti. I risultati dei test possono confermare o escludere condizioni genetiche sospettate a livello clinico e sono in grado di stabilire la probabilità di una persona di sviluppare o trasmettere una malattia genetica».

National Institute of Health, 2019

Diagnostici



Portatori sani



Presintomatici

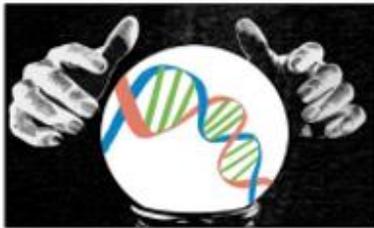


Farmacogenetici



Predittivi





test predittivi o di suscettibilità

Consentono di individuare i genotipi che di per sé non causano una malattia, ma comportano un aumento del rischio di svilupparla, in seguito all'esposizione a fattori ambientali favorevoli, o alla presenza di altri fattori genetici scatenanti

Il risultato può solo predire un rischio aumentato o diminuito di contrarre una malattia, rispetto al rischio della popolazione generale



HBOC-Hereditary Breast-Ovarian Cancer



I due geni principalmente coinvolti nella predisposizione ereditaria a HBOC sono **BRCA1 e BRCA2** geni di suscettibilità ad alta penetranza



A Strong Candidate for the Breast and Ovarian Cancer Susceptibility Gene *BRCA1*

Yoshio Miki, Jeff Swensen, Donna Shattuck-Eidens, P. Andrew Futreal, Keith Harshman, Sean Tavtigian, Qingyun Liu, Charles Cochran, L. Michelle Bennett, Wei Ding, Russell Bell, Judith Rosenthal, Charles Hussey, Thanh Tran, Melody McClure, Cheryl Frye, Tom Hattier, Robert Phelps, Astrid Haugen-Strano, Harold Katcher, Kazuko Yakumo, Zahra Gholami, Daniel Shaffer, Steven Stone, Steven Bayer, Christian Wray, Robert Bogden, Priya Dayananth, John Ward, Patricia Tonin, Steven Narod, Pam K. Bristow, Frank H. Norris, Leah Helvering, Paul Morrison, Paul Rosteck, Mei Lai, J. Carl Barrett, Cathryn Lewis, Susan Neuhausen, Lisa Cannon-Albright, David Goldgar, Roger Wiseman, Alexander Kamb, Mark H. Skolnick*



Identification of the breast cancer susceptibility gene *BRCA2*

Richard Wooster*, Graham Bignell*, Jonathan Lancaster†, Sally Swift†, Sheila Seal*, Jonathan Mangion*, Nadine Collins*, Simon Gregory§, Curtis Gumbs||, Gos Micklem§, Rita Barfoot*, Rifat Hamoudi*, Sandeep Patel*, Catherine Rice§, Patrick Biggs*, Yasmin Hashim*, Amanda Smith†, Frances Connor†, Adalgeir Arason||, Julius Gudmundsson||, David Ficenc†***, David Kelsell†, Deborah Ford†, Patricia Tonin**, D. Timothy Bishop††, Nigel K. Spurr†, Bruce A. J. Ponder††, Rosalind Eeles*, Julian Peto*, Peter Devilee§§, Cees Cornelisse§§, Henry Lynch|||, Steven Narod***, Gilbert Lenoir††, Valgardur Egilsson†, Rosa Bjork Barkadottir†, Douglas F. Easton††, David R. Bentley§, P. Andrew Futreal||, Alan Ashworth† & Michael R. Stratton*

Regolano la corretta crescita e proliferazione delle cellule della mammella e degli annessi (tube, ovaie) e pertanto una loro alterazione (mutazione genetica) conferisce un rischio significativamente aumentato di sviluppare un carcinoma della mammella e/o di tube/ovaie/peritoneo

Frequenza di portatori di mutazioni *BRCA1* e *2*

~1/500 - 1/1.000 nella popolazione generale (Caucasica)

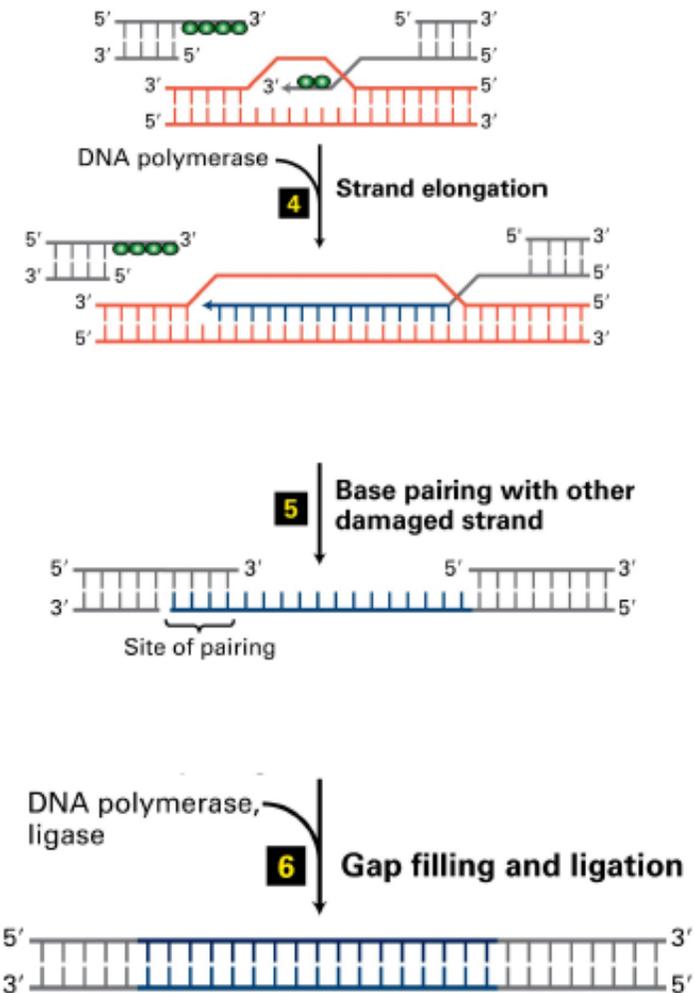
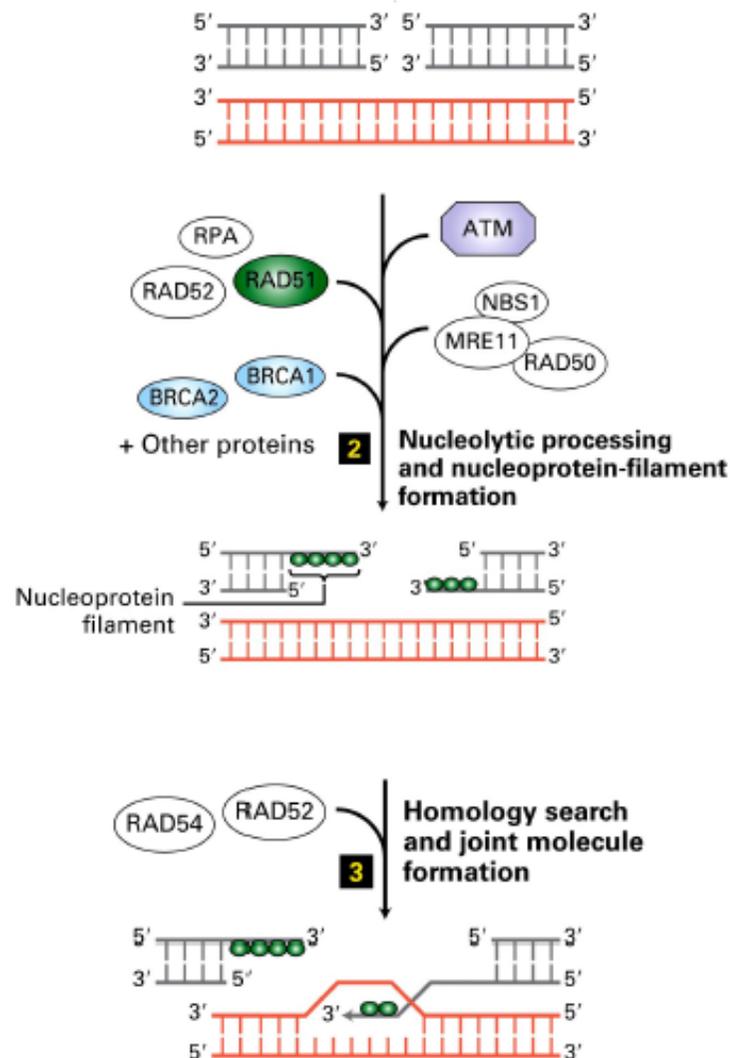
1/40 - 1/50 negli Ebrei Ashkenazi

“effetto fondatore” -il ricorrere di una mutazione ereditata da un antenato comune



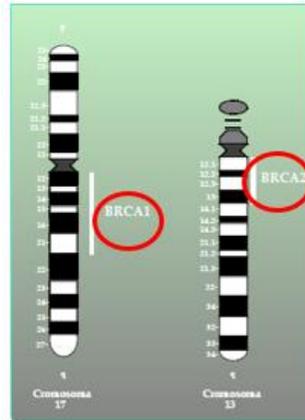
Homologous Recombination Repair (HR)

Riparazione delle lesioni a doppio filamento mediante ricombinazione omologa



BRCA1 e BRCA2

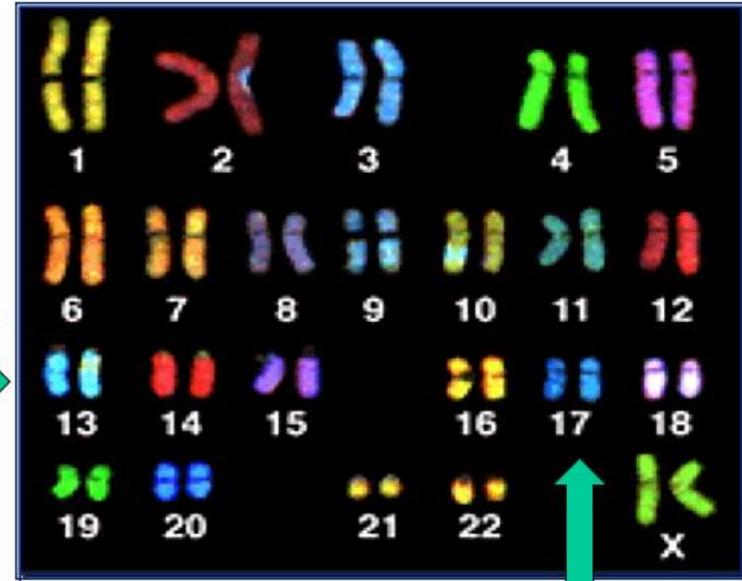
BRCA1: 22 esoni codificanti >5000nt
BRCA2: 27 esoni codificanti >10.000nt
 Non ci sono hot spot di mutazione
 -80% frameshift o nonsense
 -7% splice variant
 -10% delezioni
 ?Unclassified variant
 -Polimorfismi



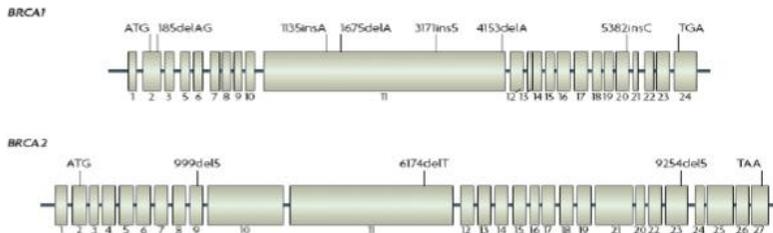
17q21

13q12

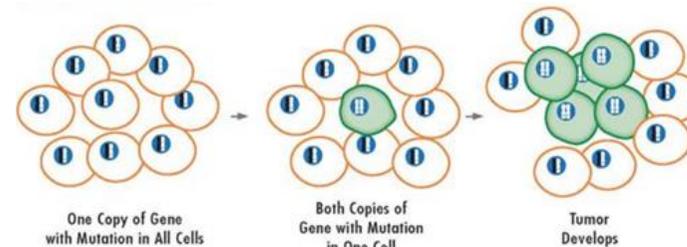
BRCA2



BRCA1



Le mutazioni BRCA1 e BRCA2 sono presenti a livello germinale in tutte le cellule, ma il tumore insorge a livello somatico quando la copia sana del gene viene persa





Gene	CME associati (%)
BRCA1	20-40%
BRCA2	10-30%
TP53	<1%
PTEN	<1%
Geni sconosciuti	30-70%

Carcinoma Mammario

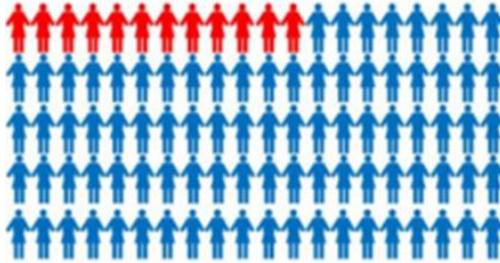
Gene	COE associati (%)
BRCA1	~70%
BRCA2	~20%
MSH2, MSH6, MLH1, PMS1, PMS2	~2%
Altri	~8%

Carcinoma Ovarico

RISCHIO DI SVILUPPARE UN TUMORE AL SENO

12%

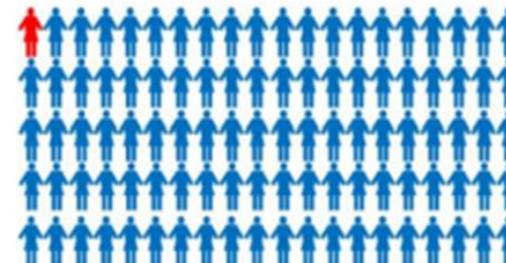
in donne senza mutazioni nei geni BRCA1/2



RISCHIO DI SVILUPPARE UN TUMORE ALL'OVAIO

1%

in donne senza mutazioni nei geni BRCA1/2



Rischio cumulativo medio di carcinoma mammario e dell'ovaio a 80 anni in donne con mutazione di BRCA 1-2 (Modificata da Kuchenbaecker KB, JAMA 2017⁴).

	Mutazione di BRCA1	Mutazione di BRCA2
Rischio di carcinoma mammario	72% (95% CI, 65% - 79%)	69% (95% CI, 61% - 77%)
Rischio di carcinoma ovarico	44% (95% CI, 36% - 53%)	17% (95% CI, 11% - 25%)

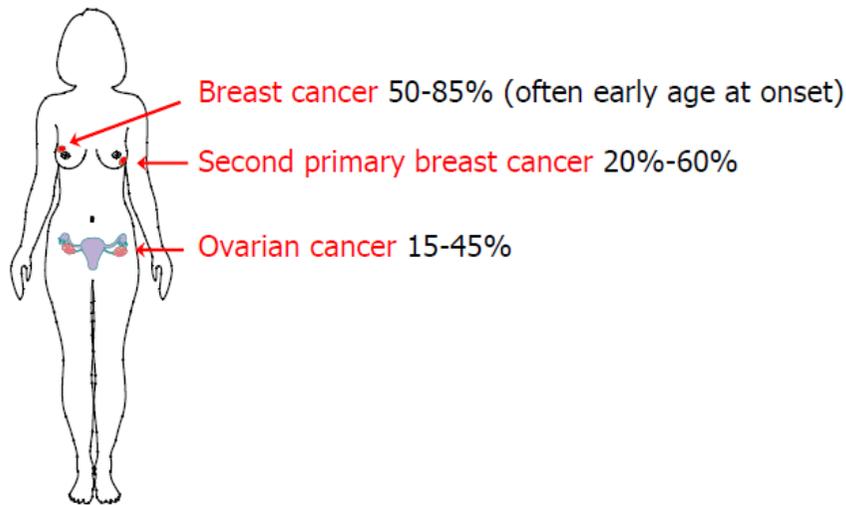
Rischio età specifico di tumore della mammella controlaterale dopo la prima diagnosi (Modificata da Kuchenbaecker KB, JAMA 2017⁴)

Anni dopo la prima diagnosi	Rischio di tumore mammario controlaterale	
	BRCA1(DS)	BRCA2 (DS)
< 5	0,13 (0,06)	0,08 (0,06)
>5-10	0,23 (0,07)	0,16 (0,09)
>10-15	0,32 (0,08)	0,21 (0,09)
>15-20	0,40 (0,10)	0,26 (0,13)
>20-45	0,53 (0,18)	0,65 (0,73)

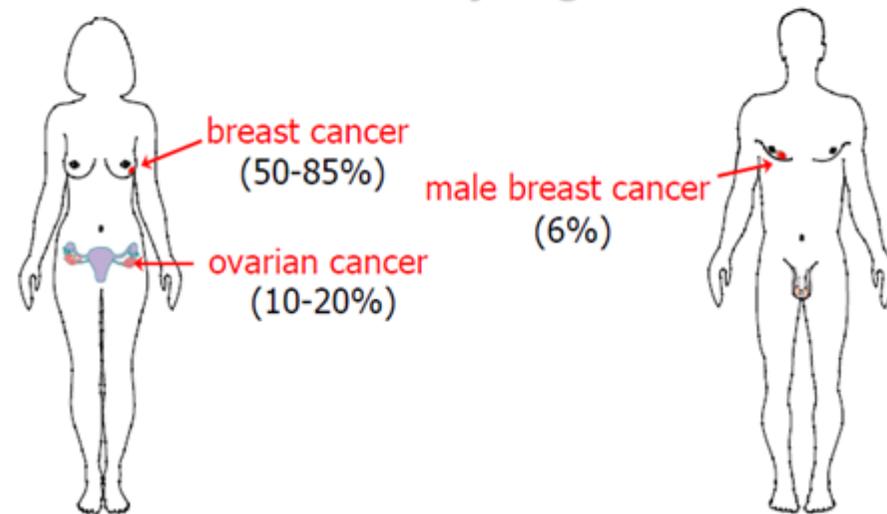
DS. Deviazione Standard



BRCA1-Associated Cancers: Risk by age 70

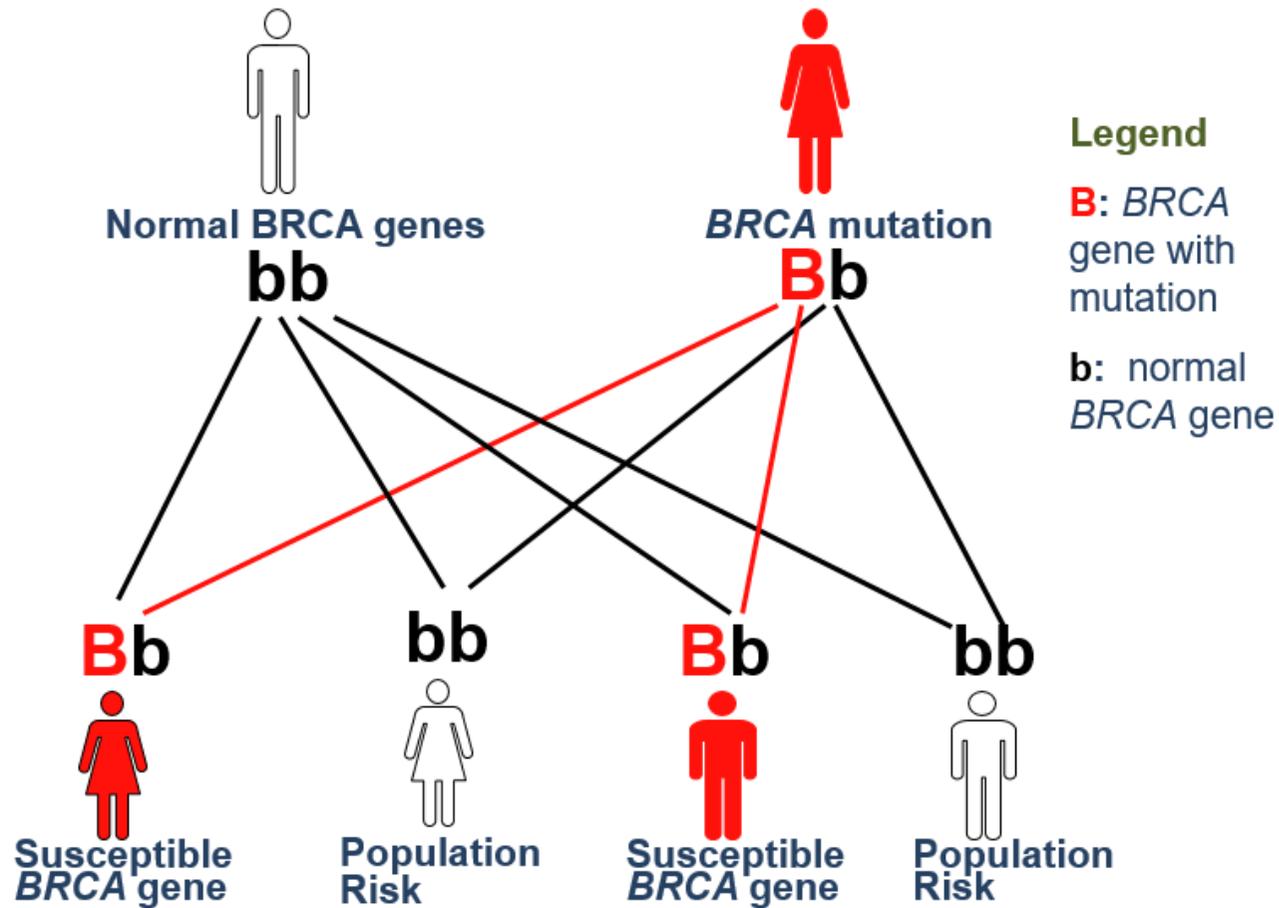


BRCA2-Associated Cancers: Risk by age 70



*Increased risk of melanoma,
prostate and pancreatic cancer*

Autosomal Dominant Inheritance



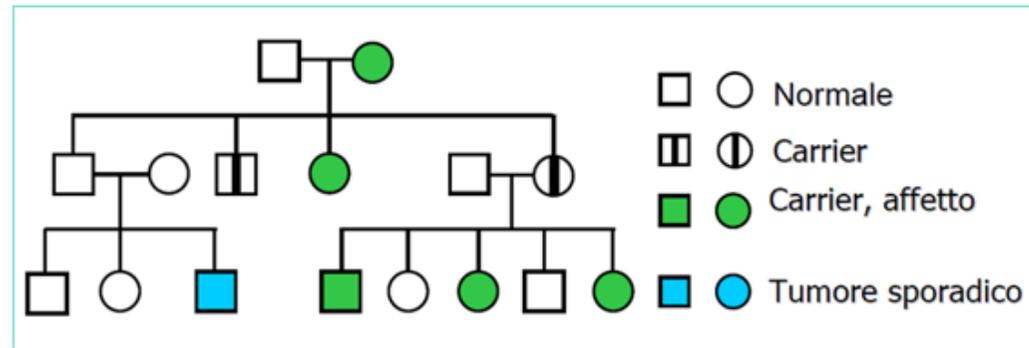
Estensione del test genetico ai familiari di primo grado che, nel caso di positività, potrebbero essere indirizzati a specifiche misure di prevenzione





Trasmissione autosomica dominante

PENETRANZA incompleta



*non tutti i portatori della mutazione svilupperanno la malattia
(ci può essere un salto di generazione)*

ESPRESSIVITA' variabile

*il grado di manifestazione clinica della malattia può essere diverso
tra i diversi pazienti, anche all'interno della stessa famiglia*

fattori di rischio



FATTORI che modificano la penetranza delle mutazioni dei geni BRCA e/o ne fanno variare l'espressività cioè il fenotipo clinico

❑ ETA'

La probabilità di ammalarsi aumenta con l'età.
In oltre l'80% dei casi il tumore dell'ovaio compare in donne dopo la menopausa (> di 55 anni) mentre è poco frequente prima dei 40 anni.

❑ FATTORI ORMONALI

- Uso di sostanze inducenti l'ovulazione
- Uso di estrogeni non controbilanciati da progesterone in post-menopausa per più di 10 aa
- Nulliparità
- Menarca precoce, menopausa tardiva

❑ FATTORI AMBIENTALI

- Inquinamento
- Abuso di alcool, fumo, radiazioni
- Obesità
- Dieta ricca di grassi



ALTRI FATTORI GENETICI

Test BRCA come test predittivo di efficacia alle terapie antitumorali



Vari studi hanno dimostrato che le varianti patogenetiche dei geni BRCA1 e BRCA2 rappresentano un **marcatore predittivo di maggiore sensibilità al trattamento di alcuni farmaci**, in primis gli **inibitori dell'enzima PARP** [*Poly (ADP-Ribose) Polymerase*], in particolare **in pazienti con neoplasia mammaria localmente avanzata, triplo negativa o in fase metastatica**

npj | breast cancer

www.nature.com/npjbcancer

COMMENT OPEN

PARP inhibition in breast cancer: progress made and future hopes

Nadine Tung^{1,2} and Judy E. Garber^{2,3}

PARP inhibitors have been approved for the treatment of metastatic breast cancer in germline *BRCA* mutation (gBRCAm) carriers. The recent OlympiA trial demonstrated improved progression-free and distant disease-free survival with adjuvant olaparib for gBRCAm carriers with HER2-negative high-risk early-stage breast cancer. The current article addresses some of the questions raised by OlympiA regarding how to incorporate PARP inhibitors into the treatment of early-stage breast cancer as well as future directions for PARP inhibitors in breast cancer treatment and prevention.

npj Breast Cancer (2022)8:47; <https://doi.org/10.1038/s41523-022-00411-3>

Targeted Oncology (2021) 16:255–282
<https://doi.org/10.1007/s11523-021-00796-4>

REVIEW ARTICLE

An Overview of PARP Inhibitors for the Treatment of Breast Cancer

Laura Cortesi¹ · Hope S. Rugo² · Christian Jackisch³

Accepted: 1 February 2021 / Published online: 12 March 2021
© The Author(s) 2021

Review

Resurrection of PARP Inhibitors in Breast Cancer

Tomas G. Lyons, MD,^a and Mark E. Robson, MD^{a,b}

Abstract

PARP enzymes are essential for DNA damage repair. Cancers with defective homologous recombination DNA repair, such as *BRCA1*- and *BRCA2*-mutated breast cancers, are targets for PARP inhibitors (PARPI) through the exploitation of synthetic lethality. A number of PARPI are currently undergoing clinical evaluation in breast cancer, with olaparib and talazoparib having demonstrated superior efficacy compared with standard chemotherapy in advanced germline *BRCA*-mutated cancer. This review describes the biological rationale for PARPI and presents the accumulating data on PARPI use in breast cancer.

J Natl Compr Canc Netw 2018;16(9):1150–1156
doi: 10.6004/jnccn.2018.7031

Breast Cancer (ML Telli, Section Editor) | [Published: 11 April 2018](#)

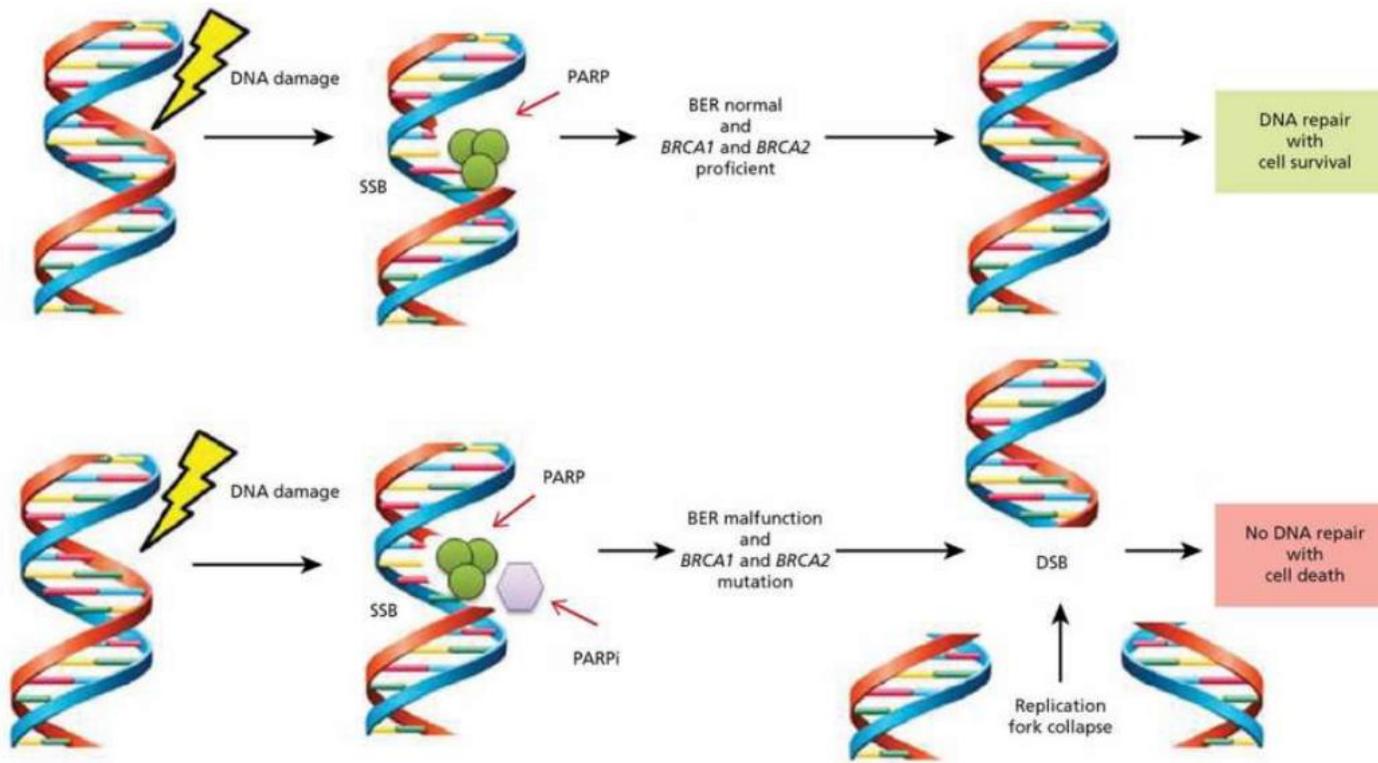
Update on PARP Inhibitors in Breast Cancer

[Alexandra S. Zimmer MD](#), [Mitchell Gillard BA](#), [Stanley Lipkowitz MD, PhD](#) & [Jung-Min Lee MD](#)



Delegazione Regionale Puglia e Basilicata
GdS Genetica Umana

PARP-inibitori e letalità sintetica



PARP svolge un ruolo chiave nella riparazione di rotture del DNA a singolo filamento reclutando enzimi per la riparazione del DNA

Se nelle cellule tumorali l'attività PARP è inibita, l'enzima sembra essere fisicamente "intrappolato" nel DNA ostacolando il processo di replicazione con la formazione di rotture a doppio filamento (DSB).

Se la riparazione del danno delle cellule neoplastiche è compromessa dalla perdita di funzione di BRCA1 o BRCA2 (perché mutati) ne deriva

INSTABILITÀ GENOMICA SUFFICIENTE A PROVOCARE LA MORTE DELLE CELLULE MALATE

Lyons TG et al. *J Natl Compr Canc Netw* 2018;16(9):1150–1156

Mechanism of action of PARP inhibition. Abbreviations: BER, base excision repair; DSB, double strand break; PARPi, PARP inhibitor; SSB, single strand break.

INDICAZIONI ALL'ESECUZIONE DEL TEST



- numero di parenti affetti*
- tipo di neoplasia*
- tumori primitivi multipli*
- età alla diagnosi*
- caratteristiche istologiche, immunoistochimiche e molecolari*

Queste variabili sono organizzate in criteri che, se soddisfatti, rendono indicato l'invio alla **Consulenza Genetica Oncologica** per l'effettuazione del **test molecolare per la ricerca delle mutazioni nei geni BRCA1 e BRCA2**, in accordo con le indicazioni presenti nelle linee guida nazionali e internazionali



Criteria di accesso alla consulenza genetica oncologica

Storia personale di:

1. Carcinoma mammario maschile
2. Donna con carcinoma mammario e carcinoma ovarico
3. Donna con carcinoma mammario < 36 anni
4. Donna con carcinoma mammario triplo negativo < 60 anni
5. Donna con carcinoma mammario bilaterale < 50 anni
6. Donna con carcinoma ovarico non mucinoso e non borderline a qualsiasi età
7. Adenocarcinoma pancreatico metastatico
8. Carcinoma prostatico metastatico

Storia personale di carcinoma mammario < 50 anni e familiarità di primo grado ^{a,b} per:

- Carcinoma mammario < 50 anni
- Carcinoma ovarico non mucinoso e non borderline a qualsiasi età
- Carcinoma mammario bilaterale
- Carcinoma mammario maschile
- Carcinoma pancreatico localmente avanzato o metastatico
- Carcinoma prostatico metastatico

Storia personale di carcinoma mammario > 50 anni e familiarità per carcinoma mammario, ovarico, prostatico metastatico o pancreatico localmente avanzato o metastatico in 2 o più parenti in primo grado ^{a,b} tra loro (di cui uno in primo grado con lei ^{a,b})

Storia familiare di:

Variante patogenetica nota in un gene predisponente in un familiare

^a Parenti di primo grado = genitori, fratelli/sorelle e figli

^b Per i tumori mammari e ovarici, nel lato paterno della famiglia, considerare anche familiari di secondo grado (nonna, zia)



Bollettino Ufficiale della Regione Puglia - n. 14 suppl. del 3-2-2022

PARTE PRIMA

Leggi e regolamenti regionali

LEGGE REGIONALE 2 febbraio 2022, n. 1

“Misure per il potenziamento dello screening di popolazione sul tumore mammario e istituzione del programma di valutazione del rischio per pazienti e famiglie con mutazioni geniche germinali”.



Delegazione Regionale Puglia e Basilicata
GdS Genetica Umana

Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast, Ovarian, and Pancreatic

Version 3.2023 — February 13, 2023

senza storia familiare o caratteristiche biopatologiche della neoplasia

TESTING CRITERIA FOR HIGH-PENETRANCE BREAST CANCER SUSCEPTIBILITY GENES (Specifically *BRCA1*, *BRCA2*, *CDH1*, *PALB2*, *PTEN*, and *TP53*. See [GENE-A](#))^{a,e,f,g}

Testing is clinically indicated in the following scenarios:

- See General Testing Criteria on [CRIT-1](#).
- Personal history of breast cancer with specific features:
 - ▶ ≤50 y
 - ▶ Any age:
 - ◊ Treatment indications
 - To aid in systemic treatment decisions using PARP inhibitors for breast cancer in the metastatic setting^{h,i} (See [NCCN Guidelines for Breast Cancer](#))
 - To aid in adjuvant treatment decisions with olaparib for high-risk,^j HER2-negative breast cancer^h
 - ◊ Pathology/histology
 - Triple-negative breast cancer
 - Multiple primary breast cancers (synchronous or metachronous)^k
 - Lobular breast cancer with personal or family history of diffuse gastric cancer See [NCCN Guidelines for Gastric Cancer](#)
 - ◊ Male breast cancer
 - ◊ Ancestry: Ashkenazi Jewish ancestry
 - ▶ Any age (continued):
 - ◊ Family history^l
 - ≥1 close blood relative^m with ANY:
 - breast cancer at age ≤50
 - male breast cancer
 - ovarian cancer
 - pancreatic cancer
 - prostate cancer with metastatic,ⁿ or high- or very-high-risk group (Initial Risk Stratification and Staging Workup in [NCCN Guidelines for Prostate Cancer](#))
 - ≥3 total diagnoses of breast cancer in patient and/or close blood relatives^m
 - ≥2 close blood relatives^m with either breast or prostate cancer (any grade)
- Family history of cancer only
 - ▶ An affected individual (not meeting testing criteria listed above) or unaffected individual with a first- or second-degree blood relative meeting any of the criteria listed above (except unaffected individuals whose relatives meet criteria only for systemic therapy decision-making).^o
 - ◊ If the affected relative has pancreatic cancer or prostate cancer only first-degree relatives should be offered testing unless indicated based on additional family history.
 - ▶ An affected or unaffected individual who otherwise does not meet the criteria above but has a probability >5% of a *BRCA1/2* pathogenic variant based on prior probability models (eg, Tyrer-Cuzick, BRCAPro, CanRisk)^p

Alcuni studi in Italia (numero di campioni limitati) hanno messo in evidenza un tasso significativo di varianti germinali BRCA in donne tra 37 e 45 anni.

Se consolidati su dati più ampi si potrebbero porre le basi per un innalzamento anche in Italia della soglia età fissata al momento a donne con età < di 36 anni

criteri d'accesso per il test BRCA



**test appropriato in presenza di una
probabilità di mutazione BRCA1-BRCA2 maggiore del 10%**



Questa soglia viene ritenuta **un ragionevole compromesso** tra l'utilità clinica presunta e la salvaguardia dell'**appropriatezza prescrittiva**, a fronte dell'attuale **complessità** e dei **costi dei test genetici**

modelli per il calcolo della probabilità di mutazioni geniche BRCA1/2

Vari modelli sono stati sviluppati per stimare la probabilità che un individuo o una famiglia abbia una mutazione germinale in BRCA1 o BRCA2

- * BRCAPRO – modello computerizzato basato sull'anamnesi familiare e differenti modelli di calcolo.
- * Frank or Myriad Model/Tables – impiego dell'anamnesi personale e familiare.
- * BOADICEA (Breast and Ovarian Analysis of Disease Incidence and Carrier Estimation Algorithm) – calcolo basato sull'anamnesi personale e familiare sul server dell'Università di Cambridge.
- * Tyrer-Cuzick (IBIS Breast Cancer Risk Evaluator)
- * The Penn II Risk Model



BOADICEA v5

Breast and Ovarian Analysis of Disease Incidence and Carrier Estimation Algorithm
Welcome



Delegazione Regionale Puglia e Basilicata
GdS Genetica Umana

CONSULENZA GENETICA ONCOLOGICA (CGO) PRE-TEST

HBOC



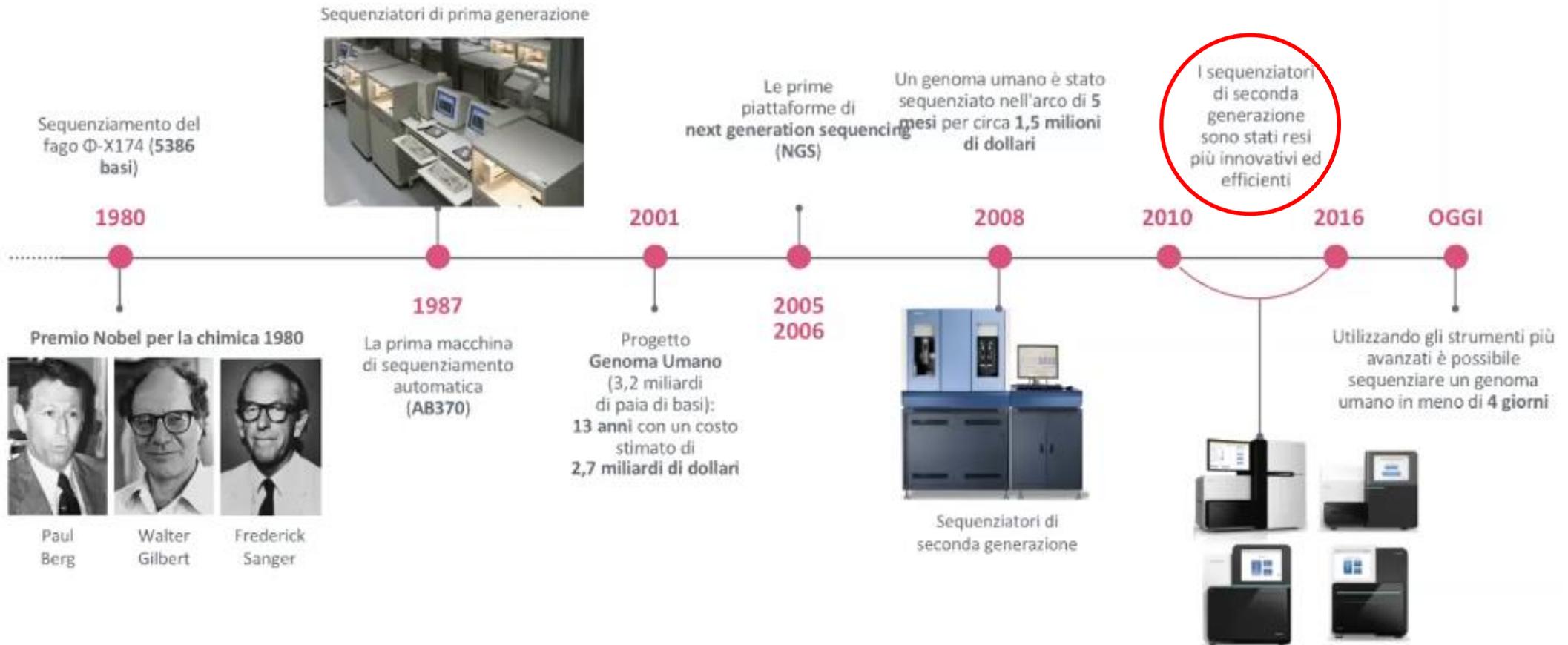
Obiettivi

- **Accertare**, attraverso la ricostruzione della storia clinica personale e familiare e la costruzione dell'albero genealogico, la possibilità di una **predisposizione ereditaria allo sviluppo della neoplasia**
- **Aiutare** la persona che la richiede a **comprendere le basi scientifiche** su cui si basano sia la **stima del rischio** sia le **misure di sorveglianza**
- **Valutare** la sussistenza dei **criteri minimi per l'esecuzione del test genetico** e acquisire un **consenso informato**
- **Illustrare indicazioni, benefici e limiti dell'indagine genetica**

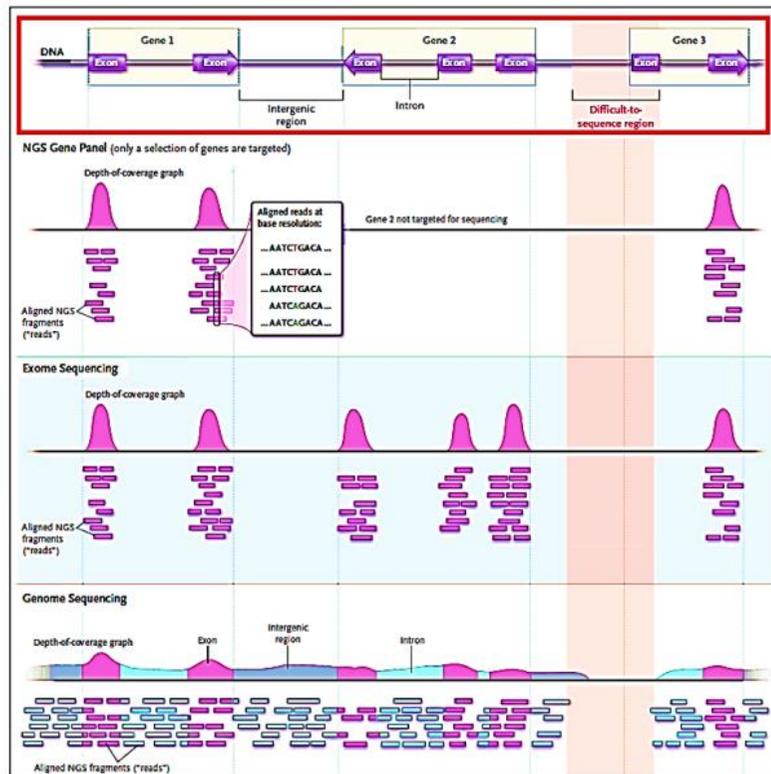


Società Italiana di Genetica Umana (SIGU)-Gruppo di Lavoro Genetica Oncologica

Evoluzione delle tecniche di sequenziamento



Sequenziamento di seconda generazione Next Generation Sequencing (NGS)



- Un gene di grosse dimensioni/più geni/pannelli di geni
- Esoma - genoma codificante (WES, <2% del genoma)
 - esoma clinico (>6.000 geni)
 - esoma di ricerca (>20.000 geni)
- Intero genoma (WGS, 3.1 Mld di basi)

Genetica Molecolare: Workflow test genetico

Next Generation Sequencing (NGS)



capacità di sequenziare, in parallelo, milioni di frammenti di DNA.



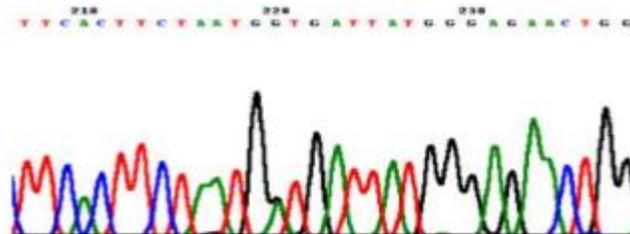
sequenziamento di nuova generazione (Next Generation Sequencing-NGS)



-Il DNA viene sottoposto a sequenziamento massivo parallelo (MPS), secondo protocolli diversi a seconda della tecnologia utilizzata.

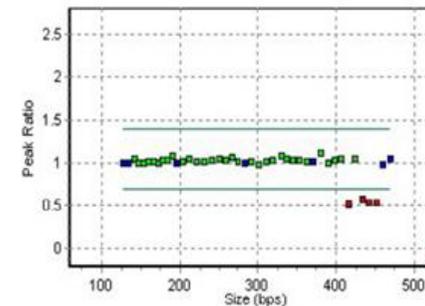
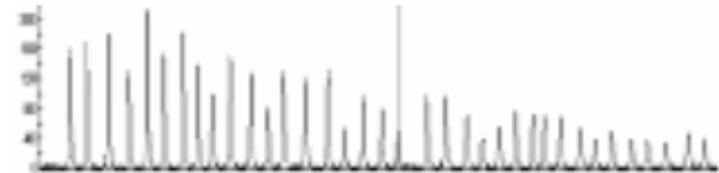
-I dati ottenuti dalle sequenze geniche vengono analizzati con l'utilizzo di software commerciali che identificano dapprima tutte le varianti presenti nella sequenza genomica analizzata e poi, tramite un sistema di filtraggio predefinito, selezionano quelle che potrebbero avere un significato per il gene in esame.

La presenza di una variante viene poi confermata con una seconda metodica (sequenziamento secondo Sanger)





MLPA per larghe delezioni o duplicazioni o riarrangiamenti genomici



Qualora tramite NGS non dovessero essere identificate varianti, si procede **all'utilizzo di una seconda tecnica che permetta di identificare grosse delezioni/inserzioni nei geni BRCA1 e BRCA2 (Copy Number Variations).**

La metodologia più comune è quella di **Multiplex Ligation Probe Amplification (MLPA)**, oppure **software che permettono di attuare sia NGS che CNV.**



Interpretazione delle varianti genetiche BRCA

Criteria sviluppati dall'*Evidence-based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles (ENIGMA)*, disponibili sul sito web del consorzio (<http://www.enigmaconsortium.org>)

ENIGMA classifica le varianti in **cinque categorie**, secondo le indicazioni IARC (International Agency for Research on Cancer - Plon et al., 2008) e dell'American College Medical Genetics and Genomics in collaborazione con l'Association for Molecular Pathology (ACMGG-AMP, - Richards et al., 2015)

Class	Quantitative Measure: Probability of Pathogenicity	Predictive Testing of At-Risk Relatives	Surveillance for At-Risk Relatives	Research Testing of Relatives
5: Pathogenic	>0.99	Yes	Full high-risk guidelines for variant carriers	Not indicated
4: Likely pathogenic	0.95-0.99	Yes ^b	Full high-risk guidelines for variant carriers	Yes
3: Uncertain	0.05-0.949	No ^b	Based on family history & other risk factors	Yes
2: Likely not pathogenic or of little clinical significance	0.001-0.049	No ^b	Based on family history & other risk factors - treat as "no <i>BRCA1/2</i> pathogenic variant detected" for this disorder	Yes
1: Not pathogenic or of no clinical significance	<0.001	No ^b	Based on family history & other risk factors - treat as "no <i>BRCA1/2</i> pathogenic variant detected" for this disorder	Not indicated

Database di riferimento:

- BIC**, Breast Information Core (<http://www.nhgri.nih.gov/>);
- HGMD** - The Human Gene Mutation Database (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/gene.php?gene=BRCA1/2/>);
- UMD** locus Specific Database - The Universal Mutation Database (<http://www.umd.be/BRCA1/2/>);
- ClinVar** - Public archive of relationships among sequence variation and phenotype ([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/?term=brca1/2/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/?term=brca1/2;));
- LOVD** - Leiden Open Variation Database (<http://proteomics.bio21.unimelb.edu.au/lovd/genes/BRCA1/2/>);
- ARUP** - University of Utah School of Medicine Department of Pathology <http://arup.utah.edu/database/BRCA/Variants/BRCA1/2/>);
- BRCAexchange** - Global Alliance for Genomics and Health (<http://brcaexchange.org/variants>).

Table 1: IARC 5-tiered classification system with accompanying recommendations for family management^a

^aAdapted for clarity from original tabular presentation published (Plon et al., 2008)

^bRecommend continued testing of proband for any additional available testing modalities available for *BRCA1/2* e.g. rearrangements.





Varianti di significato incerto (UV/VUS)

Sostituzioni di singoli amminoacidi, piccole delezioni o inserzioni in-frame con un effetto sulla proteina non prevedibile

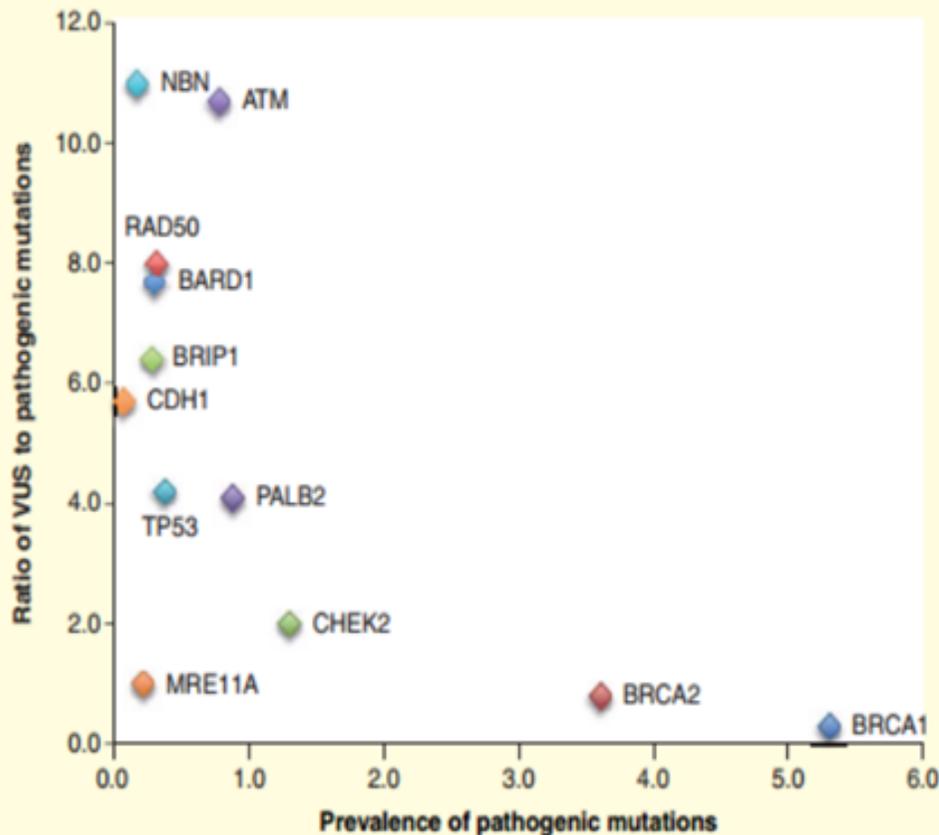


Figure 4. Relationship between the prevalence of pathogenic mutations and the ratio of variants of unknown significance (VUS) to pathogenic variants.

Lerner-Ellis, Jordan, et al. *Expert review of anticancer therapy* 15.11 (2015): 1315-1326.

Circa il **6%** dei test genetici BRCA portano all'identificazione di varianti di significato incerto -VUS

Allo stato attuale, per tali varianti **non ci sono dati sufficienti per determinare se possano essere correlate con un rischio aumentato di cancro**

Al di là di quanto indicato dalla storia personale e familiare e di eventuali altri dati clinicamente significativi, **tale risultato non modifica la gestione clinica della paziente.**

I familiari di primo grado NON hanno indicazione all'esecuzione del test

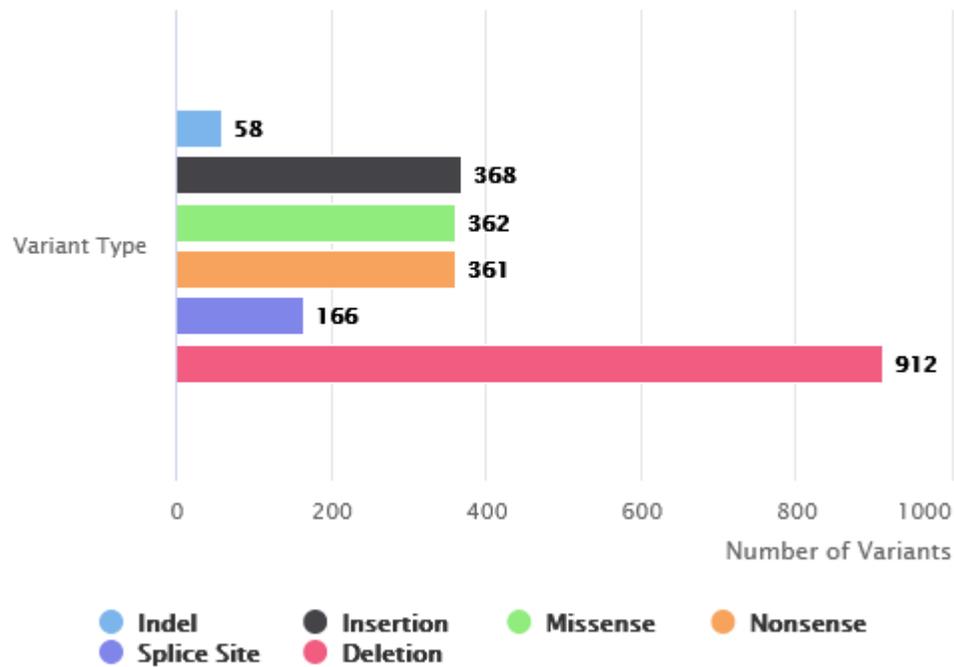
BRCA1 Database

2227 total entries

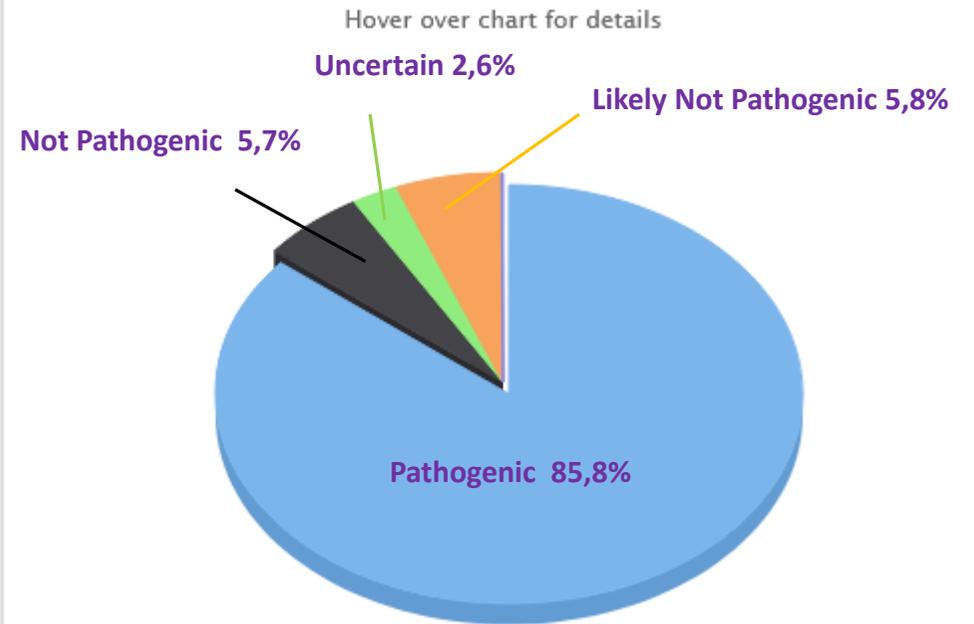
Last update: July 2022



Variant Type



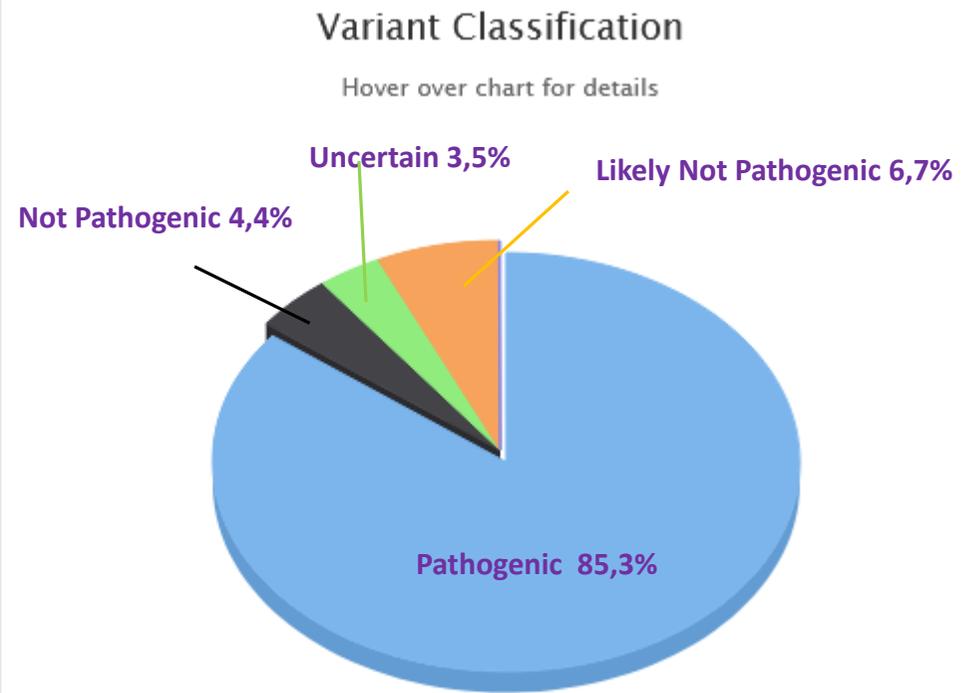
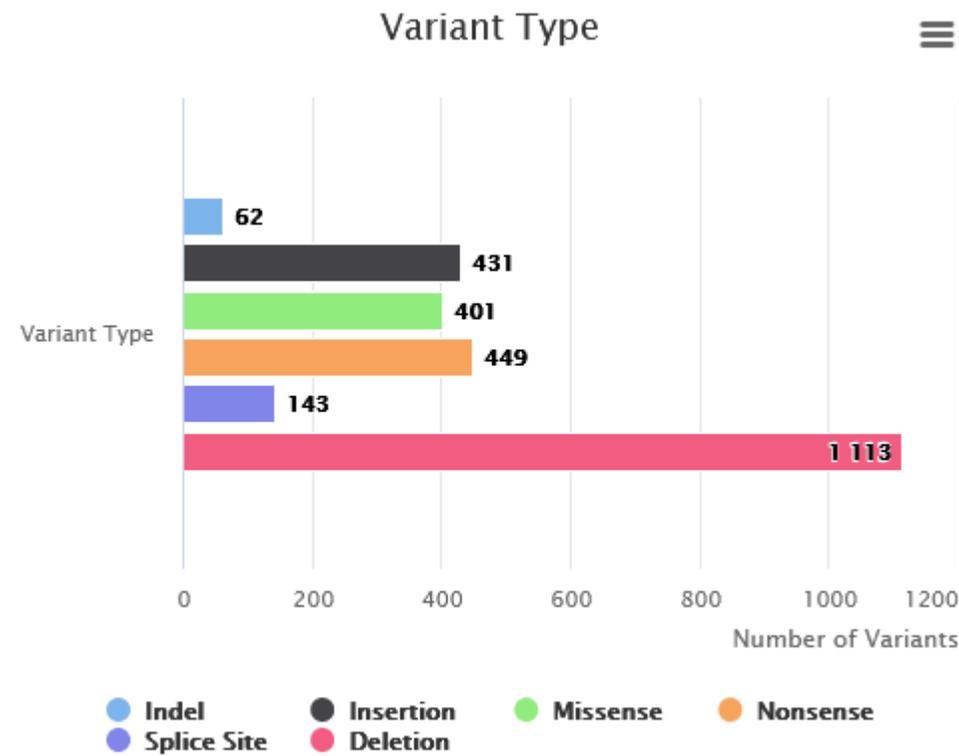
Variant Classification



BRCA2 Database

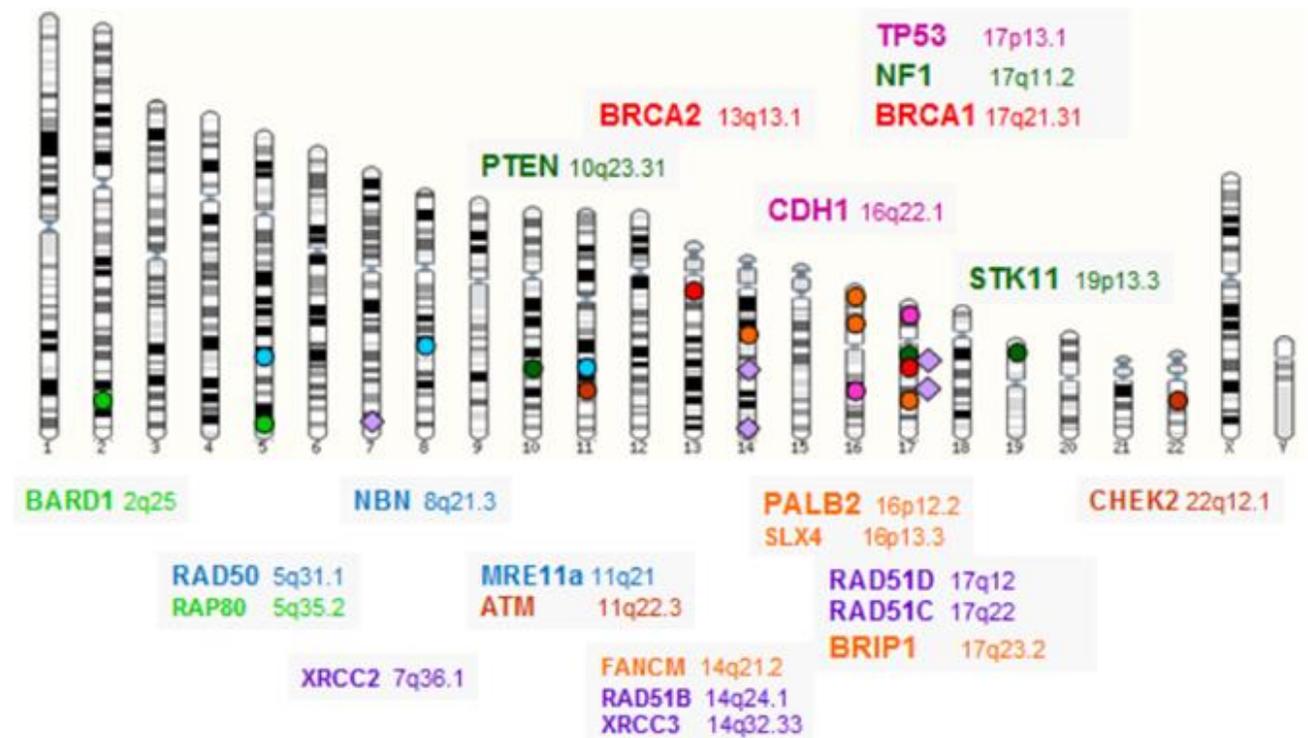
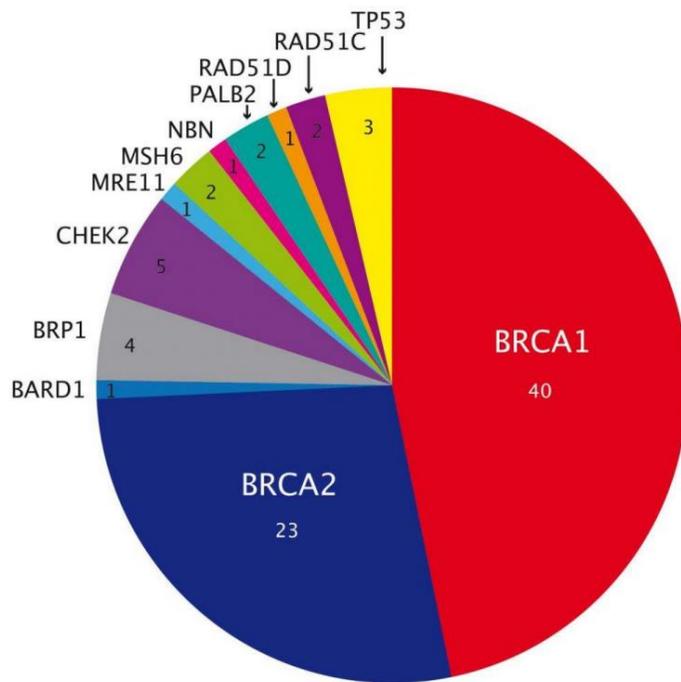
2599 total entries

Last update: July 2022





Mutazioni in geni diversi da BRCA1/BRCA2 ma che determinano ugualmente una carenza riparazione del DNA, analoga a quella che si verifica nei portatori di mutazione BRCA1/BRCA2



geni ad alta/moderata penetranza
responsabili di un variabile incremento del rischio di sviluppare
tumori della mammella/ovaio



Tumor risks for HR non BRCA genes

Gene	Cancer	Absolute risk	Specific surveillance (NCCN)
<i>ATM</i>	Breast	15-40%	Yes
	Pancreatic	5-10%	Yes
<i>ATR</i>	-	-	No
<i>BARD1</i>	Breast	?	Yes
<i>BLM</i>	Breast	?	No
<i>BRIP1</i>	Ovarian	>10%	Yes
	Breast	?	No
<i>CHEK2</i>	Breast	15-40%	Yes
	Ovarian	-	No
<i>MRE11A</i>	Breast	-	No
	Ovarian	-	No
<i>NBN</i>	Breast	-	No
	Ovarian	-	No
<i>PALB2</i>	Breast	41-60%	Yes
	Ovarian	3-5%	No
	Pancreatic	5-10%	Yes
<i>RAD50</i>	Breast	-	No
	Ovarian	-	No
<i>RAD51C</i>	Breast	>10%	No
	Ovarian	15-40%	Yes
<i>RAD51D</i>	Breast	>10%	SI
	Ovarian	15-40%	Yes



per la ricerca di mutazioni germinali in un gruppo di geni associati a rischio neoplastico eredo-familiare

www.impactjournals.com/oncotarget/

Oncotarget, 2017, Vol. 8, (No. 29), pp: 47064-47075

Research Paper

Multiple-gene panel analysis in a case series of 255 women with hereditary breast and ovarian cancer

Gianluca Tedaldi¹, Michela Tebaldi¹, Valentina Zampiga¹, Rita Danesi², Valentina Arcangeli³, Mila Ravegnani², Ilenia Cangini⁴, Francesca Pirini⁴, Elisabetta Petracci⁴, Andrea Rocca⁵, Fabio Falcini², Dino Amadori⁵ and Daniele Calistri¹

¹Biosciences Laboratory, Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori (IRST) IRCCS, Meldola, Italy

²Romagna Cancer Registry, Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori (IRST) IRCCS, Meldola, Italy

³Department of Medical Oncology, Ospedale Infermi, Rimini, Italy

⁴Unit of Biostatistics and Clinical Trials, Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori (IRST) IRCCS, Meldola, Italy

⁵Department of Medical Oncology, Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori (IRST) IRCCS, Meldola, Italy

The Journal of Molecular Diagnostics, Vol. 21, No. 4, July 2019



the Journal of
Molecular
Diagnostics
jmd.amjpathol.org



Multi-Gene Panel Testing of 23,179 Individuals for Hereditary Cancer Risk Identifies Pathogenic Variant Carriers Missed by Current Genetic Testing Guidelines

Cynthia L. Neben, Anjali D. Zimmer, Will Stedden, Jeroen van den Akker, Robert O'Connor, Raymond C. Chan, Elaine Chen, Zheng Tan, Annette Leon, Jack Ji, Scott Topper, and Alicia Y. Zhou

L'identificazione di un gran numero di nuove mutazioni germinali consente una conoscenza più approfondita della predisposizione al cancro, ma può sollevare molti interrogativi sulla gestione della paziente



- Risccontro inatteso di mutazioni in geni maggiori senza sospetto clinico
- Incertezza nella gestione clinica
- Incertezza nelle stime di rischio
- Maggiore probabilità di ulteriori approfondimenti



Delegazione Regionale Puglia e Basilicata
GdS Genetica Umana



La decisione di effettuare il test è comunque individuale e si basa su un'attenta valutazione dei pro e dei contro di tale indagine genetica

RISULTATO DEL TEST GENETICO



Nessuna mutazione

non è stata identificata alcuna variazione nei geni indagati, ma la storia familiare suggerisce una base genetica della malattia. Questo potrebbe significare:

è presente una mutazione che le attuali tecnologie non riescono ancora ad identificare

esiste un altro gene non ancora identificato che potrebbe causare la malattia in questo individuo

una mutazione non ancora identificata è presente nella famiglia, ma questo individuo non l'ha ereditata

nonostante la storia familiare, l'occorrenza della malattia è un evento casuale

CONSULENZA GENETICA ONCOLOGICA POST-TEST

HBOC



- Comunicazione del risultato
- Rivalutazione del rischio oncologico
- Pianificazione del percorso di follow up (**valutazione multidisciplinare**)

Società Italiana di Genetica Umana (SIGU)-Gruppo di Lavoro Genetica Oncologica



Delegazione Regionale Puglia e Basilicata
GdS Genetica Umana



Viene indicato il **protocollo di sorveglianza più appropriato** da seguire nel caso di

Test positivo

presenza di mutazione patogenetica nei geni predisponenti al carcinoma della mammella e dell'ovaio

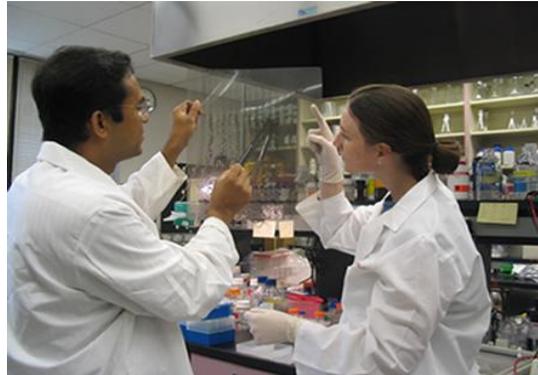
Test non informativo

nessuna mutazione identificata

Test non conclusivo

varianti di significato incerto, VUS





conclusioni



La genetica del cancro si pone oggi nella prospettiva di predire l'insorgenza di un tumore e permettere un protocollo clinico di prevenzione della patologia

In questo senso i test genetici sono uno strumento fondamentale e poderoso per l'identificazione dei fattori di rischio

Linee guida ormai ben sperimentate e in continua evoluzione sono sicuramente il supporto migliore per una definitiva accettazione nella pratica clinica oncologica dei test di predisposizione genetica al Tumore Ereditario della Mammella e dell'Ovaio e per l'utilizzo di tutti quegli screening di monitoraggio che risultano fondamentali in un corretto programma di prevenzione



PRESIDIO OSPEDALIERO CENTRALE
U. O. C. DI PATOLOGIA CLINICA

Direttore: Dott.ssa Marilina Tampoia

Sezione di Genetica Medica

genetica@asl.taranto.it

Sede: S.O. "S.S. Annunziata" Pad. Vinci I piano, Via F. Bruno1 Taranto (TA) ☎ 099.4786631

Sede: S.O. "San Marnò", Via G. Pignatelli, Grottaglie (TA) ☎ 099.860370



GRAZIE PER L'ATTENZIONE



Delegazione Regionale Puglia e Basilicata
GdS Genetica Umana