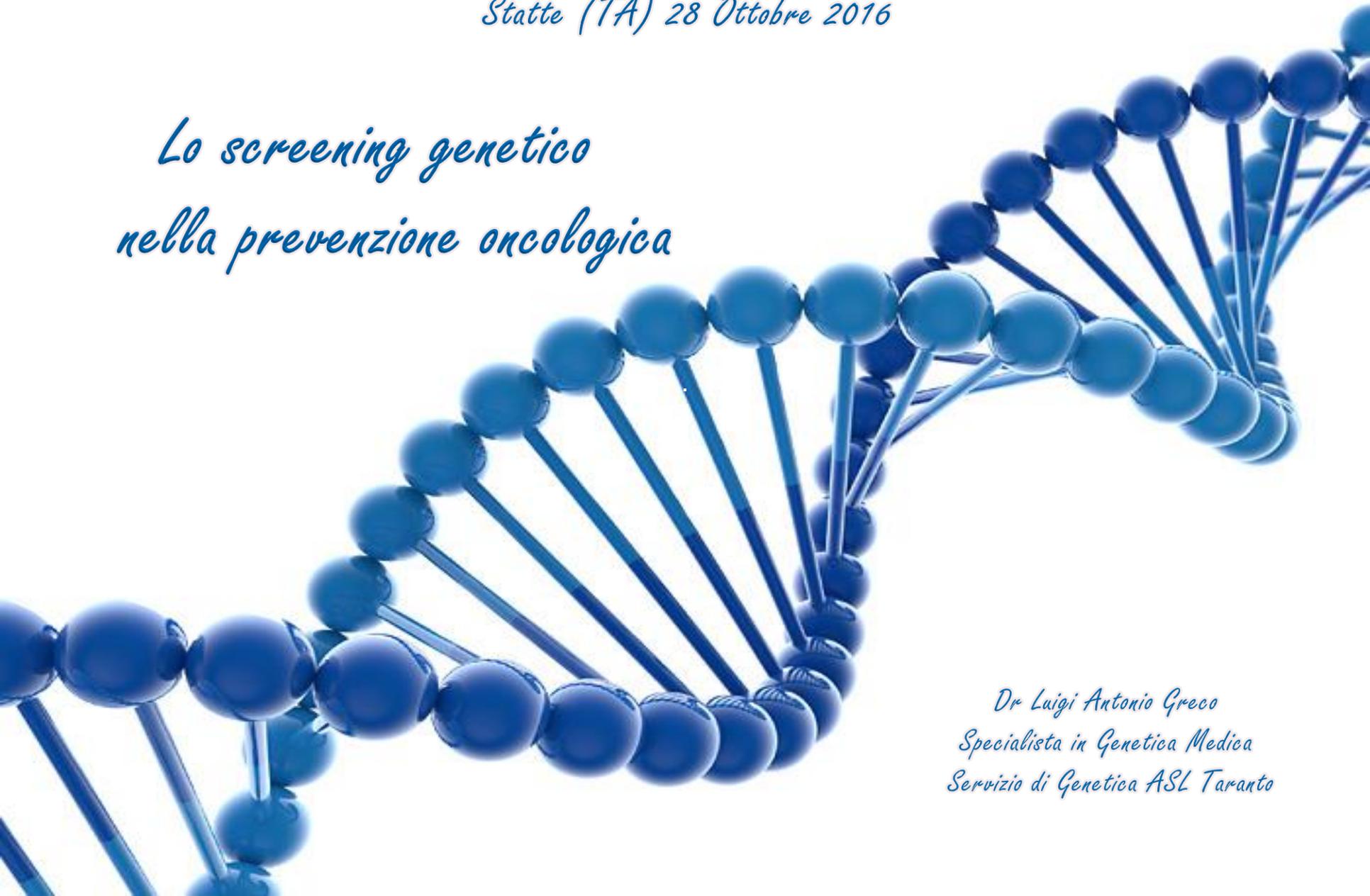


*LA GENETICA: VALIDO STRUMENTO PER LA DIAGNOSI PRECOCE*

*Statte (TA) 28 Ottobre 2016*

*Lo screening genetico  
nella prevenzione oncologica*

*Dr Luigi Antonio Greco  
Specialista in Genetica Medica  
Servizio di Genetica ASL Taranto*



# la relazione tra genetica, ambiente e malattie

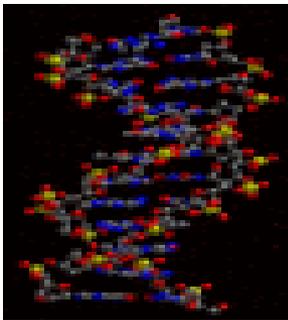




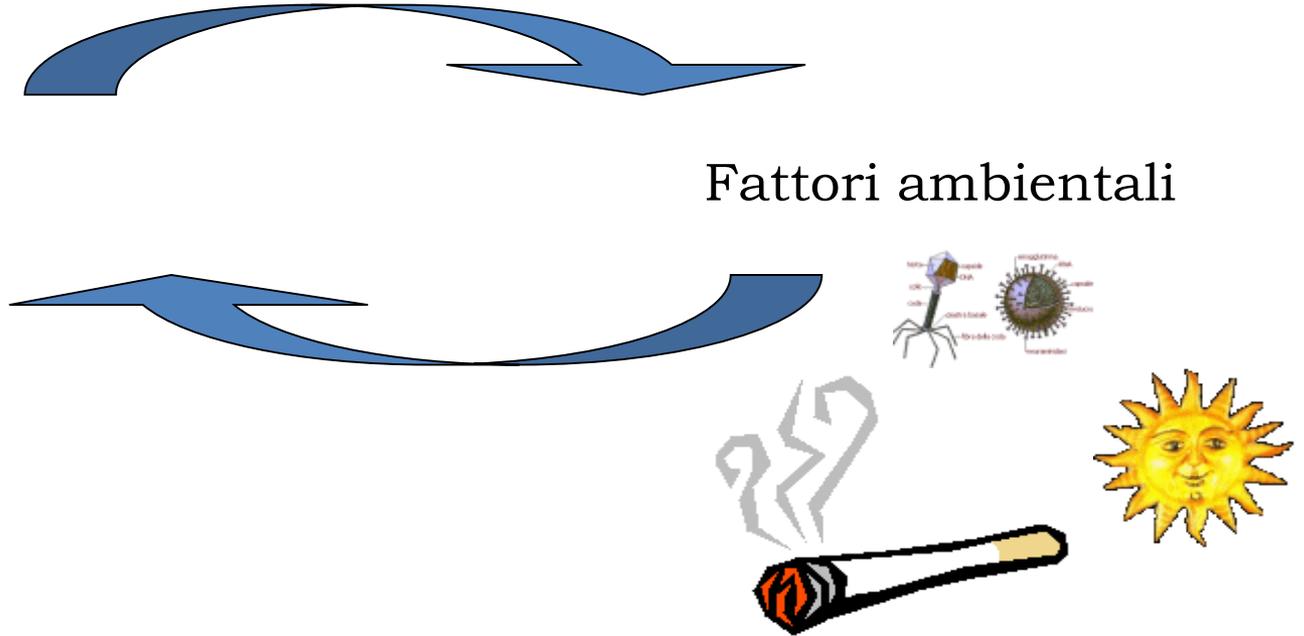
## come si sviluppa il cancro

Lo sviluppo dei tumori nell'uomo è il risultato di una complessa interazione tra:

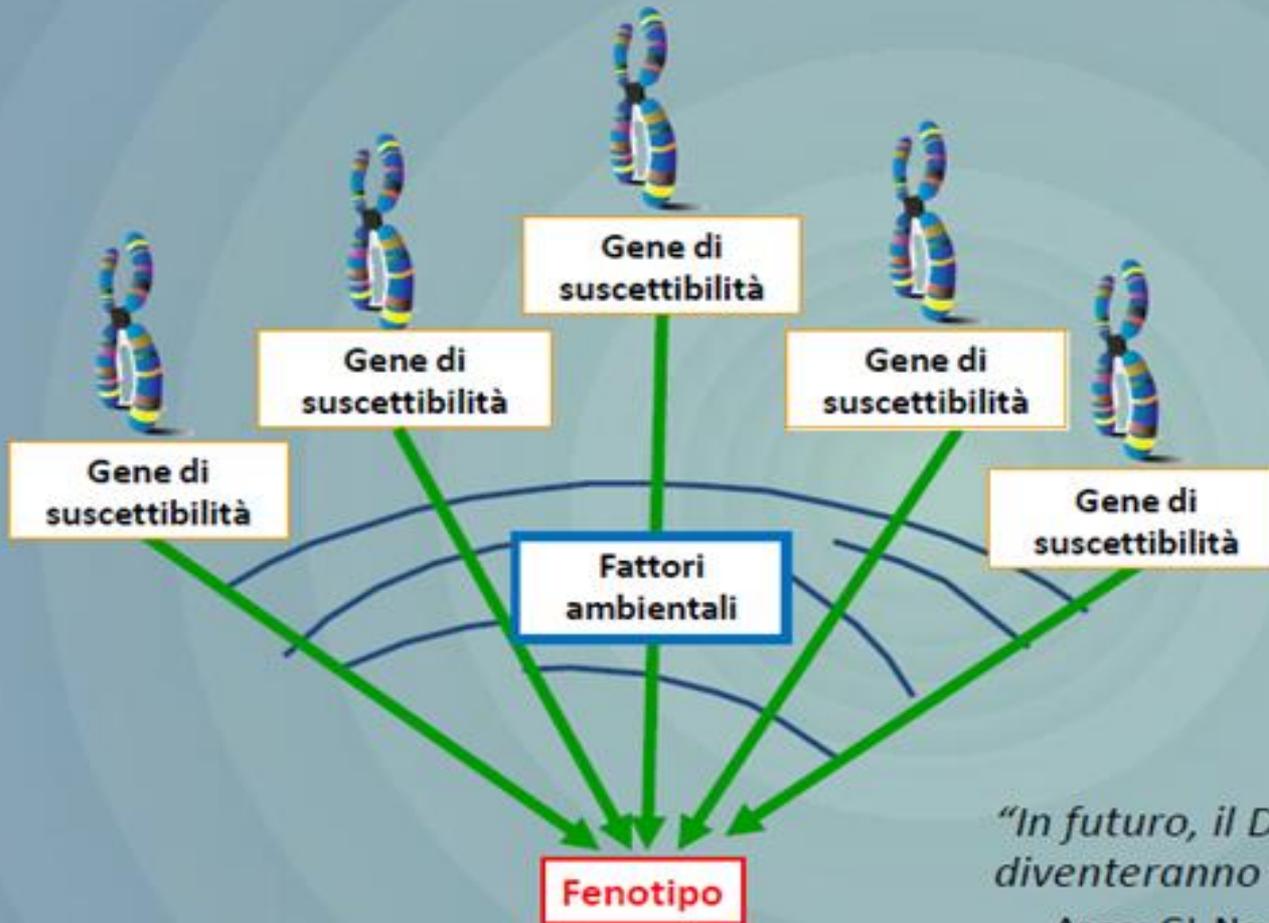
Genoma umano



Fattori ambientali

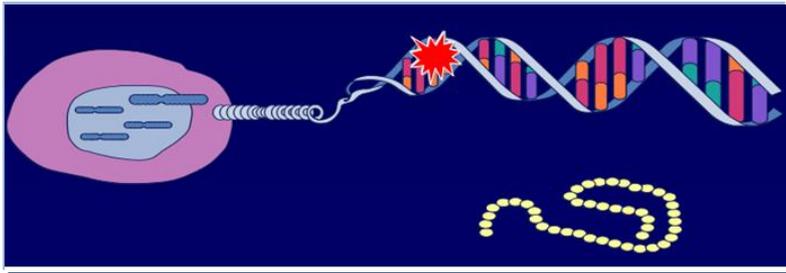


# interazione geni-ambiente



*"In futuro, il DNA e la cartella clinica diventeranno un tutt'uno"*

Annas GJ, New Engl J Med, 2000; 342:1830-1833

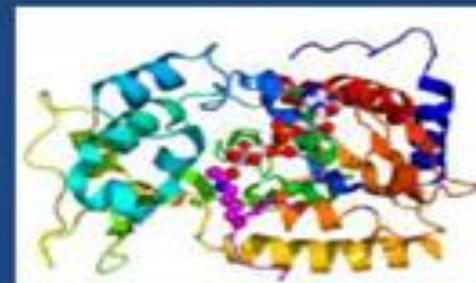
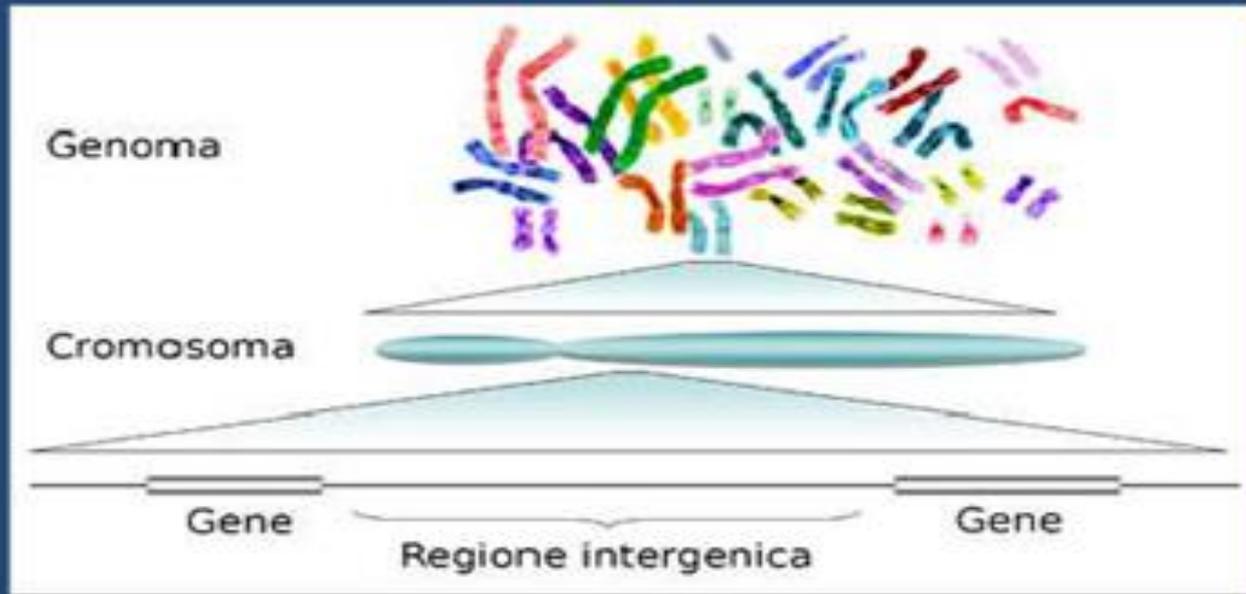


Il cancro è una malattia genetica

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



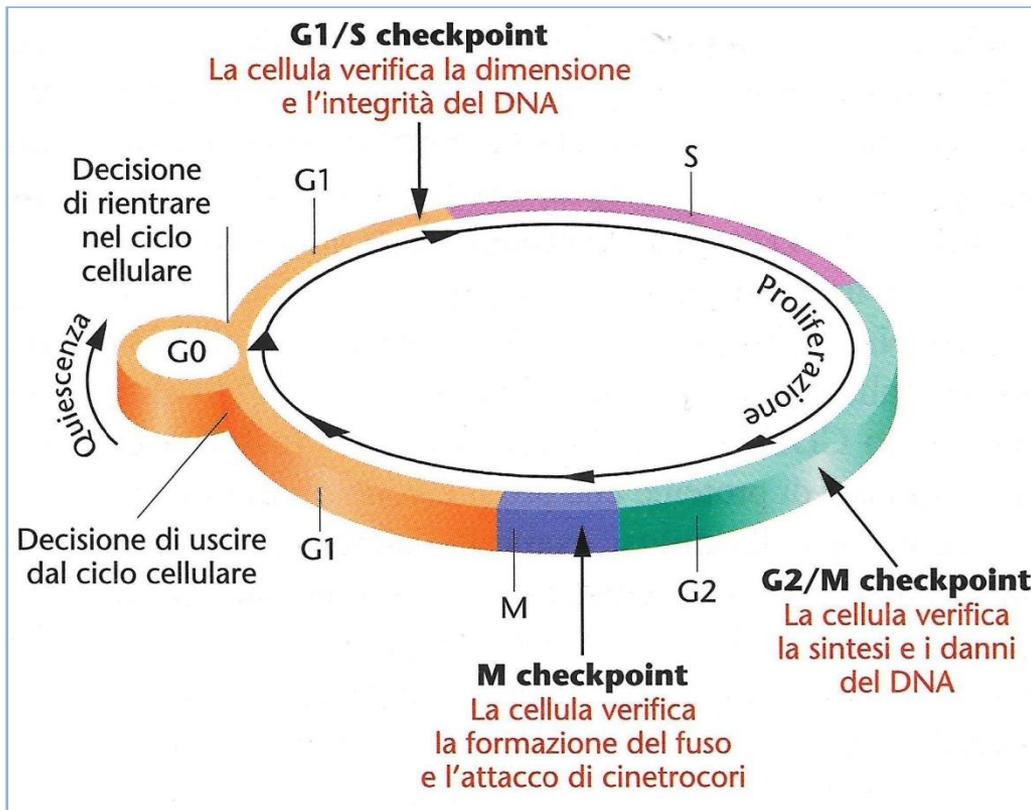
i geni sono unità complesse



Proteina

## i geni responsabili dei tumori

Le cellule iniziano a dividersi in maniera incontrollata quando sono mutati i geni che ne regolano la crescita controllando la progressione del ciclo cellulare e l'apoptosi



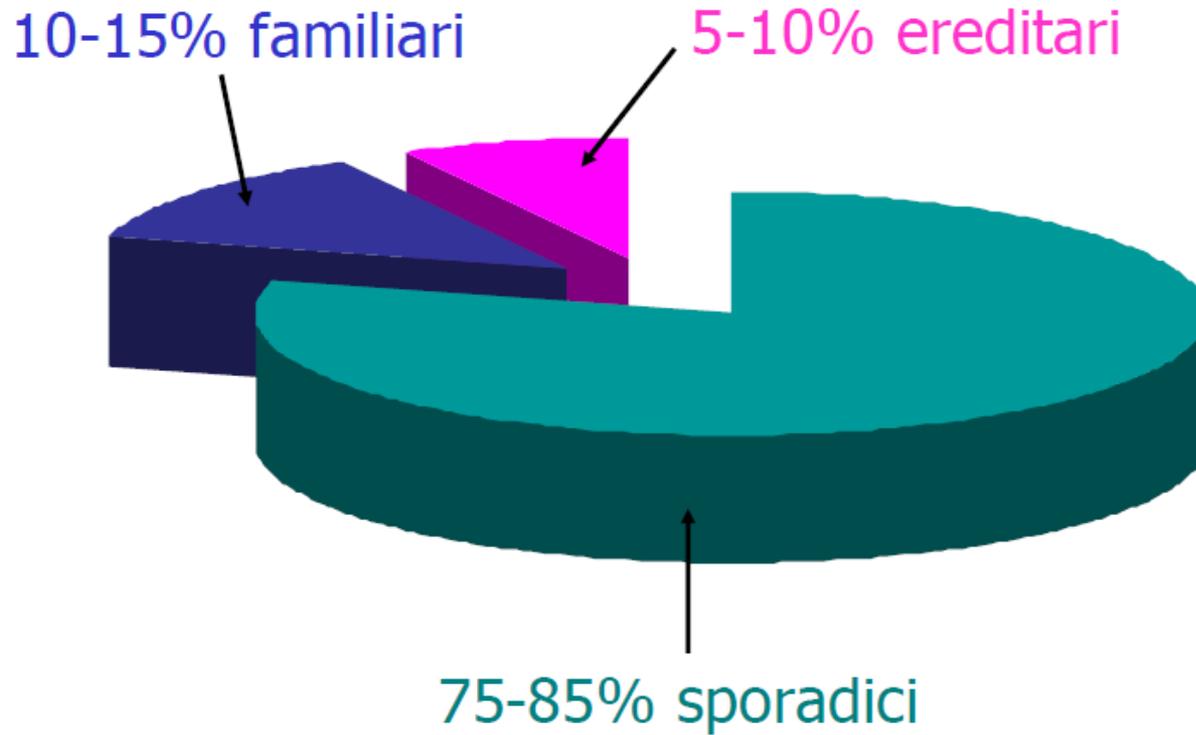
Sono necessarie numerose mutazioni di questi geni (almeno 6-7) prima che una cellula normale si trasformi in una cellula neoplastica

ciclo cellulare e "check point"



## hereditary cancers

La maggior parte dei tumori NON è ereditaria





## tumori ereditari

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.



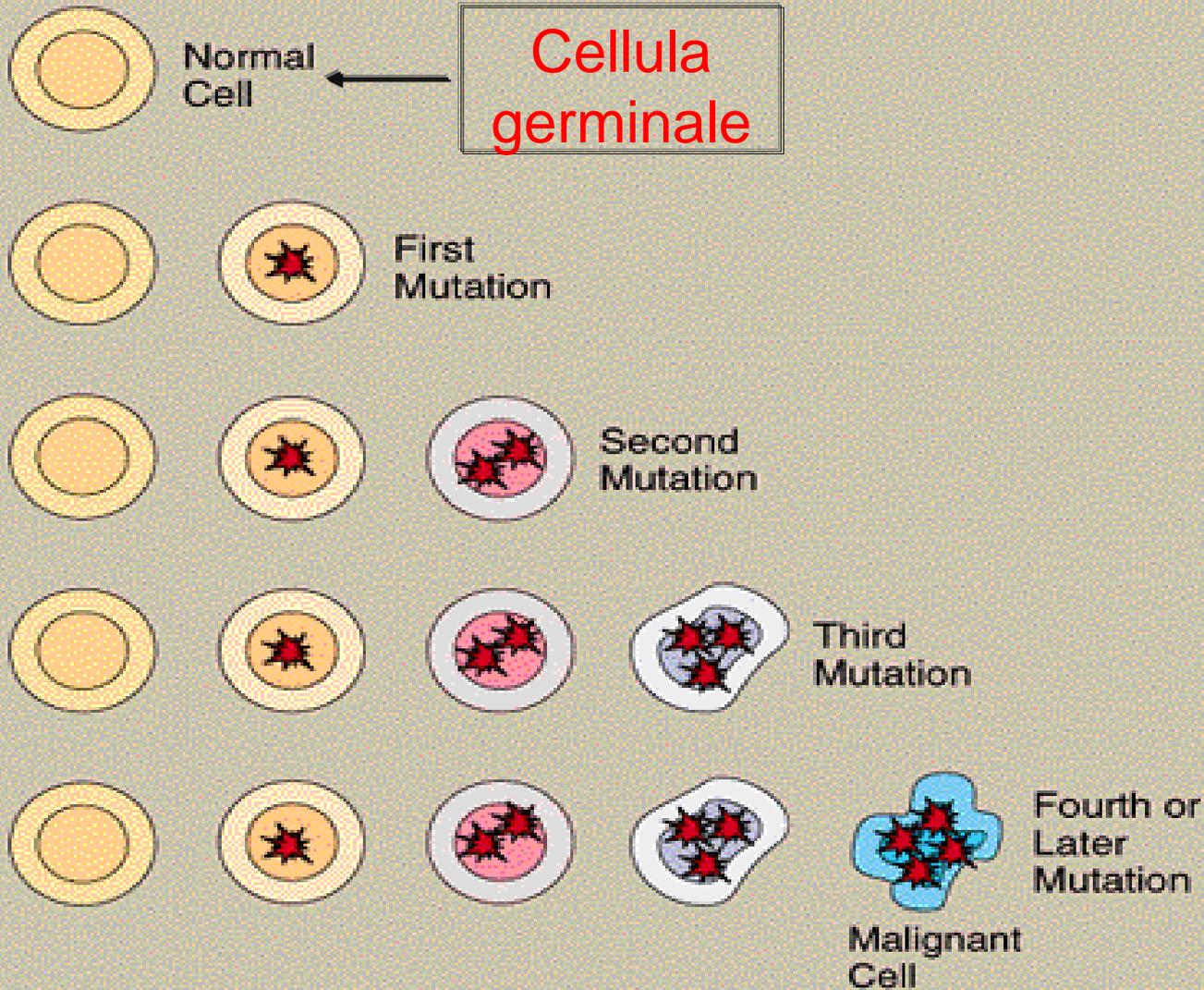
Le **mutazioni** del DNA che sono alla base del cancro possono essere:

- **germinali**, che conferiscono suscettibilità (trasmissione mendeliana)
- **somatiche** (dette sporadiche)



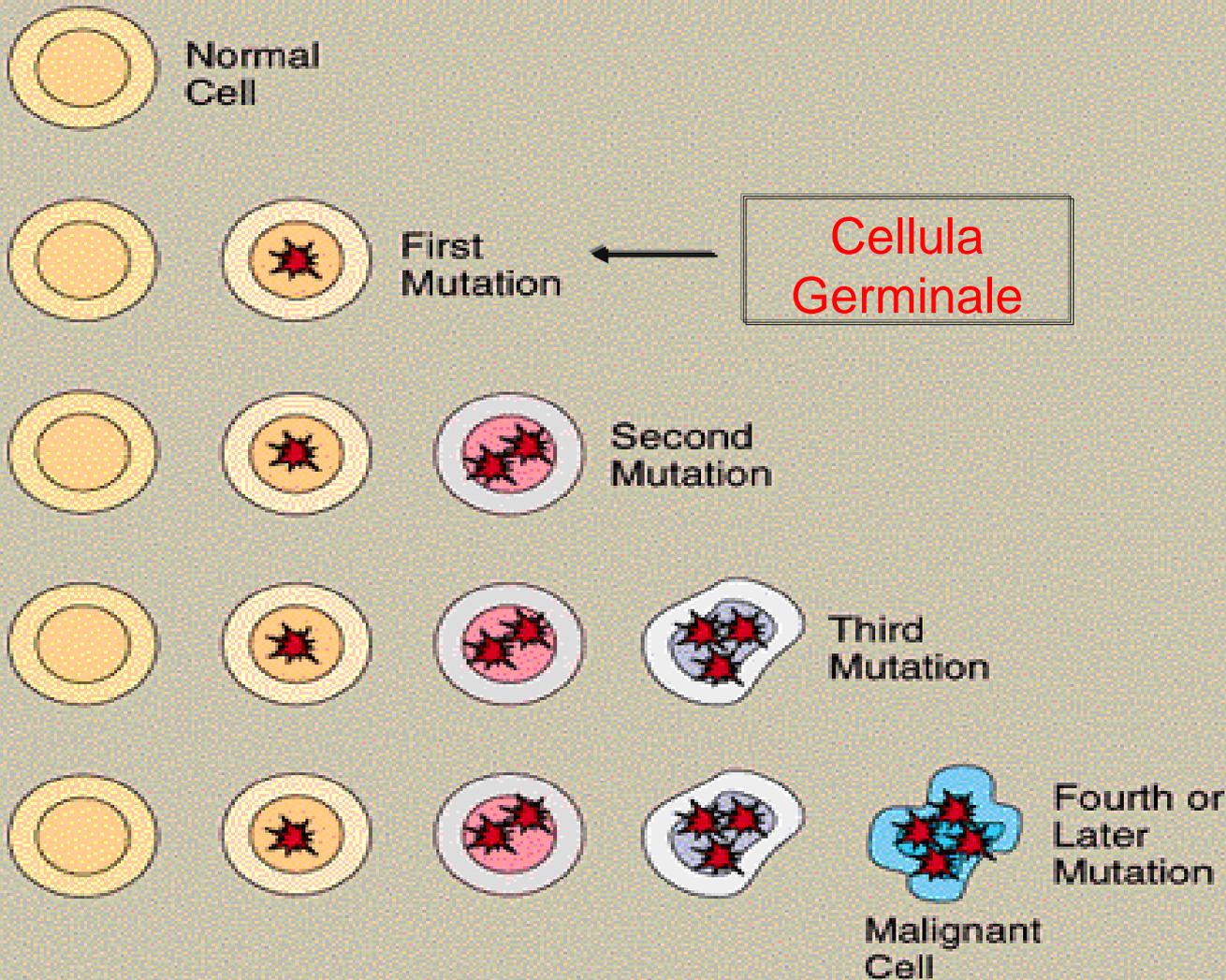


tumore sporadico





## tumore ereditario



Tutte le cellule dell'organismo sono portatrici della mutazione



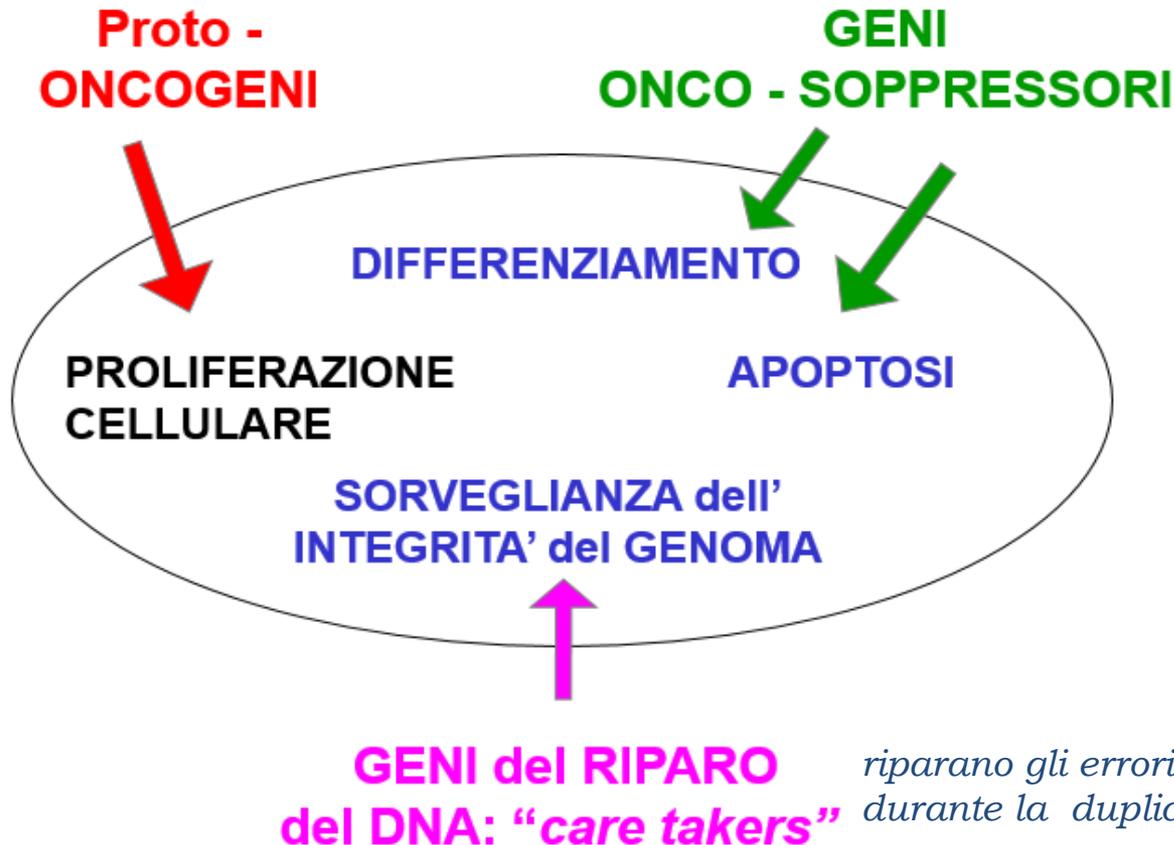
Aumento del rischio di cancro

## basi molecolari della carcinogenesi

I geni che, se mutati conferiscono suscettibilità al cancro, appartengono a tre classi:

*ruolo importante nella regolazione del ciclo e del differenziamento cellulare*

*geni in grado di inibire la crescita e la divisione cellulare sopprimendo la proliferazione incontrollata tipica delle cellule cancerose*

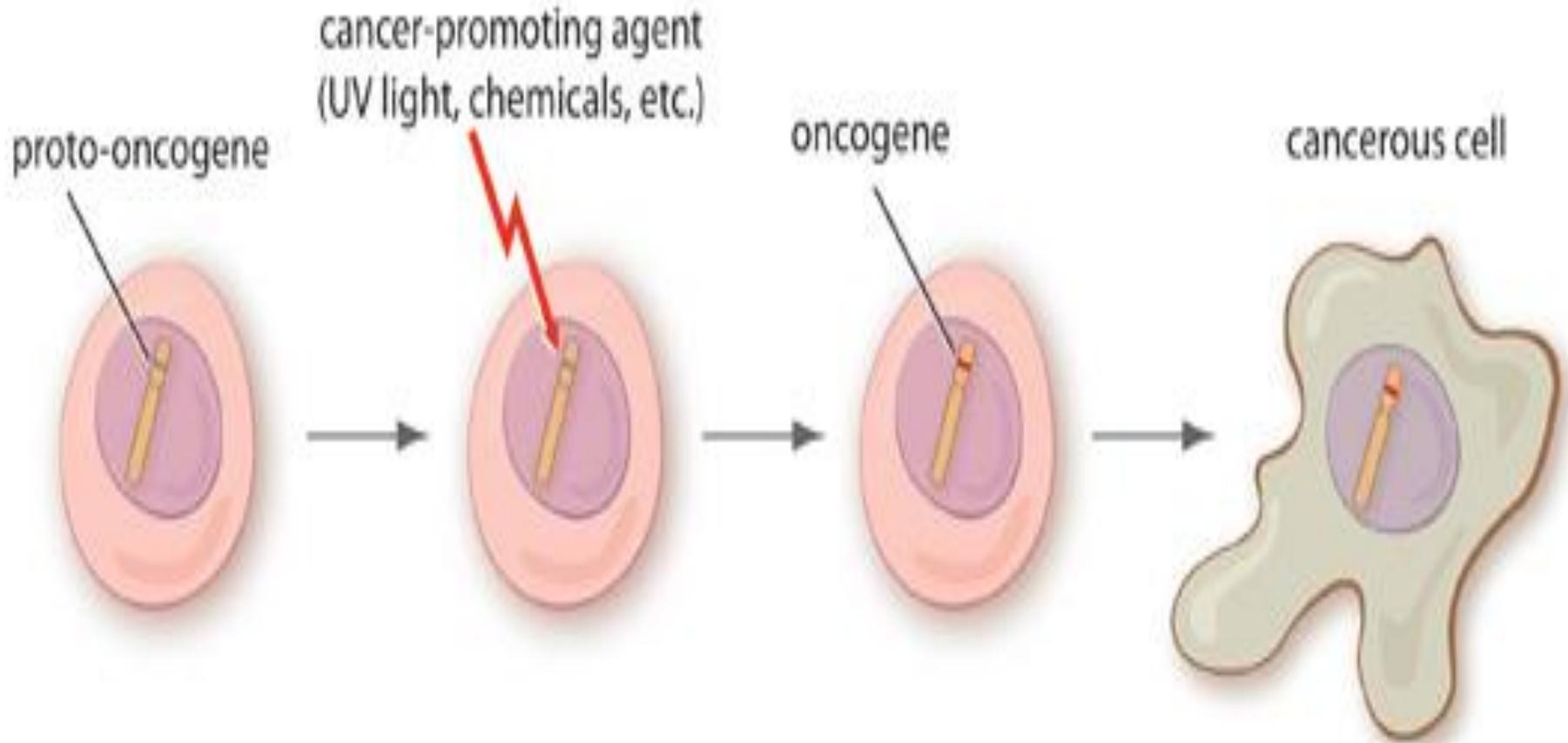


*riparano gli errori che avvengono durante la duplicazione del DNA*

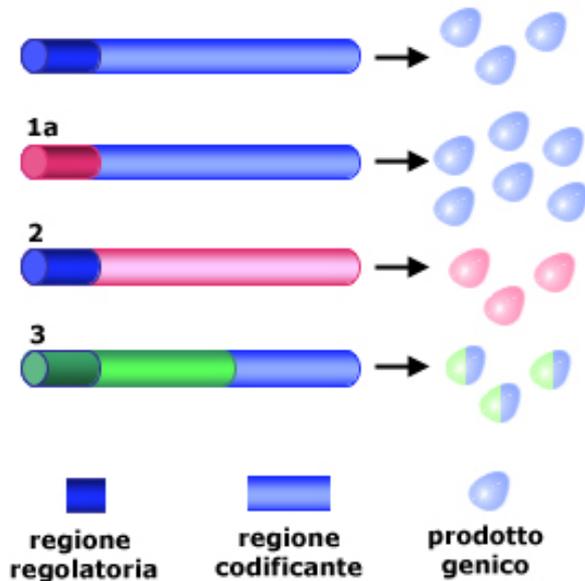


# oncogeni

Spesso coinvolti nel cancro sporadico (mutazioni somatiche), raramente nel cancro ereditario



## da proto-oncogene a oncogene



### Modalità di attivazione di un gene da proto-oncogene ad oncogene.

1a. Un'alterazione nella regione regolatoria di un gene può comportare un'aumento della quantità della proteina prodotta. 2. Un'alterazione nella regione codificante può comportare l'assunzione di funzioni nuove e trasformati. 3. Un riarrangiamento cromosomico può comportare la formazione di una proteina di fusione dotata di nuove funzioni e livelli di regolazione alterati.

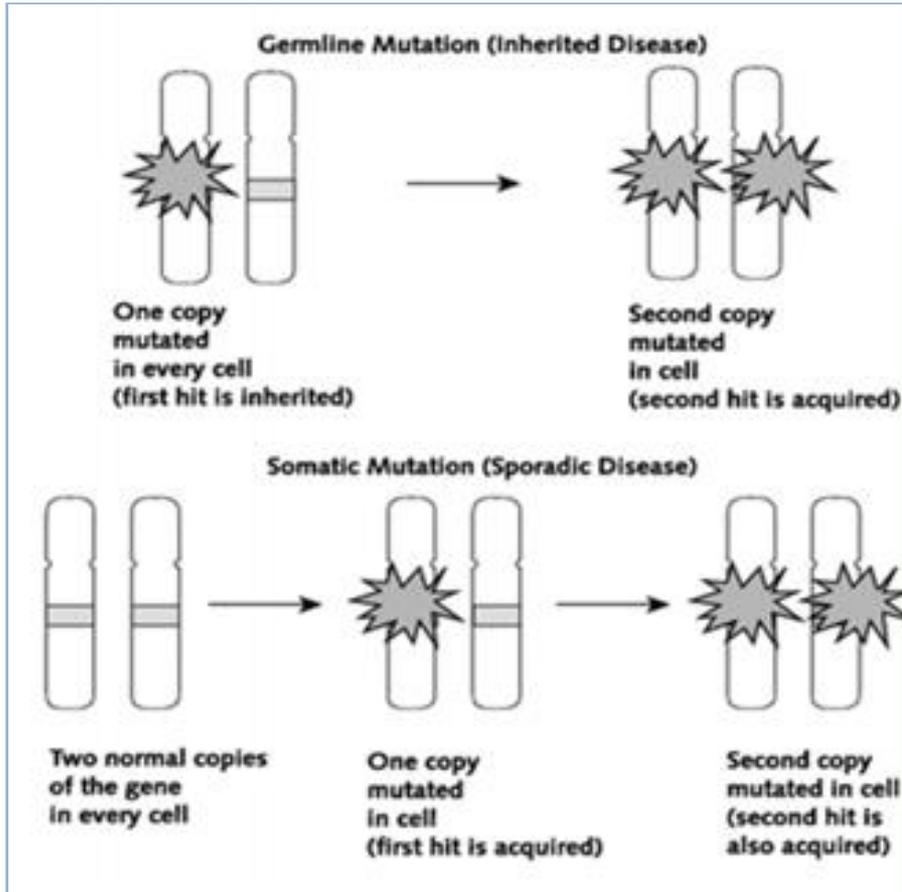
- Mutazioni puntiformi
- Delezioni
- Amplificazione genica

## oncogeni implicati in tumori ereditari

RET	MEN (Multiple Endocrine Neoplasia) tipo 2, Carcinoma Midollare della Tiroide Familiare
MET	Cacinoma Papillare del Rene Familiare

## geni oncosoppressori

Responsabili della maggior parte delle sindromi neoplastiche ereditarie



sono necessarie due mutazioni per inattivare un gene soppressore di tumore e di conseguenza per causare la perdita di controllo sulla crescita e sulla divisione cellulare

(The Two-Hit Hypothesis - L'ipotesi dei due colpi - Knudson, 1971)

geni oncosoppressori implicati in tumori ereditari

APC	FAP (Familial Adenomatous Polyposis)
VHL	Sindrome di Von Hippel-Lindau
WT1	Tumore di Wilms Ereditario
RB1	Retinoblastoma Ereditario
NF1	Neurofibromatosi 1
NF2	Neurofibromatosi 2
P53	Sindrome di Li Fraumeni
P16/CDK4	Melanoma Ereditario
PTCH	Nevoid Basal Cell carcinoma syndrome
MEN1	MEN (Multiple Endocrine Neoplasia) tipo 1
BRCA1	Carcinoma Ereditario Mammella/Ovaio
BRCA2	Carcinoma Ereditario Mammella/Ovaio

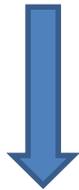
geni di risposta al danno del DNA implicati in tumori ereditari

hMSH2	Carcinoma Colorettale senza poliposi
hMLH1	Carcinoma Colorettale senza poliposi
hPMS1	Carcinoma Colorettale senza poliposi
hPMS2	Carcinoma Colorettale senza poliposi
ATM	Atassia-Teleangiectasia
XPA,C,D,F	Xeroderma Pigmentosum
BLM	Bloom Syndrome

## tumore ereditario

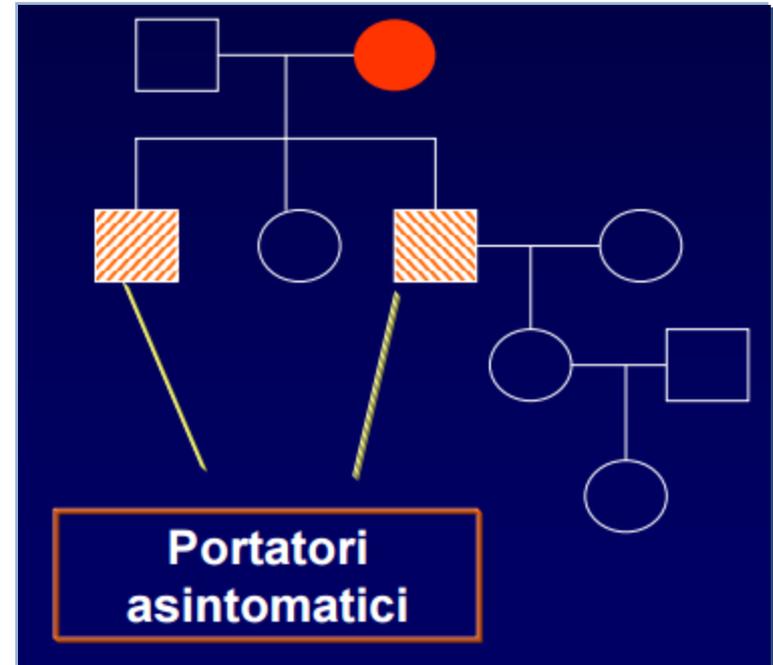
Ciò che viene ereditato non è la malattia, bensì la

**predisposizione**



In assenza di ulteriori mutazioni nella cellula

**no cancro**





## Genetica oncologica

E' nata negli anni '90 per far fronte alle sfide poste dall'applicazione nella pratica medica corrente della scoperta dei geni responsabili di alcune forme non rare di tumori ereditari, quali il tumore ereditario del colon-retto non associato a poliposi (o sindrome di Lynch, 1993-1997) ed il tumore ereditario della mammella e dell'ovaio (1994-1995)

***PREDISPOSIZIONE  
GENETICA A TUMORI***

***72 geni clonati***



***46 condizioni***



## principali geni coinvolti nei tumori ereditari

**BRCA1 e 2**

→ **cancro ereditario della Mammella (e dell'ovaio);**

**MSH2, MLH1,  
MSH6, PMS2**

→ **Sindrome di Lynch o cancro coloretale ereditario;**

**APC, MUTYH**

→ **Poliposi Familiare classica ed attenuata;**

**STK/LKB**

→ **Sindrome di Peutz-Jeghers;**

**p53**

→ **Sindrome di Li-Fraumeni;**

**CDK4, CDKM2A**

→ **Melanoma ereditario; Sindrome nevo displastico**

**Kit**

→ **Tumori stromali gastrointestinali;**

**Ret**

→ **Tumori midollari della tiroide, MEN;**

Chi è a rischio di tumore ?

La chiave è nella storia familiare .....



Indizi .....



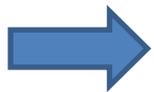
- **Aggregazione familiare di specifici tumori**  
(es. mammella/ovaio; colon/endometrio; ca. midollare della tiroide/feocromocitoma)
- **Insorgenza in età precoce**
- **Neoplasie multiple nello stesso individuo**
- **Segni fenotipici caratteristici (cutanei/viscerali)**





La storia familiare potrebbe essere inaffidabile .....

- molti pazienti non conoscono i dettagli
  - l'organo di origine del tumore è spesso sconosciuto
  - l'età di esordio spesso non è nota

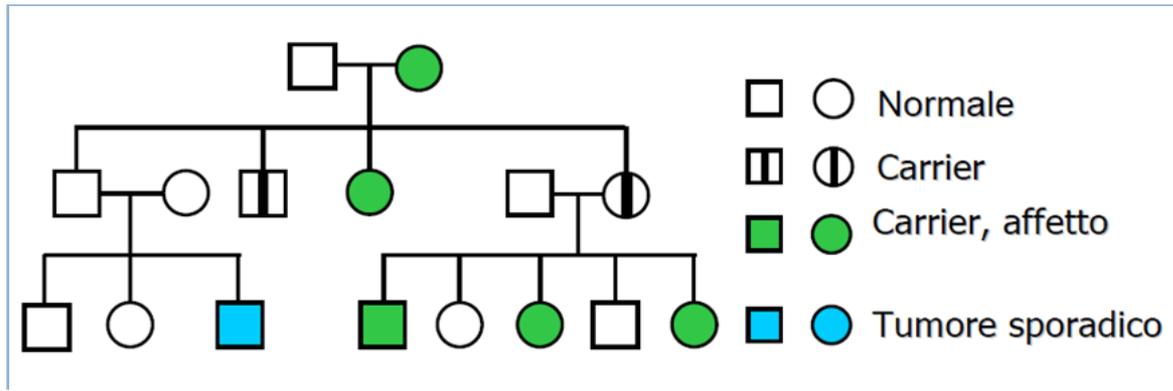


Le informazioni devono essere verificate per poter stabilire il rischio con accuratezza



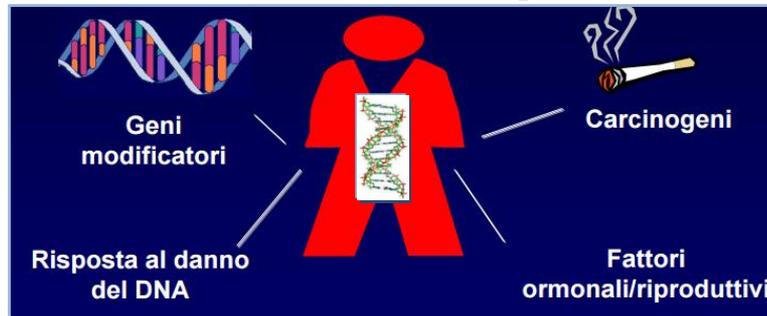


## Trasmissione autosomica dominante (più frequente per i geni oncosoppressori) penetranza incompleta



- penetranza incompleta  
*non tutti i portatori della mutazione svilupperanno la malattia*
- ci può essere un salto di generazione

fattori che influenzano la penetranza





trasmissione autosomica dominante

### **ESPRESSIVITA' variabile**

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

### **ANTICIPAZIONE**

*la malattia tende a manifestarsi più precocemente e in forma più grave con il passare delle generazioni*

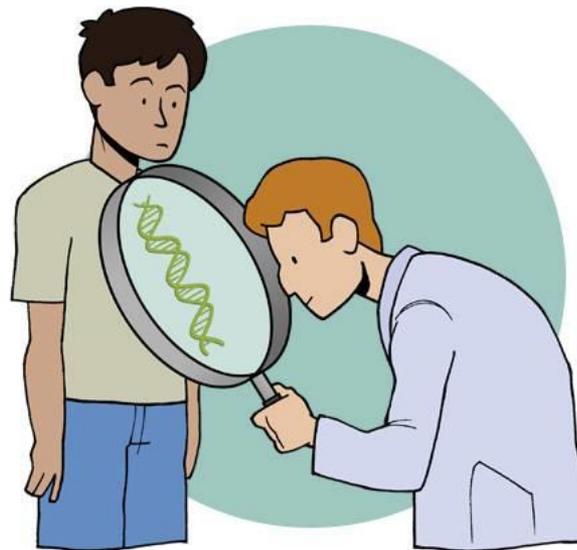
principali Sindromi neoplastiche ereditarie trasmesse con modalità autosomica dominante

Sindrome	Geni responsabili
Carcinoma Ereditario del Colon-Retto non associato a Poliposi (HNPCC)	MLH1, MSH2, MSH6, PMS1, PMS2
Carcinoma Mammella/Ovaio	BRCA1, BRCA2
Poliposi Adenomatosa del Colon (FAP)	APC
Li Fraumeni	P53
Retinoblastoma Familiare	RB1

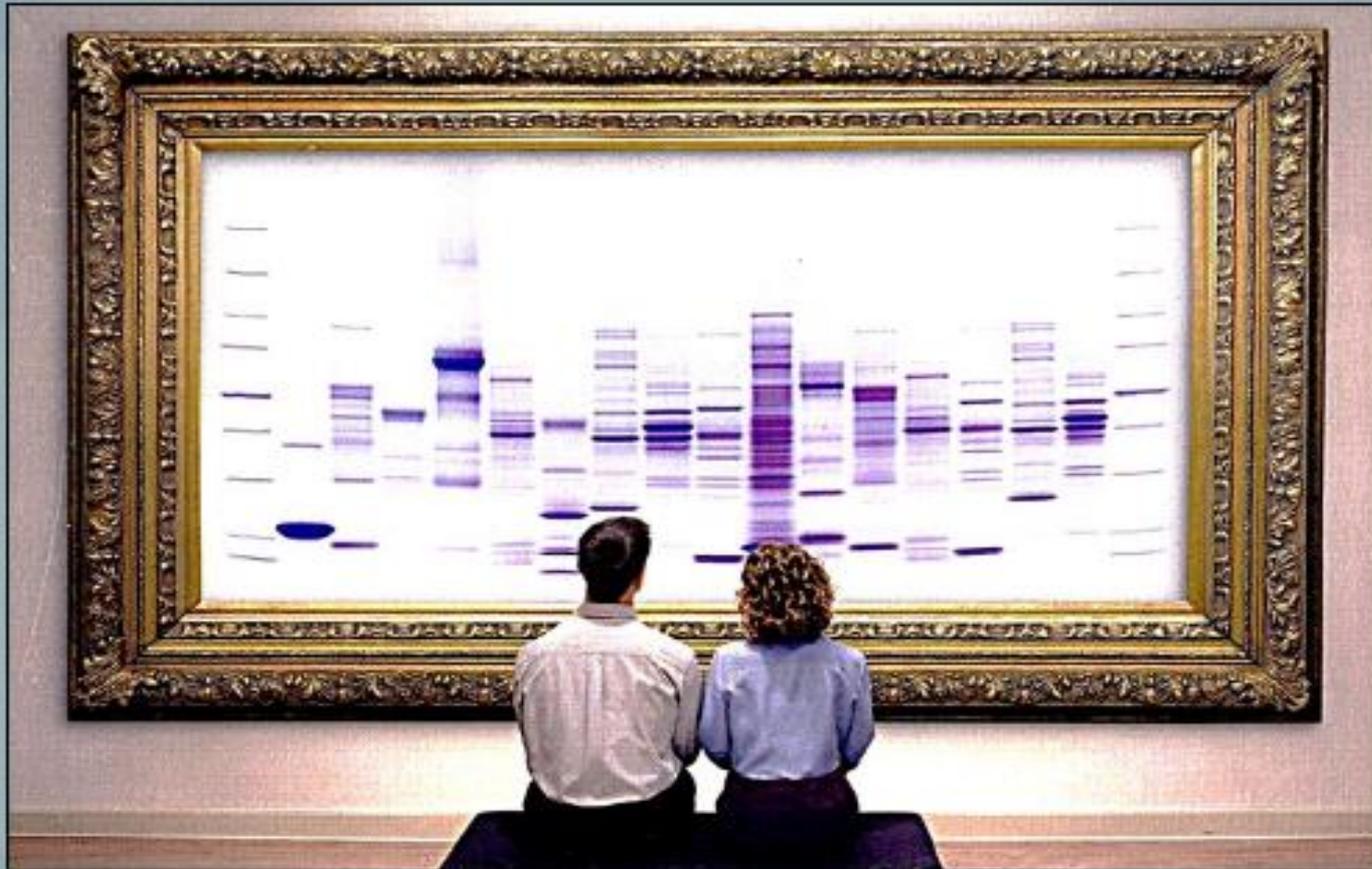


## Genetica oncologica prevenzione

Per alcune forme di tumori ereditari, la disponibilità dei test genetici ha portato alla messa a punto di percorsi di prevenzione primaria e/o diagnosi precoce di provata efficacia, anche se ancora limitata per quanto riguarda i dati di riduzione della mortalità.



## *test genetici*



*“I test genetici sono analisi finalizzate ad individuare la presenza, l’assenza o la mutazione di un particolare cromosoma, di un gene, del prodotto di un gene o di un metabolita, indicative di una specifica modificazione genetica”.*

UK Human Genetic Commission (2009)

## *test genetici*

I test genetici costituiscono il prodotto più importante della ricerca genetica applicata alla medicina e hanno potenziali ricadute

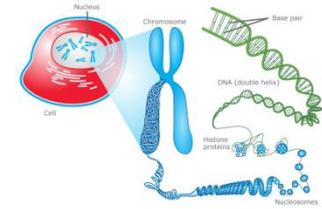
- *sulla diagnosi*
- *e sulla prevenzione*



## test genetici: perché sono diversi dalle consuete analisi di laboratorio?

- I risultati sono **permanenti** per l'individuo sottoposto al test
- Possono essere eseguiti con **finalità diagnostiche** ma anche **predittive** per patologie future
- I risultati possono avere **conseguenze importanti per altri membri familiari**, solitamente figli, ma talvolta fratelli e genitori





## *test genetico*

“Il test genetico deve essere considerato un servizio integrato, nel senso che deve essere sempre preceduto e seguito da una informazione specifica (*consulenza genetica collegata al test genetico*)” svolta dal Medico o Biologo specialisti in Genetica Medica

*Conferenza Stato-Regioni, 15 luglio 2004,  
Linee-Guida per le Attività di Genetica Medica*



## *Consulenza Genetica*

Processo di comunicazione che affronta i problemi umani associati all'insorgenza, o al rischio di insorgenza, di un disordine genetico nella famiglia.

*American Society of Human Genetics, 1975*

## Consulenza Genetica

Processo di comunicazione

*aspettative*  
*storia familiare*  
*dubbi*  
*sentimenti*  
*richieste*



*"educazione"*  
*Probabilità di eredo-*  
*familiarità*  
*rischio individuale*  
*opzioni preventive*



bidirezionale



mettere il paziente in condizione di compiere scelte informate e consapevoli

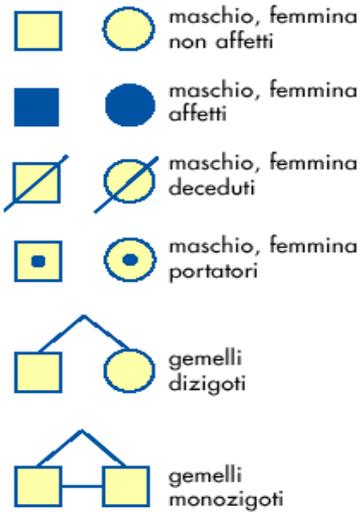


## *Consulenza Genetica* *fasi*

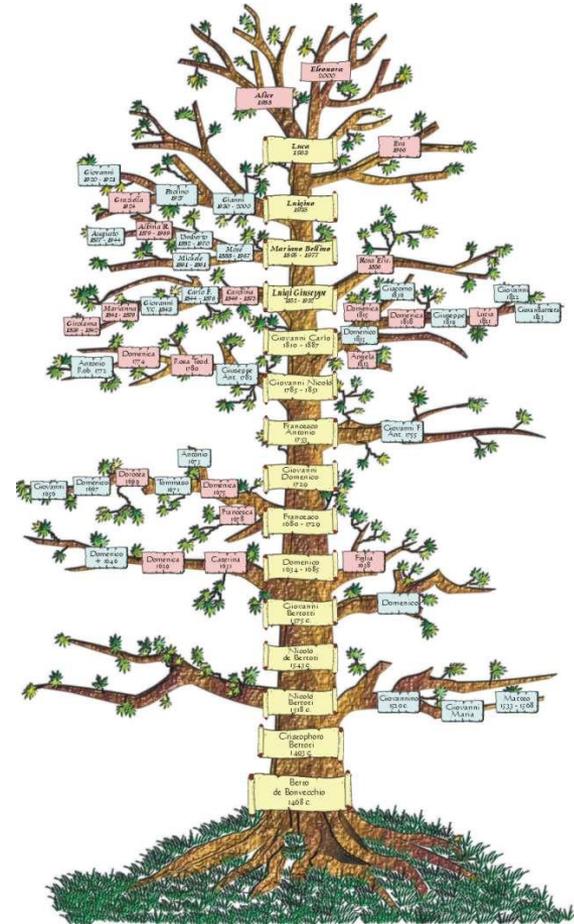
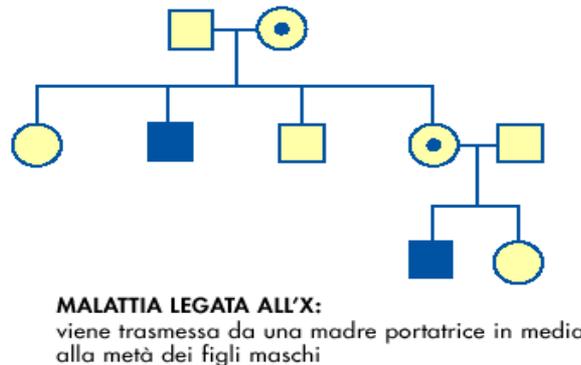
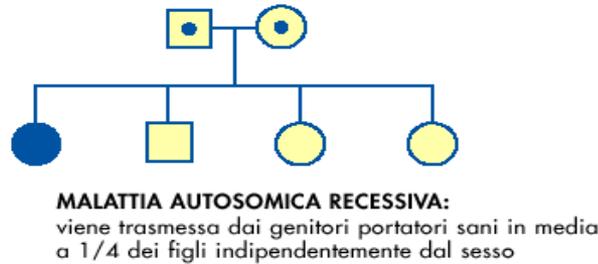
- Raccolta delle informazioni
  - Anamnesi personale e familiare
  - Si annotano informazioni, le più precise possibili, sui diversi componenti della famiglia, compresi i deceduti
  - Cartelle cliniche, altra documentazione sanitaria , foto

# Consulenza Genetica fasi

## • Costruzione dell'albero genealogico



**figura 1.** Disegnare l'albero genealogico di una famiglia è il primo importante passo per raccogliere informazioni sulla sua storia medica e per farsi un'idea approssimativa del rischio di malattia per un particolare individuo di quella stessa famiglia. Per convenzione, nel tratteggiare l'albero familiare, si utilizzano i simboli indicati qui in alto. Di seguito sono illustrati alcuni esempi di alberi genealogici per malattie a trasmissione autosomica dominante, autosomica recessiva e legata all'X, con l'indicazione delle probabilità di trasmissione di un carattere alla progenie.





## Consulenza Genetica consenso

Necessità di rendere esplicito  
l'**ACCORDO** tra il soggetto e il  
consulente in armonia con i principi  
di **SCELTA AUTONOMA**



**CONSENSO  
INFORMATO**



Secondo la legge italiana, richiedono esplicitamente il **consenso informato** i trattamenti terapeutici, chirurgici e diagnostici, compresi i test genetici, e le sperimentazioni cliniche (D.L. 24 giugno 2003, n. 211) e il paziente deve inoltre acconsentire al trattamento dei propri dati personali (D.L. 30 giugno 2003, n. 196). Come indicazione generale, un consenso scritto deve essere redatto in maniera chiara e comprensibile, deve contenere la descrizione dell'intervento medico, la spiegazione dei rischi prevedibili derivanti dall'esecuzione della prestazione prevista, illustrazioni delle tecniche e degli eventuali materiali da utilizzare, la descrizione dei benefici e dei rischi che possono derivare da eventuali e le potenziali complicazioni.

# *CONSULENZA GENETICA ONCOLOGICA*

## *OBIETTIVI*

- ❖ Valutare il rischio individuale di tumore sulla base delle attuali conoscenze, inclusi i test genetici ove disponibili
- ❖ Programmare le eventuali misure di sorveglianza clinico-strumentali
- ❖ 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, e ad integrare nel modo migliore queste informazioni nel proprio vissuto personale/familiare e nel proprio progetto di vita

## *Perché viene richiesta la consulenza genetica oncologica?*

- Persone sane richiedono la consulenza perché, sulla base della loro storia familiare, percepiscono il rischio di sviluppare e/o trasmettere la malattia ai discendenti.
- A seconda delle condizioni cliniche i benefici percepiti dall'individuo di effettuare una consulenza ed un eventuale test genetico sono:
  - ✓ *Medici:*
    - Trattamento precoce
    - Misure preventive
    - Se NON a rischio: interruzione delle misure di prevenzione
  - ✓ *Personali:*
    - certezza di essere/non essere portatori
    - Pianificare le scelte di vita
  - ✓ *Per il beneficio che ne può derivare ad altri membri della famiglia*

cosa si può fare?



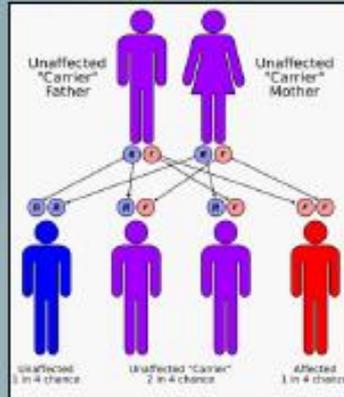


# test genetici

## Test genetici tradizionali



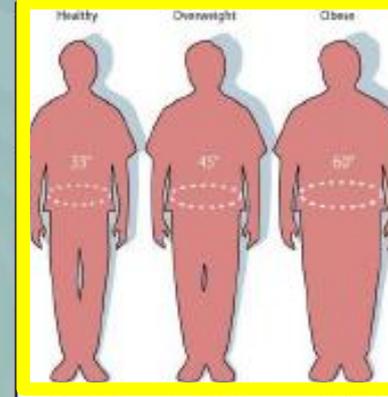
diagnostici



portatori sani



presintomatici



predittivi

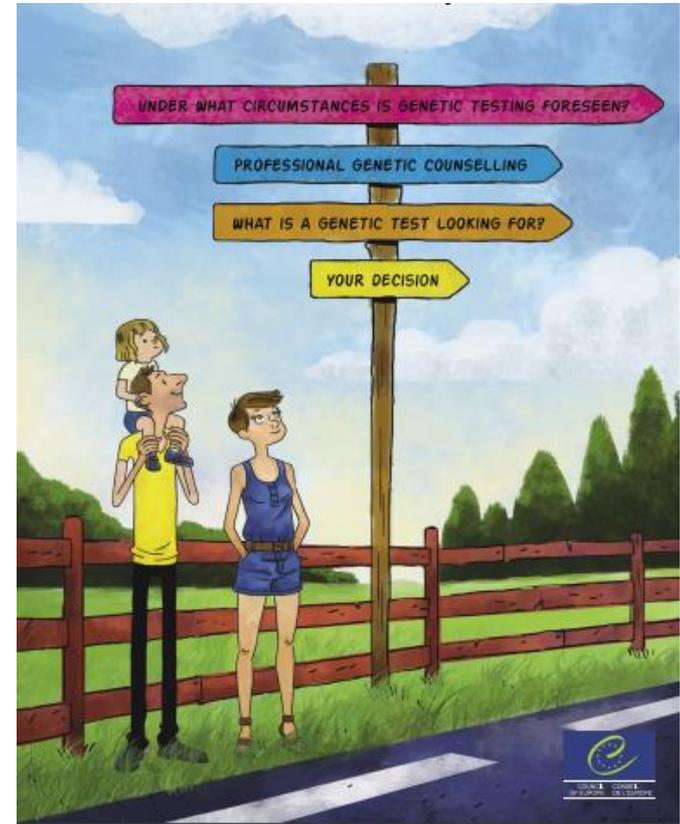


di farmacogenetica

## 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 del test può solo predire un rischio aumentato o diminuito di contrarre una malattia, rispetto alla popolazione generale.



## test genetici, benefici e rischi

- ✓ formulazione o conferma della diagnosi clinica
- ✓ disponibilità di informazioni prognostiche
- ✓ prevenzione di possibili complicanze (MEDICINA PREDITTIVA)
- ✓ potenziale beneficio terapeutico, TRATTAMENTO PERSONALIZZATO
- ✓ riduzione di indagini inutili

- ✓ conoscenza di condizioni prive di alcun approccio terapeutico
- ✓ difficoltà interpretative del dato, confusione tra rischio e certezza, tra mutazione e malattia
- ✓ quali risultati comunicare? A chi?
- ✓ nuove problematiche etiche (i risultati ottenuti rappresentano una condizione permanente dell'individuo e possono influenzarne le scelte riproduttive e avere importanti ricadute sul soggetto in esame e su altri membri della famiglia)

## test genetici di suscettibilità

### Raccomandazioni dell'European Society of Human Genetics

- ▶ Diritto ad essere informati
- ▶ Qualità dei test effettuati
- ▶ Utilità clinica dei test
- ▶ Necessità di supervisione da parte del medico
- ▶ Informazioni e consulenza genetica prima e dopo il test-test
- ▶ Follow-up e supporto nell'interpretazione dei risultati e nel loro impatto psicologico
- ▶ Protezione delle persone incapaci di esprimere il consenso
- ▶ Rispetto della *privacy* e della riservatezza
- ▶ Conservazione dei campioni e loro proprietà
- ▶ Rispetto dei principi etici



European Journal of Human Genetics (2010), 18, 1–3  
© 2010 Humana Publishers Limited. All rights reserved. 12114-482350  
www.nature.com/ejhg

**POLICY**

**Statement of the ESHG on direct-to-consumer genetic testing for health-related purposes**

European Society of Human Genetics\*



## RISULTATO DEL TEST GENETICO

Informativo

Non informativo

TRUE POSITIVE:

TRUE NEGATIVE:

IDENTIFICAZIONE  
DI UNCLASSIFIED  
VARIANT:

NESSUNA  
MUTAZIONE  
IDENTIFICATA



### 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

### Risultato del test positivo

la presenza della mutazione porta ad un rischio aumentato di sviluppo della malattia

### Risultato del test chiaramente negativo

assenza di mutazione in un gene conosciuto precedentemente identificato nella famiglia

### Variante di significato sconosciuto

è stata individuata una variazione nella struttura del gene ma ancora non è stato accertato se è associata alla malattia o si tratta di una variante innocua (polimorfismo)

## test genetici di suscettibilità

I Laboratori che effettuano test genetici per tumori ereditari devono fornire **garanzie di qualità** e nel referto il Laboratorio deve essere **indicata in modo comprensibile l'interpretazione del test genetico**

## L'esempio del "Carcinoma della Mammella e dell'Ovaio

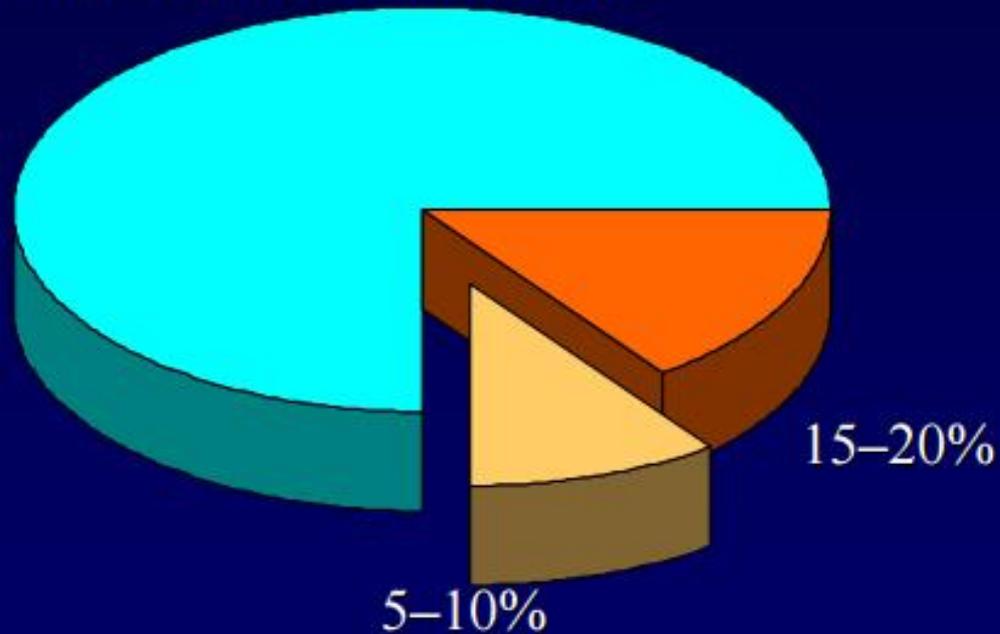
*Il tumore mammario è frequente ....*

In Italia, 1 donna su 10 si ammalerà di tumore alla mammella nel corso della vita.

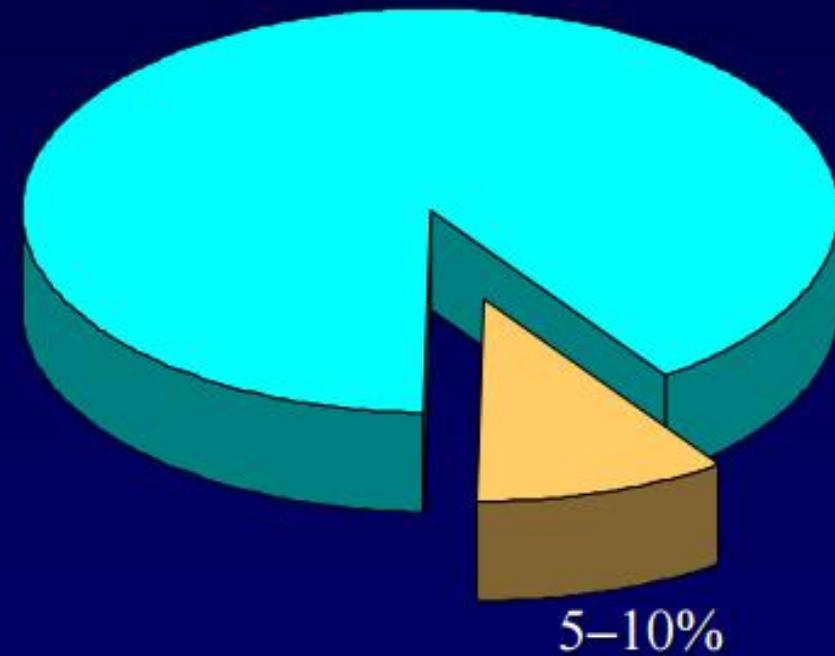


In che proporzione i tumori della mammella e dell'ovaio sono ereditari?

Carcinoma mammario



Carcinoma ovarico



■ Sporadico

■ Raggruppamenti familiari

■ Ereditari

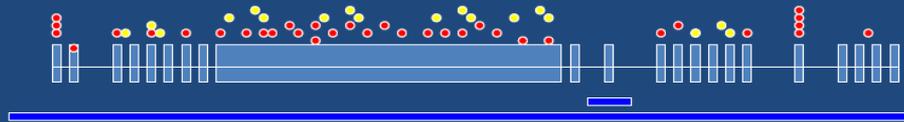
Carcinoma Mammario Ereditario  
geni coinvolti

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

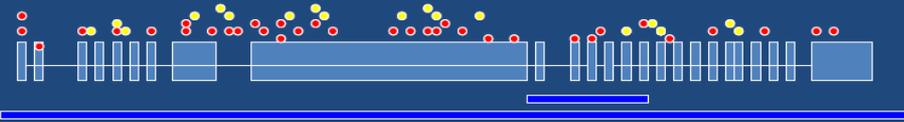
Carcinoma Ovarico Ereditario  
geni coinvolti

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

# BRCA1



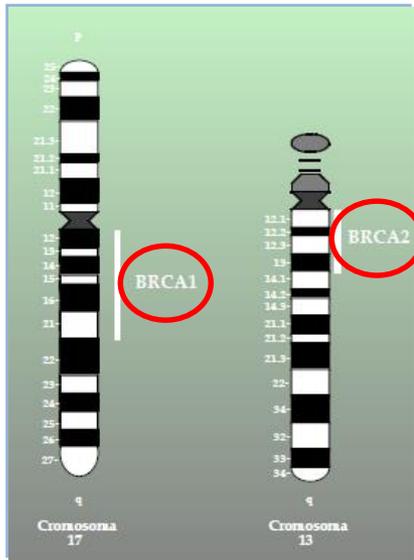
# BRCA2



- Mutazioni troncanti
- Mutazioni missense
- Delezioni/Riarrangiamenti

## BRCA1 e BRCA2

● varianti di incerto significato biologico



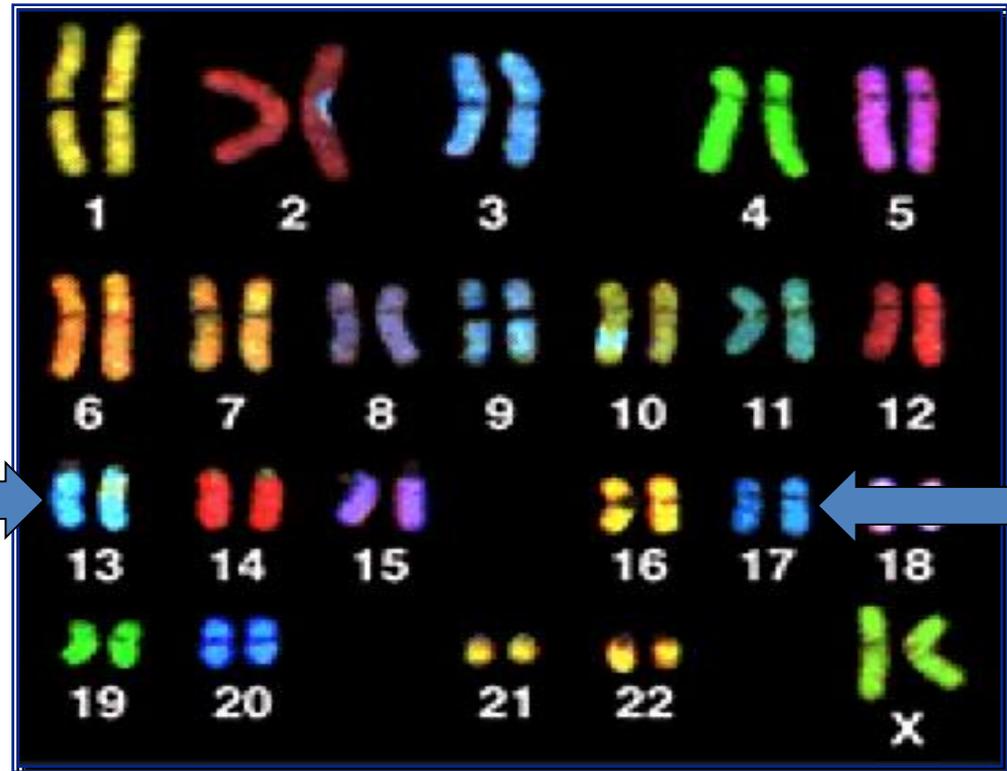
17q21

13q12

BRCA2



BRCA1



## BRCA1 / BRCA2

Sono state identificate più di 1660 varianti  
patogene in BRCA1 e più di 1800 in BRCA2  
*Breast Cancer Information Core –<http://research.nhgri.nih.gov/bic/>*

- Solo un piccolo numero di queste varianti sono state identificate ripetutamente in famiglie indipendenti; la maggior parte di esse sono state riportate in un numero ridotto di famiglie.
- Sebbene alcuni studi abbiano suggerito rischi differenti di cancro associati a differenti mutazioni in BRCA1, nessun dato definitivo è disponibile.
- Circa il 2,9% degli individui sottoposti al test molecolare per BRCA1 e BRCA2 avrà una variante di significato clinico incerto.



## BRCA1 e BRCA2

### 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*



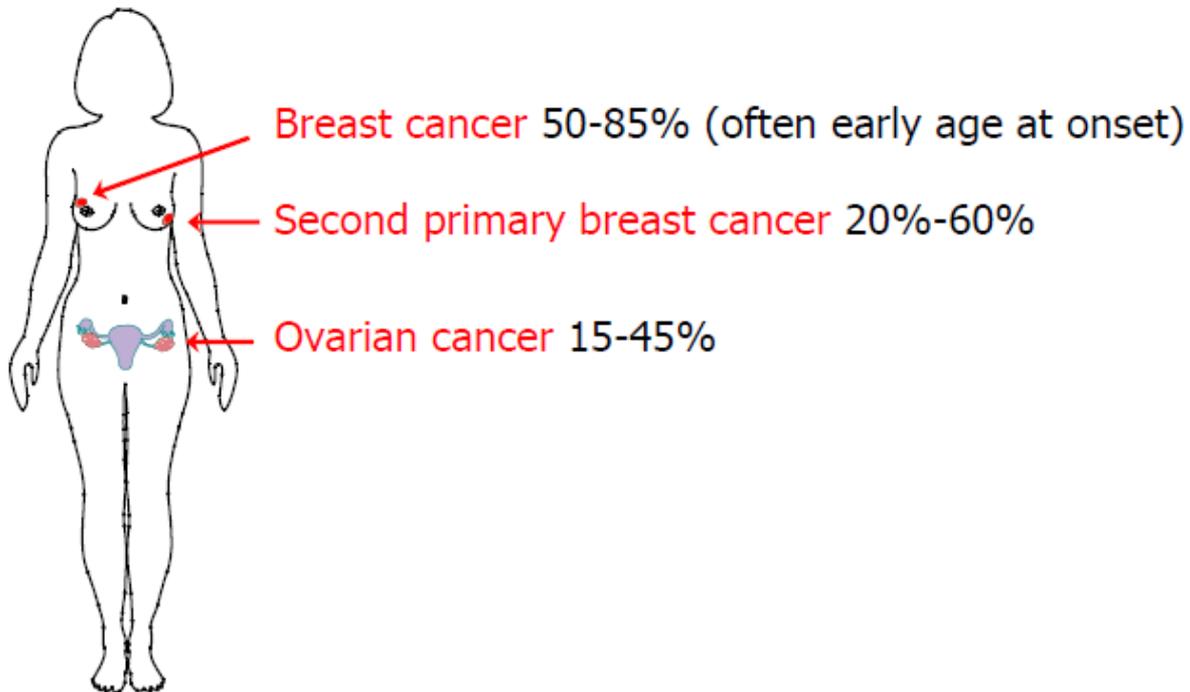
### **IMPORTANTE**

le persone che ereditano la mutazione germinale non ereditano il tumore, ma solamente la predisposizione a sviluppare più facilmente la neoplasia rispetto alla popolazione generale.

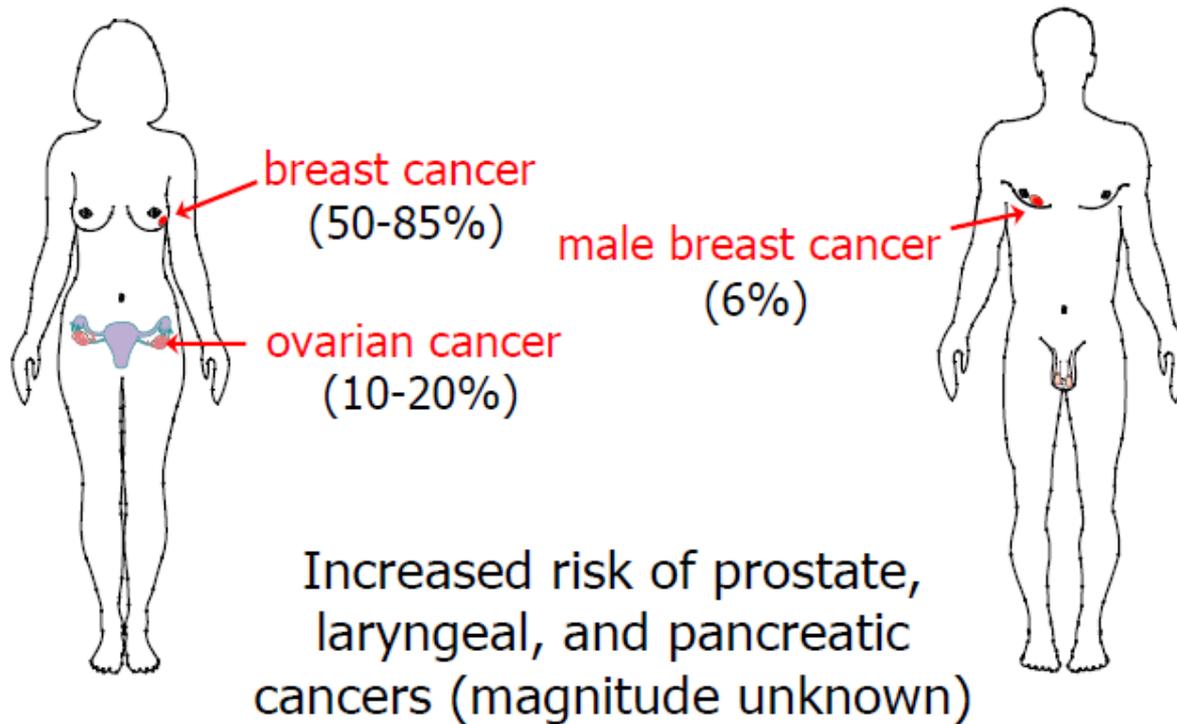
Il fatto che la malattia si sviluppi oppure no è infatti condizionato, il più delle volte, da altri fattori sia ereditari che esterni.



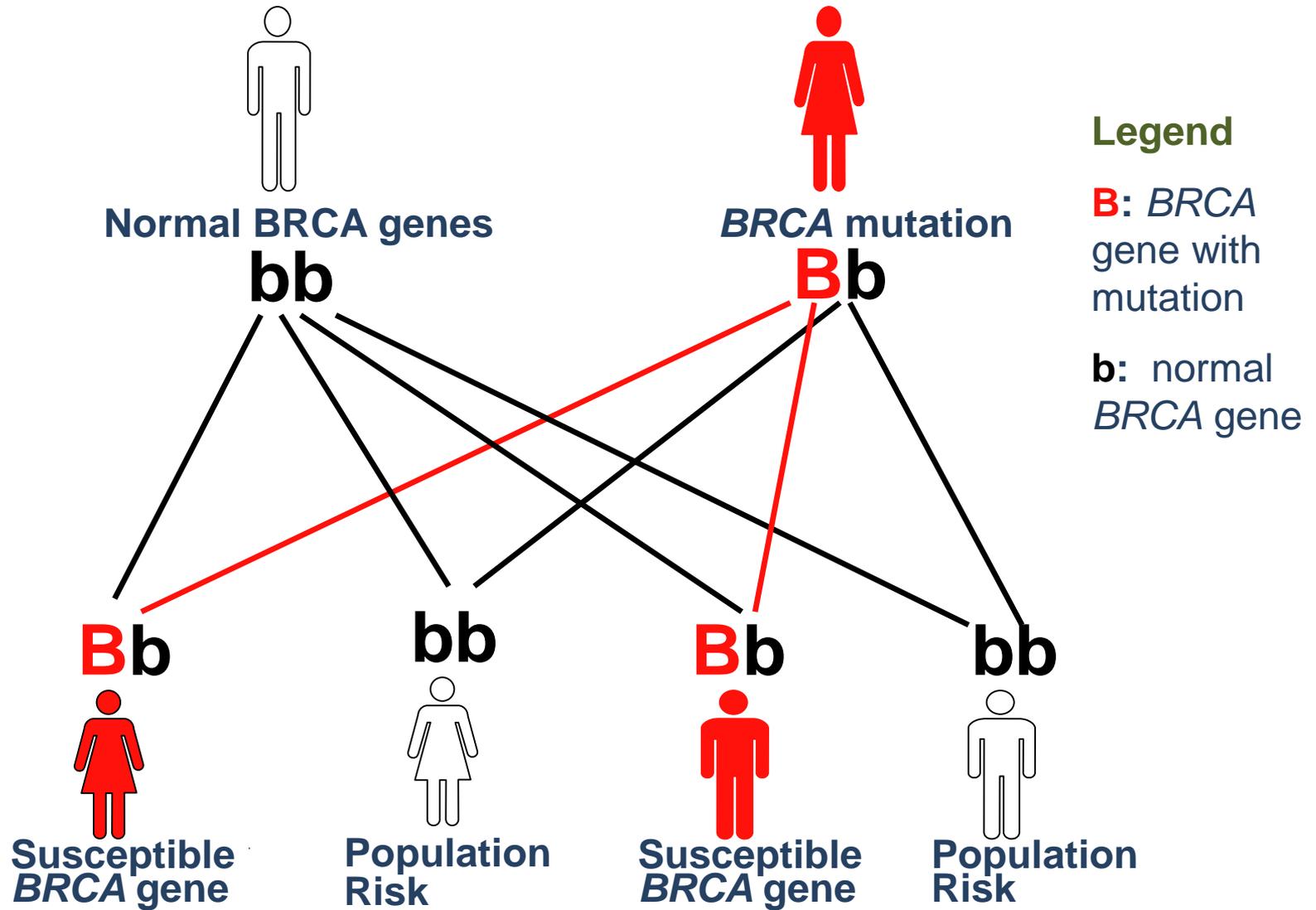
# *BRCA1-Associated Cancers: Risk by age 70*



# *BRCA2-Associated Cancers: Risk by age 70*



# Autosomal Dominant Inheritance



## caratteristiche del CM/CO ereditario

### Nella stessa famiglia

- ❑ Casi multipli di CM/CO
- ❑ Diagnosi sia di CM che di CO



### Nello stesso individuo

- ❑ Giovane età alla diagnosi
- ❑ CM e CO
- ❑ CM maschile





**QUALI SONO I FATTORI CHE MODIFICANO LA PENETRANZA DELLE MUTAZIONI DEI GENI BRCA E/O NE FANNO VARIARE L'ESPRESSIVITA' CIOE' 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**

- Esposizione ad asbesto e talco
- Abuso di alcool, fumo, radiazioni
- Obesità
- Dieta ricca di grassi



**ALTRI FATTORI GENETICI**

## rischio associato con mutazioni BRCA1/2

Cancer Type	General Population Risk	Mutation Risk	
		<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>
Breast	12%	50%-80%	40%-70%
Second primary breast	3.5% within 5 years Up to 11%	27% within 5 yrs	12% within 5 yrs 40%-50% at 20 yrs
<b>Ovarian</b>	<b>1%-2%</b>	<b>24%-40%</b>	<b>11%-18%</b>
Male breast	0.1%	1%-2%	5%-10%
Prostate	15% (N. European origin) 18% (African Americans)	<30%	<39%
Pancreatic	0.50%	1%-3%	2%-7%

GeneReview®  
University of Washington, Seattle-  
September 26, 2013

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

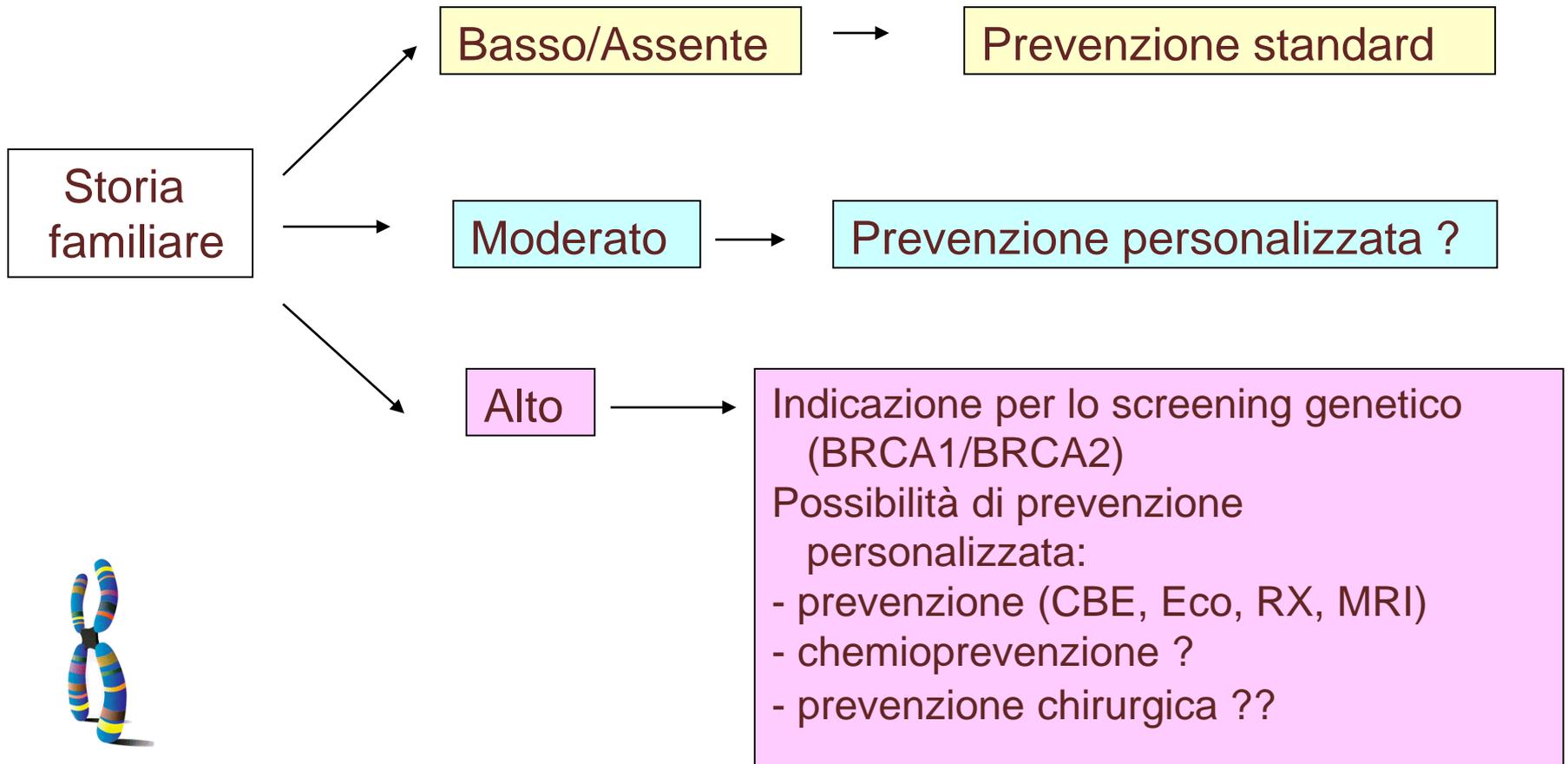
Vari modelli sono stati sviluppati per stimare la probabilità che un individuo o una famiglia abbia una mutazione germinale in BRCA1 o BRCA2

- \* **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.

Euhus D, Berry D, Parmigiani G, Iverson E, 1998; Frank TS, Manley SA, Olopade OI, et al, 1997, 1998. Antoniou AC, Hardy R, Walker L, Evans DG, Shenton A, Eeles R, Shanley S, Pichert G, Izatt L, Rose S, Douglas F, Eccles D, Morrison PJ, Scott J, Zimmern RL, Easton DF, Pharoah PD. J Med Genet. 2008 Jul;45(7):425-31. Epub 2008 Apr 15.



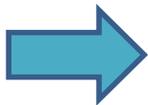
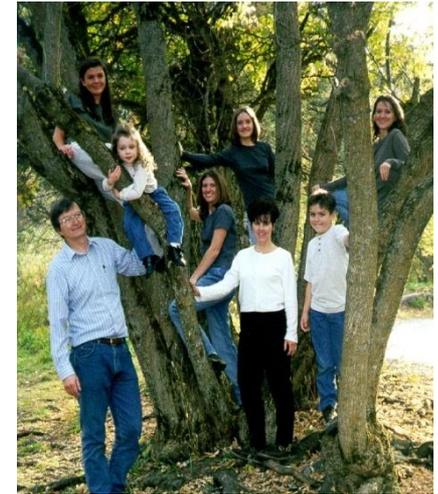
## dalla stratificazione del rischio alle misure d'intervento



## CM/CO: screening genetico a tutte le donne ?

### la consulenza genetica e il test genetico sono indicati

- Nel caso di ricorrenza di tumori nello stesso nucleo familiare
- Nel caso di ricorrenza di tumori diversi nello stesso soggetto
- Nel caso di insorgenza di tumori in soggetti giovani, terza/quarta decade
- Un membro della famiglia al quale è stata identificata una mutazione in BRCA1 o BRCA2



❖ USPSTF (U.S. Preventive Service Task Force) suggerisce di indirizzare alla consulenza genetica e alla valutazione delle mutazioni BRCA solo le donne con una storia familiare che indica un rischio aumentato per tali mutazioni (2005)

❖ AIOM-SIGU 2013



## L'esempio del "Cancro Coloretale Ereditario Non Poliposico" (HNPCC)

La sindrome di Lynch (LS) è una malattia ereditaria a trasmissione autosomica dominante, che determina la predisposizione a sviluppare un cancro del colon retto (CRC) (Lynch Syndrome I) e/o in altre sedi (Lynch Syndrome II) con un'incidenza stimata del 2.8%-3.6% dei CRC ed una prevalenza di 1:500, 1:1000

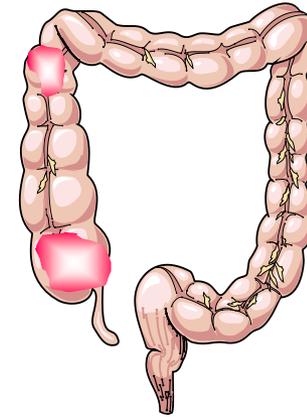
Boland CR, Shike M. Report from the Jerusalem Workshop on Lynch syndrome-hereditary non polyposis colorectal cancer. *Gastroenterology* 2010;138:2197.e1-2197.e7.



# Il cancro colorettole ereditario non poliposico (HNPCC) o sindrome di Lynch

Aumento del rischio di tumore in altre sedi:

Cancer	General Population Risk	HNPCC Risk
Colon	7 %	70-80%
Endometrium	2.3%	20-60%
Stomach	<1%	13-19%
Ovary	1.5%	9-12%
Hepatobiliary tract	<1%	2-7%
Urinary tract	<1%	4-5%
Small Bowel	<1%	1-2%
Brain / CNS	<1%	1-4%



from: <http://www.genetest.org>

## Il cancro colorettales ereditario non poliposico (HNPCC)

Nel corso degli anni 90 è stata chiarita la patogenesi della sindrome, causata da una mutazione a carico dei geni *mismatch repair* (MMR) che sono principalmente MLH1 ed MSH2, meno frequentemente MSH6, più raramente PMS2.

### Geni responsabili:

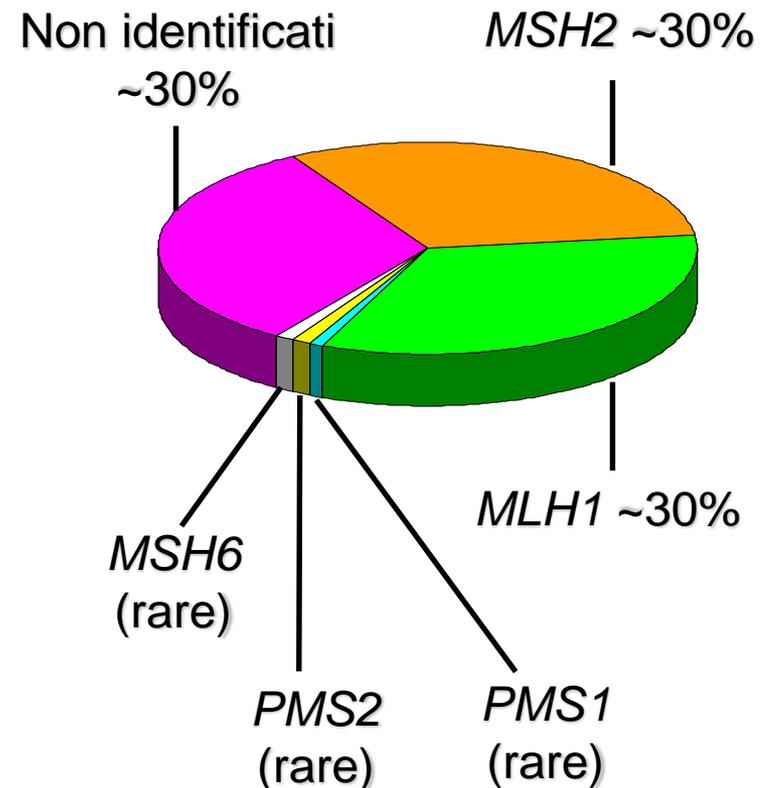
**MSH2** sul cromosoma 2p16

**MLH1** sul cromosoma 3p21

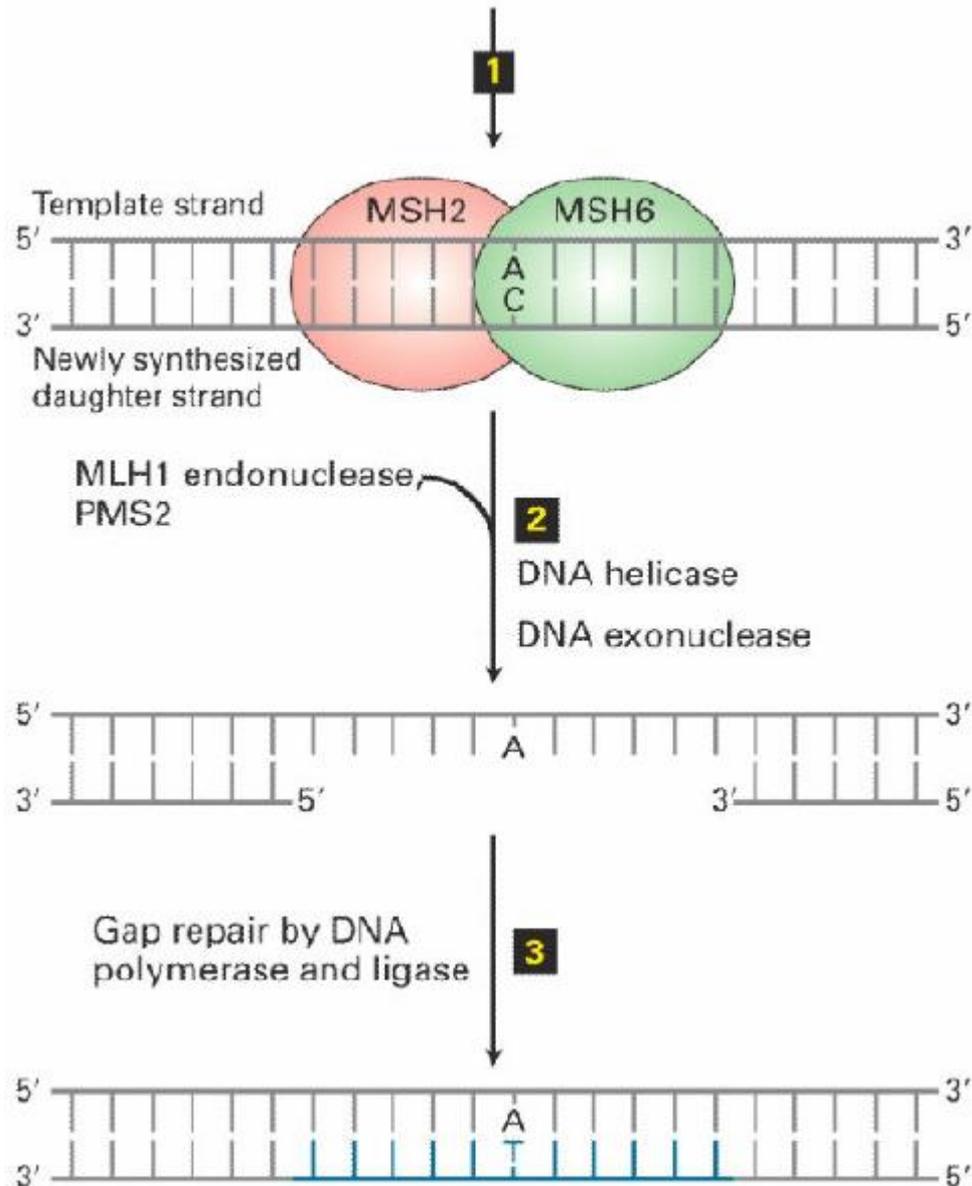
**MSH6** sul cromosoma 2p16

**PMS1** sul cromosoma 2q32

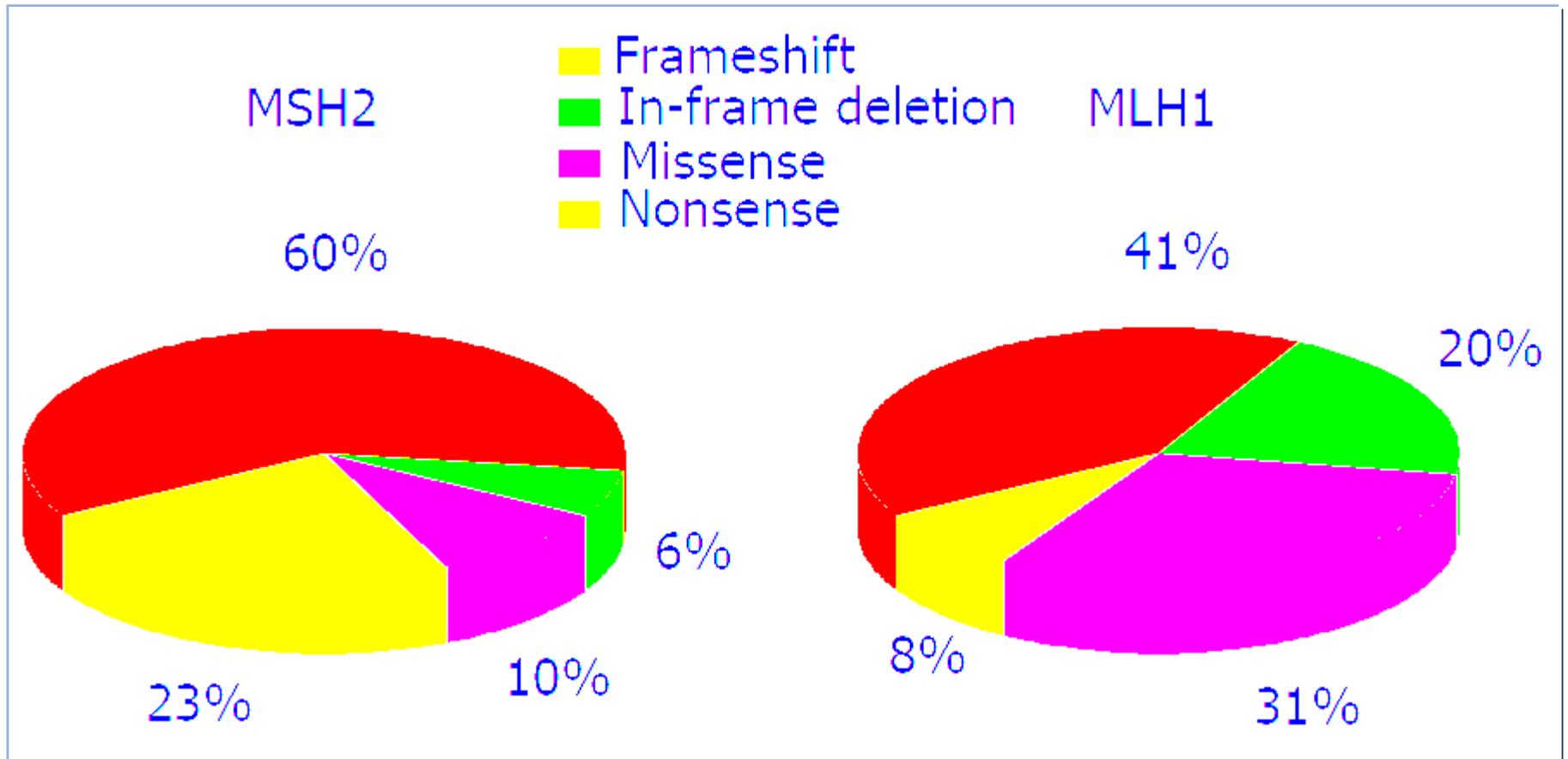
**PMS2** sul cromosoma 7q22



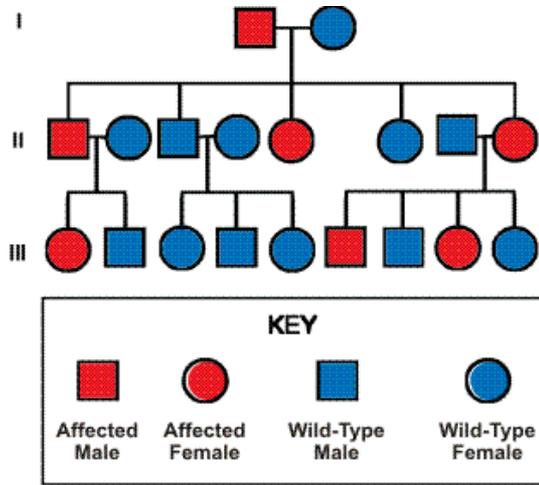
# I geni del mismatch repair (MMR)



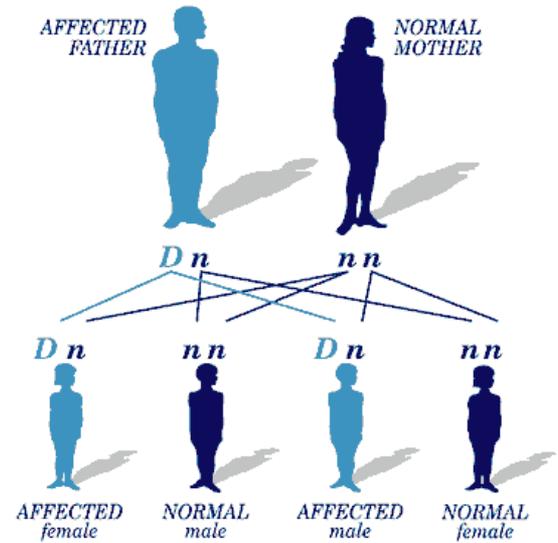
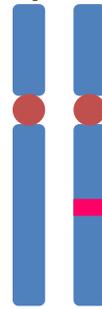
## Tipi di mutazioni in MLH1 e MSH2



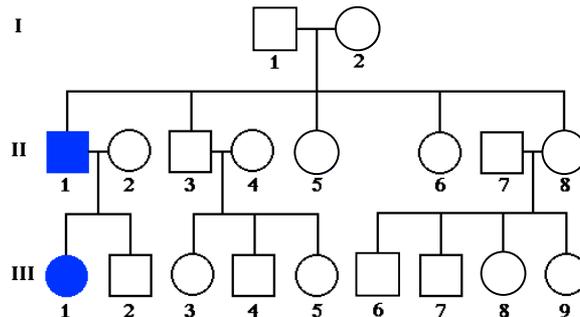
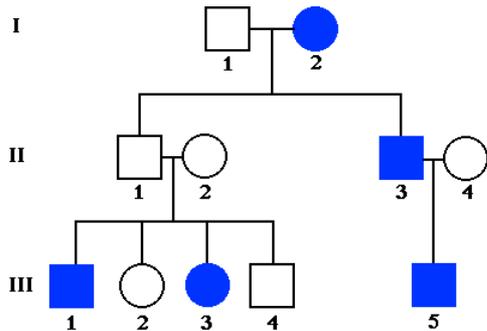
# HNPCC si trasmette con una modalità di tipo autosomico dominante



Ogni soggetto affetto è eterozigote per la mutazione

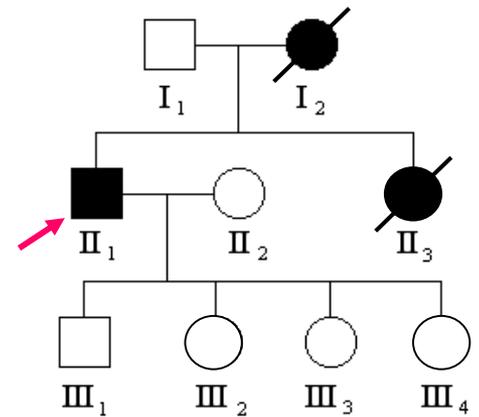


Ogni soggetto generato da un affetto ha un rischio del 50% di aver ereditato la mutazione



## Test genetico per HNPCC

- Oggi disponibile
- Si analizzano i geni MLH1 e MSH2
- Il primo soggetto di un nucleo familiare ad essere studiato deve aver già sofferto della malattia
- Il risultato del test può non essere informativo
- Perché il test possa essere proposto bisogna che dei “*criteri*” debbano essere soddisfatti



# Criteria per la proposta di test genetico

## HNPCC

- Criteri di Amsterdam

- Criteri di Bethesda

tab. 2: criteri di Bethesda modificati (2004) (6)

1. Soggetto affetto da CRC di età < 50 anni
2. Presenza di CRC o altri tumori associati alla LS (endometrio, stomaco, ovaio, pancreas, uretere, pelvi renale, vie biliari, cervello, piccolo intestino, adenomi ghiandole sebacee, cheratoacantomi), sincroni e/o metacroni, indipendentemente dall'età
3. CRC con fenotipo MSI-H diagnosticato in soggetto di età < 60 anni
4. Paziente con CRC ed un parente di I grado con tumori associati alla LS, con uno dei cancri diagnosticati in età < 50 anni
5. Paziente con CRC con due o più parenti di I grado con tumori associati alla LS, indipendentemente dall'età

tab. 1: criteri di Amsterdam II (1999) (6)

Almeno 3 familiari con CRC o cancri nello spettro della LS (endometrio, piccolo intestino, uretere, pelvi renale)

Ciascun familiare deve essere di I grado rispetto agli altri due

Almeno due generazioni successive devono essere affette

Almeno un tumore deve essere diagnosticato prima dei 50 anni

Se presenti CRC la FAP deve essere esclusa

# HNPCC

tab. 3: rischio di cancro fino all'età di 70 anni nei soggetti con HNPCC confrontati con la popolazione generale\*

Cancro	Rischio popolazione generale	HNPCC (LS)	
		Rischio	Età media diagnosi
Colon	5.9%	80%	44 anni
Endometrio	2.7%	20-60%	46 anni
Stomaco	< 1%	11-19%	56 anni
Ovaio	1.6%	9-12%	42.5 anni
Fegato e vie biliari	< 1%	2-7%	Non riportato
Vie urinarie	< 1%	4-5%	55 anni
Piccolo intestino	< 1%	1-4%	49 anni
Cervello	< 1%	1-3%	50 anni

\* da Kohimann W, Gruber SB. HNPCC. In GeneReviews. [www.genetests.org](http://www.genetests.org)

# Profilassi nei portatori di mutazione

## *HNPCC*

### Colon & rectum

- colonoscopy age 20-25, repeat 1-2 yrs

### Endometrium and ovaries

- gyn exam, endovaginal and pelvis U/S, CA-125 age 25-35, repeat 1-2 yrs

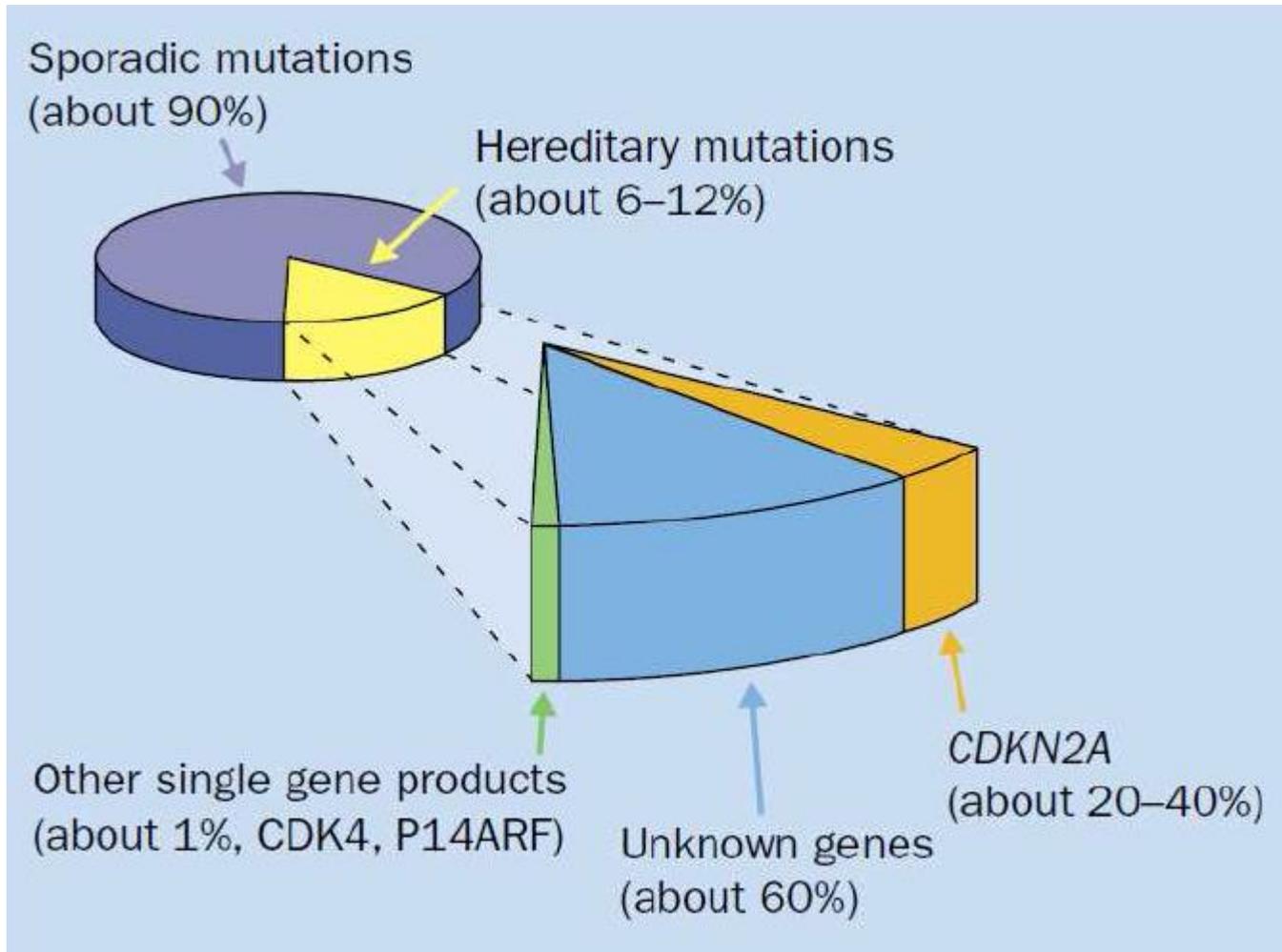
### Stomach

- EGD age 3-35, repeat 1-2 yrs

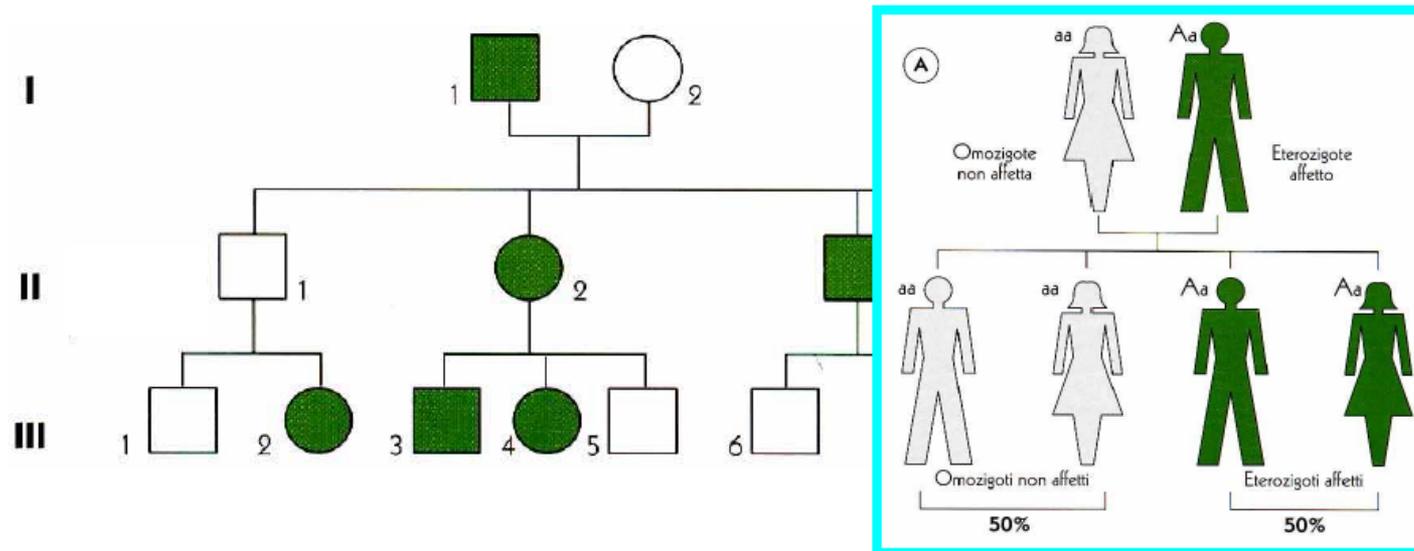
### Urinary tract

- U/S and urine cytology age 30-35, repeat 1-2 yrs

## L'esempio del "Melanoma Cutaneo Ereditario"



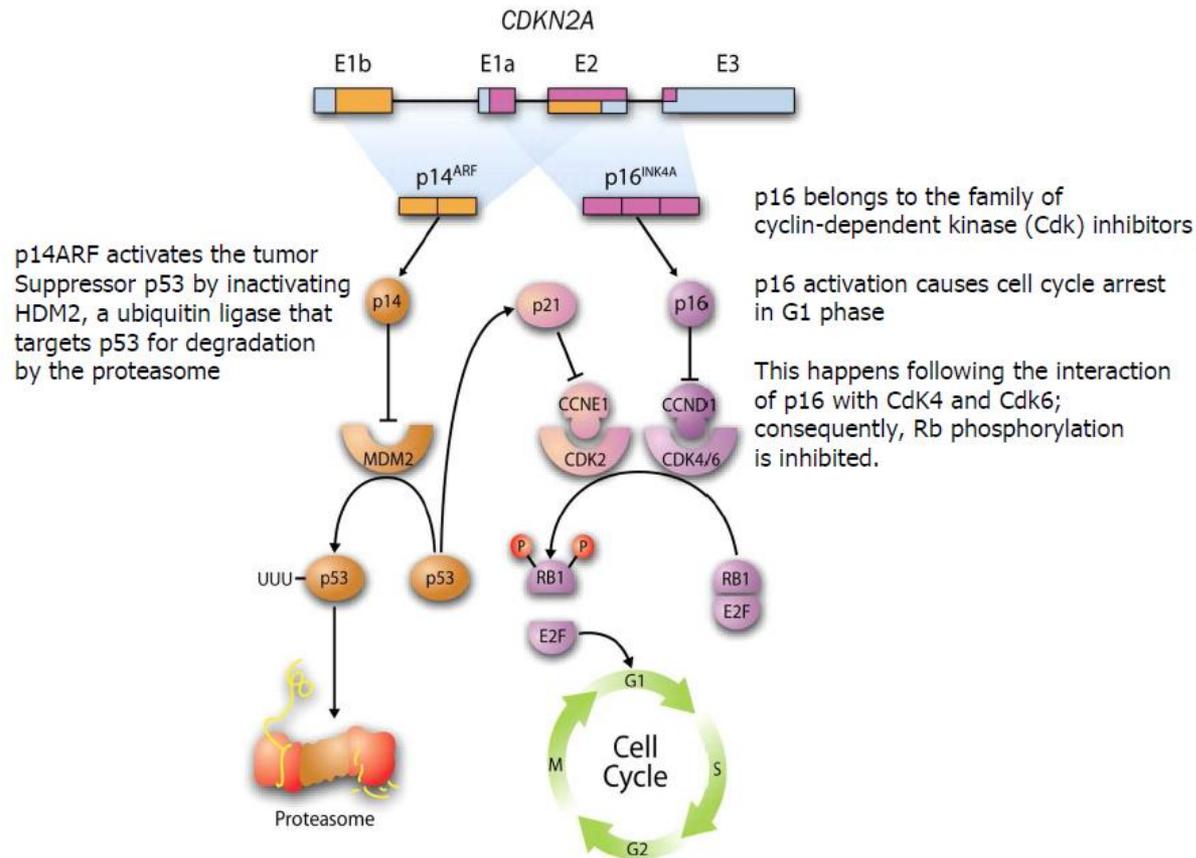
# Melanoma



In una parte degli alberi genealogici di melanoma familiare, il pattern di segregazione è suggestivo di una **trasmissione autosomica dominante** con **penetranza incompleta** e **espressività variabile**.

# ***CDKN2A*** **(Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A)** **9p21**

- Clonato nel 1994; originariamente denominato **MTS1** (Multiple Tumor Suppressor -1)



# Melanoma

## ORIGINAL ARTICLE

Features associated with germline *CDKN2A* mutations: a GenoMEL study of melanoma-prone families from three continents

*J Med Genet* 2007;44:99–106.

385 famiglie con  $\geq 3$  casi di melanoma  
(Nord America, Europa, Australia)

Frequenza di mutazioni di *CDKN2A*: 39%

20% in Australia

45% in Nord America

57% in Europa



# Melanoma

## ORIGINAL ARTICLE

### Clinical genetic testing for familial melanoma in Italy: A cooperative study

William Bruno, MD, PhD,<sup>a\*</sup> Paola Ghorzo, PhD,<sup>a\*</sup> Linda Battistuzzi, MS,<sup>a\*</sup> Paolo A. Ascierto, MD,<sup>b</sup> Monica Barile, MD,<sup>c</sup> Sara Gargiulo, PhD,<sup>a</sup> Francesca Gensini, MD,<sup>d</sup> Sara Gliori, MD,<sup>a</sup> Michele Guida, MD,<sup>c</sup> Maurizio Lombardo, MD,<sup>f</sup> Siranoush Manoukian, MD,<sup>g</sup> Chiara Menin, PhD,<sup>h</sup> Sabina Nasti, PhD,<sup>a</sup> Paola Origone, PhD,<sup>a</sup> Barbara Pasini, MD,<sup>l</sup> Lorenza Pastorino, PhD,<sup>a</sup> Bernard Peissel, MD,<sup>g</sup> Maria Antonietta Pizzichetta, MD,<sup>l</sup> Paola Queirolo, MD,<sup>k</sup> Monica Rodolfo, PhD,<sup>g</sup> Antonella Romanini, MD,<sup>l</sup> Maria Chiara Scaini, PhD,<sup>m</sup> Alessandro Testori, MD,<sup>n</sup> Maria Grazia Tibiletti, MD,<sup>o</sup> Daniela Turchetti, MD,<sup>p</sup> Sancy A. Leachman, MD,<sup>q</sup> and Giovanna Bianchi Scarrà, PhD,<sup>a</sup> on behalf of IMI, the Italian Melanoma Intergroup  
*Genoa, Naples, Milan, Florence, Bari, Varese, Padua, Turin, Aviano, Pisa, and Bologna, Italy;  
and Salt Lake City, Utah* J Am Acad Dermatol 2009 in press

204 famiglie con ≥ 2 soggetti affetti di 9 centri Italiani

Frequenza di mutazioni in *CDKN2A*: 33%

Nelle 145 famiglie con 2 soggetti affetti: 25%

25% > 10% soglia di probabilità stabilita dall'American Society

Of Clinical Oncology per l'accesso ai test genetici per predisposizione oncologica

# Melanoma



The Human Gene Mutation Database at the Institute of Medical Genetics in Cardiff  
 Copyright © 2009 Cardiff University. All rights reserved.

[Search help](#)
[Statistics](#)
[New genes](#)
[What's new](#)
[Background](#)
[Publications](#)
[Contact us](#)
[Register](#)
[Log in](#)

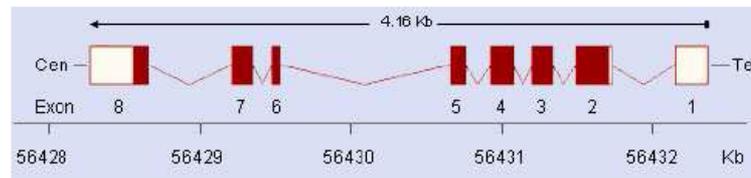
[HGMD Professional](#) includes 1. Up-to-date mutation data; 2. Fulltext indexing; 3. Advanced search facility; 4. Downl

Gene Symbol	Chromosomal location	Gene name	cDNA sequence	Extended cDNA
CDKN2A	9p21	Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A (p16)	<input type="button" value="Get cDNA"/>	 Feature available to subscribers

Mutation type	Number of mutations	M
Missense/nonsense	89	
Splicing	11	
Regulatory	3	
Small deletions	12	
Small insertions	8	
Small indels	2	
Gross deletions	6	
Gross insertions	2	
Complex rearrangements	0	
Repeat variations	0	
<b>Public total</b> ( <a href="#">HGMD Professional 2009.2 total</a> )	<b>133</b> (160)	

Altri geni.....

## ***CDK4* (cyclin-dependent protein kinase 4)**



- cromosoma 12q14
- nel 2% delle famiglie nel GenoMEL (Goldstein 2006)
- < di 15 famiglie descritte nel mondo
- mutazioni più frequenti: Arg24His, Arg24Cys

## Indicazioni per l'invio alla consulenza genetica oncologica per melanoma familiare

Storia personale o familiare di:

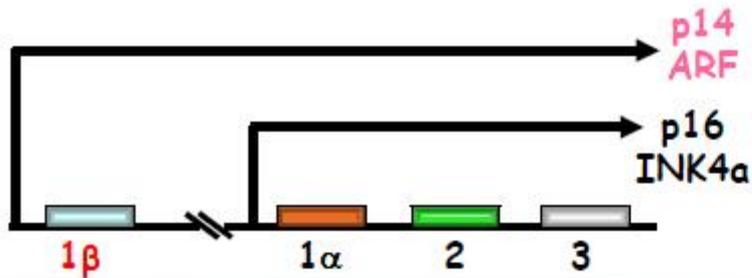
- Mutazione nota in un gene predisponente
- Due o più casi di melanoma nello stesso ramo della famiglia
- Presenza di melanoma multiplo
- Sindrome del nevo displastico (o nevo atipico) e melanoma (nel paziente con DNS o nei familiari)

## Test diagnostico

Ove possibile, il test genetico deve essere condotto inizialmente su un familiare affetto da melanoma

Analisi dei geni candidati (*CDKN2A* e *CDK4*)  
su DNA estratto da sangue periferico

Gold standard: sequenziamento diretto



Peripheral blood  
leukocytes



DNA extraction



PCR amplification of exons  
1 $\alpha$ , 1 $\beta$ , 2 e 3



**DIRECT SEQUENCING**

## Risultato del test genetico

Mutazione identificata:

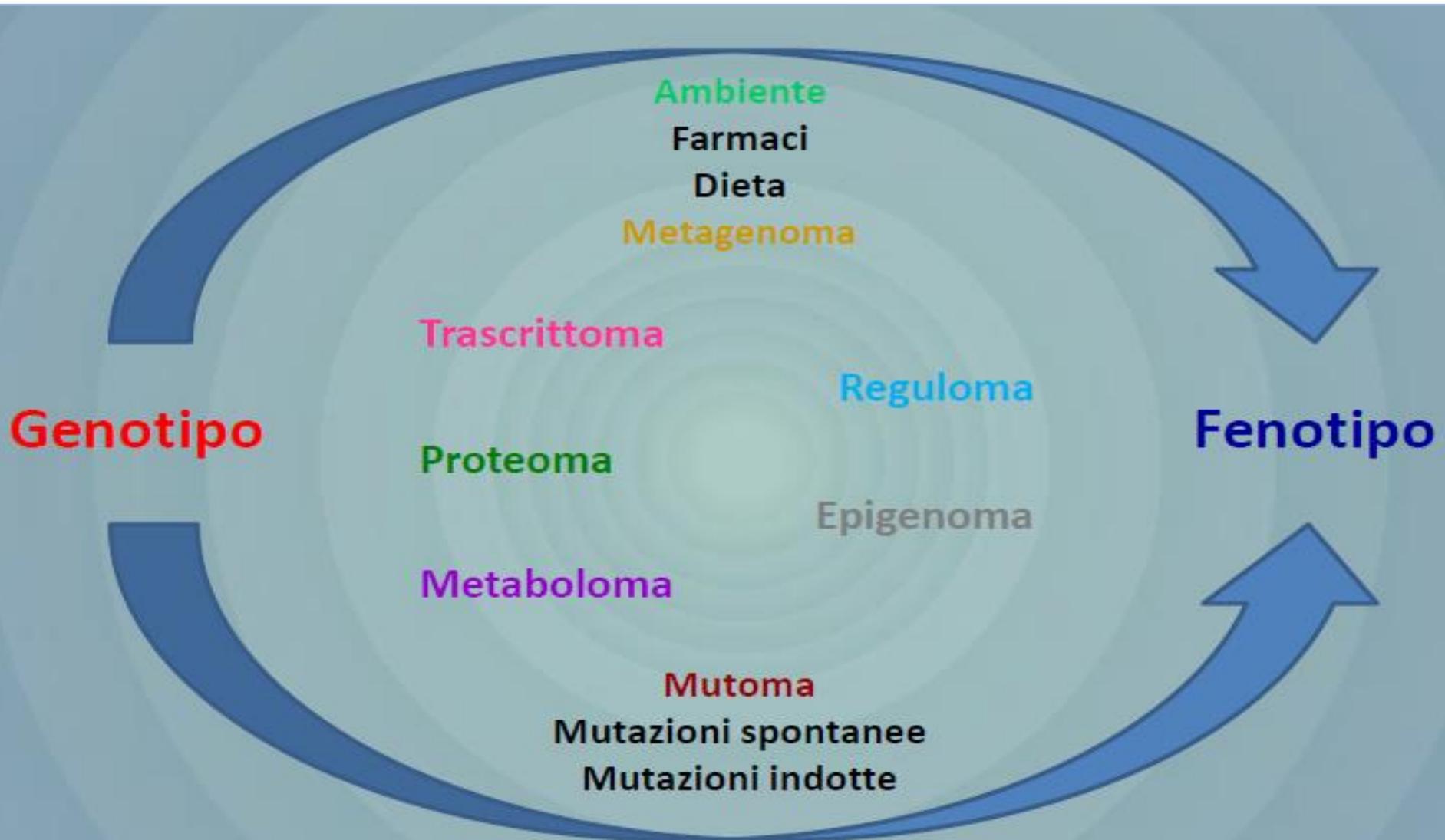
→ Test genetico predittivo nei familiari (> 18 anni)

Mutazione non identificata:

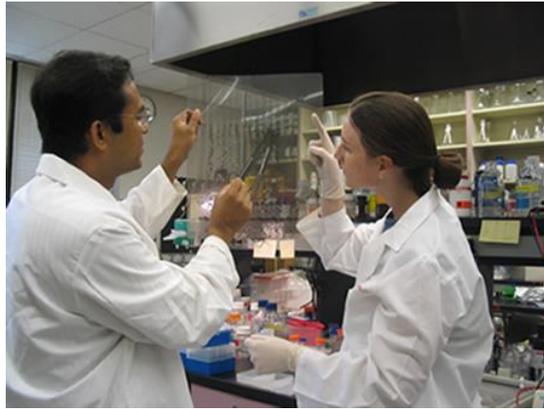
→ Test non informativo:

- Mutazione non identificabile dall'analisi attualmente disponibile
- Mutazione a carico di un gene non ancora identificato
- Coincidenza casuale

dal genotipo al fenotipo: oltre il genoma



## 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 al fianco della Medicina per l'identificazione dei fattori di rischio.

L'analisi e l'anamnesi attenta che rispondono a linee guida ormai ben sperimentate sono sicuramente il supporto migliore per una definitiva accettazione del test di predisposizione alla malattia oncologica e per l'utilizzo di tutti quegli screening di monitoraggio che risultano fondamentali in un corretto programma di prevenzione.

# *LA GENETICA: VALIDO STRUMENTO PER LA DIAGNOSI PRECOCE*

*Statte (TA) 28 Ottobre 2016*

*«Niente nella vita va temuto, deve essere solamente compreso. Ora è tempo di comprendere di più, così possiamo temere di meno»  
(Marie Curie)*

*GRAZIE  
PER L'ATTENZIONE*

*Dr Luigi Antonio Greco  
Servizio di Genetica ASL Taranto*

