

Raccomandazioni per l'implementazione del test BRCA nelle pazienti con carcinoma ovarico e nei familiari a rischio elevato di neoplasia

31 ottobre 2018



A cura del Gruppo di Lavoro AIOM - SIGU - SIBIOC - SIAPEC-IAP

Massimo Barberis, Maria Angela Bella, Fiamma Buttitta, Ettore Capoluongo, Paola Carrera, Nicoletta Colombo, Laura Cortesi, Maurizio Genuardi, Massimo Gion, Stefania Gori, Valentina Guarneri, Nicla La Verde, Domenica Lorusso, Antonio Marchetti, Paolo Marchetti, Nicola Normanno, Barbara Pasini, Matilde Pensabene, Sandro Pignata, Paolo Radice, Enrico Ricevuto, Antonio Russo, Anna Sapino, Pierosandro Tagliaferri, Pierfrancesco Tassone, Chiara Trevisiol, Mauro Truini, Liliana Varesco



Le Raccomandazioni 2018 AIOM, SIGU, SIBIOC e SIAPEC-IAP rappresentano un aggiornamento di un precedente documento del 2015 e sono relative all'implementazione del test BRCA nelle pazienti con carcinoma ovarico, con una doppia possibile applicazione (1):

- a) l'identificazione delle pazienti con maggiore possibilità di risposta a specifiche terapie antitumorali;
- b) la diagnosi di predisposizione ereditaria allo sviluppo di tumori allo scopo di individuare, mediante test preventivo per la ricerca della variante patogenetica familiare, i parenti a rischio aumentato di neoplasia da indirizzare a programmi finalizzati alla prevenzione (primaria e/o secondaria).

Le principali modifiche apportate in questa versione aggiornata riguardano:

1. Disponibilità attuale di alcuni nuovi PARP inibitori indipendentemente dalla presenza di una variante patogenetica BRCA
2. Disponibilità e validazione del test somatico per l'analisi dei geni *BRCA1* e *BRCA2*.

a) Test BRCA come test predittivo di efficacia alle terapie antitumorali

Studi retrospettivi hanno evidenziato che le pazienti affette da carcinoma ovarico, portatrici di una variante patogenetica costituzionale (germinale) BRCA, presentano una maggiore sensibilità farmacologica a combinazioni terapeutiche contenenti derivati del platino (2-4), anche quando somministrato ad alte dosi, come si fa abitualmente nella chemioterapia intraperitoneale, nonché sensibilità a doxorubicina liposomiale peghilata e trabectedina (5, 6). Inoltre, è stato dimostrato che le varianti patogenetiche dei geni BRCA, siano esse di natura germinale o somatica, rappresentano un biomarcatore predittivo di maggiore sensibilità al trattamento con inibitori dell'enzima *Poli (ADP-ribosio)Polimerasi* (PARP), che interviene nella riparazione del DNA danneggiato a singolo filamento, nelle pazienti affette da carcinoma dell'ovaio in fase avanzata. L'efficacia dei PARP inibitori come opzione terapeutica nel carcinoma dell'ovaio si realizza attraverso un meccanismo di "letalità sintetica" in presenza di una concomitante perdita di funzione dei meccanismi di riparazione del DNA a doppio filamento mediante ricombinazione omologa (HR), nei quali le proteine BRCA1/2 svolgono un ruolo essenziale (7-11). La perdita di funzione delle proteine BRCA1/2 quale effetto di alterazioni costituzionali o somatiche dei geni corrispondenti rappresenta la condizione più frequente, anche se non esclusiva, di disfunzione dei meccanismi di HR (12, 13).

La prevalenza di varianti patogenetiche costituzionali BRCA in pazienti affette da carcinoma ovarico è >10%, indipendentemente dall'età alla diagnosi e dalla storia familiare (14). Circa il 25% delle portatrici di varianti patogenetiche BRCA, infatti, ha una diagnosi di carcinoma ovarico ad un'età superiore ai 60 anni. La prevalenza di varianti patogenetiche sale al 17-20% nelle pazienti con carcinoma ovarico sieroso (2, 9), al 23-25% se di alto grado (15) e al 30-40% se la malattia è platino-sensibile.

Studi clinici hanno portato nell'ottobre del 2014 alla registrazione da parte dell'Agenzia Regolatoria Europea EMA (*European Medicines Agency*) del PARP inibitore olaparib "come terapia di mantenimento nelle pazienti con recidiva platino-sensibile di carcinoma ovarico epiteliale sieroso di alto grado, di carcinoma delle tube di Falloppio o di carcinoma primitivo del peritoneo BRCA mutato (con mutazione nella linea germinale o somatica), che sono in risposta completa o parziale alla chemioterapia a base di platino" (16, 17). In Italia AIFA ha autorizzato il farmaco con la stessa indicazione, specificando che "il trattamento con olaparib deve essere avviato e supervisionato da un medico specializzato nell'impiego dei farmaci antitumorali. Le pazienti devono avere conferma di una mutazione del gene di suscettibilità al carcinoma mammario (BRCA) (nella linea germinale o nel tumore) prima di iniziare il trattamento con olaparib. La valutazione dello stato di mutazione



di BRCA deve essere effettuata in un laboratorio specializzato che utilizzi un metodo di analisi validato” (18).

Niraparib, un altro PARP inibitore, è attualmente disponibile in Italia come monoterapia per il trattamento di mantenimento di pazienti adulte con carcinoma ovarico epiteliale sieroso, carcinoma delle tube di Falloppio o carcinoma peritoneale primario, di grado elevato, recidivato, sensibile al platino, che stiano rispondendo (risposta completa o parziale) alla chemioterapia a base di platino” (19), indipendentemente dalla presenza di difetti BRCA.

Più recentemente EMA ha approvato l’impiego di:

- olaparib, indipendentemente dallo stato BRCA, (sulla base di studi prospettici randomizzati che hanno dimostrato il beneficio di questi farmaci come terapia di mantenimento in tutta la popolazione di pazienti con recidiva platino-sensibile);
- di un altro inibitore di PARP, il rucaparib, come terapia di mantenimento delle pazienti platino-sensibili con variante patogenetica BRCA germinale e/o somatica, con carcinoma ovarico ad alto grado, carcinoma delle tube di Falloppio o primitivo peritoneale, trattate con due o più linee di chemioterapia con platino e che non possono tollerare ulteriore terapia con platino (20).

Nonostante queste nuove opzioni terapeutiche abbiano dimostrato la loro efficacia anche nel setting di pazienti che non presentano alterazioni dei geni BRCA (wild type), è comunque importante che questi siano analizzati in tutte le pazienti con carcinoma ovarico (ad esclusione dei tumori mucinosi e borderline) per i seguenti motivi:

- 1- le pazienti che risultano positive al test presentano un beneficio al trattamento con PARP inibitori superiore rispetto a quelle in cui non sono state riscontrate varianti patogenetiche (21);
- 2- l’utilizzo di olaparib come mantenimento dopo una chemioterapia di prima linea nelle pazienti positive al test BRCA ha evidenziato, in uno studio randomizzato di fase III, un vantaggio statisticamente significativo nella progression-free survival (PFS); infatti la mediana è stata di 13.8 mesi nelle pazienti che ricevevano placebo e non è stata raggiunta a 3 anni nelle pazienti che hanno ricevuto olaparib (HR 0.30; 95% CI 0.23- 0.41; $p < 0.001$). Diventerà quindi importante conoscere lo stato BRCA al momento della diagnosi iniziale, in quanto questa nozione potrebbe informare il trattamento di prima linea più adeguato (22)
- 3- per le pazienti BRCA-positive affette da tumore ovarico viene posta indicazione ad una sorveglianza attenta sull’insorgenza di secondi tumori (carcinoma mammario e altri tumori associati alle sindromi eredo-familiari associati alle mutazioni dei geni BRCA);
- 4- nelle pazienti BRCA-positive con malattia avanzata l’incapacità di riparare il danno al DNA indotto dalla chemioterapia conferisce una prognosi significativamente migliore rispetto a quella delle pazienti wild type;
- 5- le rilevanti implicazioni sulla prevenzione oncologica nei familiari, soprattutto in caso di esito positivo del test BRCA (17, 23, 24, 25).



Sulla base di queste evidenze, si ribadisce la raccomandazione di proporre l'invio al test BRCA sin dal momento della prima diagnosi di carcinoma epiteliale ovarico non mucinoso e non borderline, di carcinoma delle tube di Falloppio o di carcinoma peritoneale primitivo.

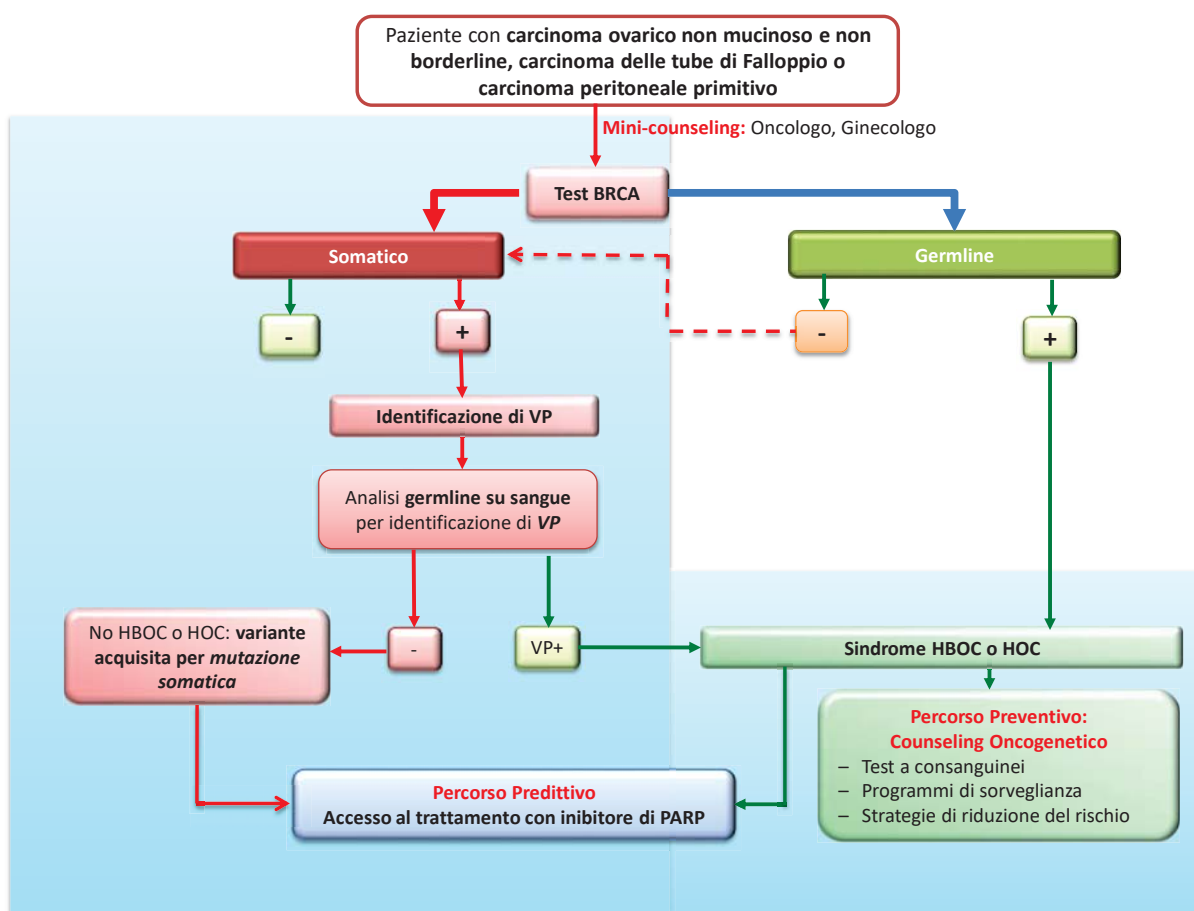
La proposta di esecuzione del test BRCA al momento della diagnosi deve avvenire fornendo una adeguata informazione su tutti gli aspetti collegati ai possibili risultati del test e rispettando i tempi decisionali della paziente.

b) Test BRCA per la diagnosi di predisposizione ereditaria

Come menzionato precedentemente, il riscontro di una positività al test BRCA nelle donne con carcinoma ovarico permette ai collateralari di queste ultime l'accesso alla consulenza genetica oncologica e al test preventivo, finalizzato a verificare la presenza o meno della variante patogenetica familiare. Nel caso di esito positivo, saranno avviati i programmi finalizzati ad una diagnosi precoce dei tumori associati alle sindromi a trasmissione eredo-familiare da difetti dei geni BRCA ed alla riduzione del rischio di carcinoma mammario/ovarico.

Negli Stati Uniti, dove il test BRCA è universale per tutte le pazienti affette da tumore ovarico già da qualche anno, gli epidemiologi hanno stimato che le strategie di riduzione del rischio (mediche o chirurgiche) attuate sulle parenti sane positive al test preventivo, potrebbero portare ad una riduzione dell'incidenza del carcinoma ovarico del 40% in 10 anni (26). Questo risultato, in un tumore che ancora oggi non riconosce metodiche di screening e di prevenzione semplici ed efficaci, è di straordinaria importanza.

- Il test BRCA è consigliato a tutte le pazienti con carcinoma ovarico non mucinoso e non borderline, carcinoma delle tube di Falloppio o carcinoma peritoneale primitivo.
- È importante offrire il test BRCA sin dalla diagnosi.
- L'identificazione di una variante patogenetica nei geni BRCA consente di pianificare nelle pazienti affette un percorso terapeutico adeguato.
- L'identificazione di variante patogenetica germinale nei geni BRCA in una paziente con carcinoma ovarico permette di intraprendere un percorso di consulenza oncogenetica nei familiari al fine di identificare i portatori ad alto rischio, cui proporre programmi mirati di diagnosi precoce dei tumori associati alle sindromi a trasmissione eredo-familiare BRCA-relate e strategie finalizzate alla riduzione del rischio.
- La presa in carico delle donne con tumore ovarico BRCA-relato deve prevedere un approccio bio-psicosociale, che tenga conto dell'impatto della diagnosi e dei trattamenti sulla sfera fisica e psico-emotiva di ciascuna donna affetta da tumore ovarico, così come delle implicazioni psicologiche della problematica eredo-familiare e del coinvolgimento dei familiari sani a rischio nel percorso decisionale.



È preferibile effettuare in prima istanza la ricerca delle mutazioni di BRCA1/2 su tessuto tumorale, in quanto il test BRCA su sangue periferico è in grado di evidenziare soltanto le varianti costituzionali/ereditarie. La natura della variante identificata (costituzionale o somatica) sarà contestualmente stabilita analizzando un tessuto normale (sangue, altro tessuto).

Nel caso di variante acquisita per mutazione somatica, la paziente avrà accesso ad eventuale trattamento con inibitore di PARP.

Nel caso di variante costituzionale, oltre alla possibilità di accedere ad eventuale trattamento con inibitore di PARP, la paziente potrà accedere, attraverso il counseling oncogenetico, al percorso preventivo (tramite l'avvio di programmi di sorveglianza clinico-strumentale o l'effettuazione di strategie di riduzione del rischio).

Nel caso in cui il laboratorio di riferimento effettui esclusivamente il test su sangue periferico, per le pazienti che hanno un test germinale/costituzionale negativo, è opportuno inviare il tessuto tumorale ad altro laboratorio per ricerca delle varianti BRCA1/2 a livello somatico.



Tipologie di test BRCA

Attualmente, il **test BRCA su sangue periferico** (“**test costituzionale** o **germinale**”) per la ricerca di varianti patogenetiche costituzionali è eseguito in molti laboratori attraverso metodologie ampiamente validate, in particolare sequenziamento di nuova generazione (Next Generation Sequencing-NGS) eventualmente seguito da sequenziamento Sanger per la validazione delle varianti.

L’analisi di sequenza della porzione codificante dei geni *BRCA1* e *BRCA2* (esoni e giunzioni esoni/introni) permette di individuare piccole variazioni della sequenza del DNA (singoli cambiamenti nucleotidici, inserzioni/delezioni da poche paia a qualche decina di basi) e consente di identificare circa il 90% delle varianti patogenetiche BRCA. A completamento, deve essere eseguita la ricerca di ampi riarrangiamenti genici (es. delezioni di uno o più esoni o dell’intero gene), che rappresentano una frazione variabile da popolazione a popolazione delle varianti patogenetiche BRCA germinali, globalmente pari a circa il 10%. Le analisi mediante metodiche NGS permettono di predire con un certo grado di affidabilità eventuali ampi riarrangiamenti in *BRCA1/2*, che vengono generalmente confermati mediante metodiche quali la *Multiplex Ligation Probe dependent Amplification* (MLPA) o la *Multiplex Amplicon Quantification* (MAQ). Generalmente, MLPA e MAQ andrebbero utilizzate in modalità complementare, per escludere ad esempio dei falsi positivi originati sia dalla tecnologia NGS che da eventuali problematiche relative al sistema MAQ (27, 28).

In base ai dati ad oggi disponibili, è atteso che i 2/3 delle varianti patogenetiche BRCA identificabili in pazienti affette da carcinoma ovarico siano di tipo costituzionale (presente in ogni cellula dell’organismo), ereditate dalla madre o dal padre o comparse per effetto di mutazioni *de novo* (meno dell’1% dei casi) e trasmissibili ai figli (50% di probabilità per ogni figlio/a). In 1/3 dei casi le varianti patogenetiche sono invece esclusivamente somatiche e, pertanto, confinate al tessuto tumorale (8, 9).

Il **test BRCA eseguito su tessuto tumorale** (“**test somatico**”) è in grado di evidenziare sia le varianti acquisite per mutazione somatica sia quelle costituzionali. Pertanto, in caso di risultato positivo, l’alterazione va ricercata sul sangue periferico per verificare se si tratta di una variante costituzionale. L’analisi somatica consente di identificare una frazione di pazienti affette da carcinoma ovarico con variante patogenetica BRCA pari a circa il 7%, che rimarrebbero misconosciute con il solo test su sangue periferico (29). Tuttavia, per quanto esistano numerosi sistemi commerciali certificati CE-IVD (In Vitro Diagnostics) per l’analisi *BRCA1/2* su tessuto tumorale, ad oggi sono pochi i sistemi commerciali CE-IVD accoppiati a software bioinformatici dedicati alla esecuzione ed all’interpretazione dell’analisi BRCA sui tessuti tumorali. Tali sistemi non sono completamente affidabili per la valutazione degli ampi riarrangiamenti, mentre hanno affidabilità sovrapponibile a quella dell’analisi su sangue per le varianti puntiformi (29, 30).

Per l’esecuzione del test somatico vanno considerati i punti sotto riportati.

- 1) Il campione chirurgico da sottoporre ad analisi molecolare deve essere ritenuto idoneo ($\geq 20\%$ di cellule neoplastiche nel campione) (30) dall’anatomo-patologo, il quale deve valutare le caratteristiche del tessuto in esame ai fini di una eventuale macrodissezione manuale e, se necessario, selezionare le aree del campione più ricche di cellule tumorali.
- 2) Le metodiche NGS permettono di individuare anche su tessuto, senza particolari



difficoltà (29), le varianti tipicamente ritrovabili a livello germinale, ma possono fallire nell'identificare riarrangiamenti di media o grande dimensione e varianti alleliche a bassa frequenza nel campione in analisi.

- 3) Infine, attualmente, in Italia sono ancora relativamente pochi laboratori in cui si effettua test su tessuto tumorale, mentre sono più numerosi i laboratori nei quali viene effettuato test su sangue periferico.

Per un'adeguata esecuzione del test BRCA, è necessario che i laboratori:

- a) abbiano una comprovata esperienza di validazione del test;
- b) partecipino a programmi di controllo di qualità esterni riconosciuti.

Esistono, comunque, specifiche raccomandazioni di tipo metodologico per la messa a punto di un workflow di analisi NGS su tessuto tumorale ovarico per la ricerca delle varianti BRCA (29-30). Inoltre, l'impiego di standard ad hoc per ogni tipologia di processo analitico è fondamentale anche ai fini di una corretta analisi bioinformatica (31). Non ultimo, si ricorda la necessità di un'adeguata conservazione del tessuto secondo procedure pre-analitiche che consentano la migliore preservazione del DNA (30-32).

Il panel ritiene che si possano utilizzare oggi entrambi i test BRCA, su tessuto tumorale oppure su sangue, ma che sia preferibile, laddove possibile, eseguire in prima istanza il test somatico, considerando in ogni caso che il test, indipendentemente dal tipo di campione utilizzato - sangue o tessuto - richiede standard qualitativi da rispettare ed esperienza di analisi ed interpretazione.

Qualora si inizi il percorso con il test su sangue periferico, in caso di esito non informativo (nessuna variante patogenetica individuata) in una paziente che ha indicazione al trattamento con un PARP inibitore autorizzato solo quando sia documentata la presenza di una variante patogenetica in uno dei due geni BRCA, è opportuno inviare il tessuto tumorale ad un laboratorio qualificato per la ricerca delle varianti a livello somatico.

- Il test BRCA su pazienti con carcinoma ovarico può essere effettuato su sangue periferico oppure su tessuto tumorale. Tuttavia, è preferibile effettuare in prima istanza il test su tessuto tumorale, al fine di poter identificare varianti di natura sia germinale che somatica.
- Per il test somatico, i preparati istologici devono essere rivalutati da un patologo che individuerà le aree più rappresentative della lesione e con maggiore quantità di cellule tumorali.
- Il test su tessuto presenta ancora delle problematiche tecniche che lo limitano a selezionati laboratori specializzati. I laboratori devono offrire un test validato e i risultati devono essere disponibili in tempi rapidi.
- Alle pazienti che hanno in prima istanza effettuato il test germinale con esito non informativo (nessuna variante patogenetica identificata) e che sono candidate ad un trattamento con PARP inibitori, va proposto il test somatico.



Interpretazione delle varianti genetiche BRCA

Lo spettro di variabilità allelica dei geni *BRCA1* e *BRCA2* è molto ampio. Pertanto, il problema della classificazione delle varianti genetiche identificate è di grande rilevanza, anche perché può accadere che il laboratorio individui una variante che non è stata segnalata in precedenza nella letteratura scientifica. Pur esistendo numerose modalità di classificazione delle varianti costituzionali BRCA (33), è opportuno adottare i criteri sviluppati dall'*Evidence-based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles* (ENIGMA), disponibili sul sito web del consorzio (34), in quanto più specifici e frutto di un'ampia collaborazione di esperti internazionali. ENIGMA classifica le varianti in cinque categorie, secondo le indicazioni IARC (35): benigna, probabilmente benigna, incerta, probabilmente patogenetica e patogenetica.

È importante sottolineare che i criteri sopra menzionati sono stati sviluppati al fine di definire il significato delle varianti nei geni BRCA come predittivi di rischio ereditario. Al momento, le informazioni relative all'effetto delle diverse varianti BRCA sulla risposta alle terapie sono più limitate e criteri specifici per la loro classificazione a questo scopo non sono ancora stati elaborati.

È necessario pertanto che i laboratori rendano evidenti le modalità di interpretazione delle varianti BRCA, indicando nel referto il significato clinico della variante genetica identificata ed elencando le informazioni essenziali utilizzate per la classificazione (36). In quest'ambito è opportuno che i laboratori partecipino a programmi esterni di controlli di qualità ed alle reti collaborative, nazionali ed internazionali, finalizzate alla raccolta sistematica e centralizzata delle varianti BRCA osservate, allo scopo di contribuire alla miglior classificazione delle stesse (37), per quanto concerne sia la definizione del rischio ereditario che la predizione della risposta alle terapie anti-tumorali.

È inoltre auspicabile effettuare una verifica periodica della classificazione delle varianti. Ogni riclassificazione deve essere comunicata al clinico di riferimento, in modo da trasferire l'informazione alla persona che si era sottoposta al test.

- Nel referto deve essere indicato il significato clinico della variante genetica BRCA identificata e devono essere elencate le informazioni essenziali utilizzate per la classificazione. Recentemente, sono stati sviluppati dal consorzio ENIGMA criteri specifici per l'interpretazione del significato clinico (accertamento di rischio ereditario) delle varianti costituzionali dei geni BRCA.



Disponibilità del test BRCA e gestione dei risultati nel percorso assistenziale/terapeutico

I modelli di consulenza genetica oncologica tradizionali pre-test, sviluppati nei percorsi assistenziali di prevenzione, sono attualmente insufficienti a far fronte all'aumento dei volumi, particolarmente quando il test genetico assume anche una valenza di predittività ai trattamenti che va determinata in tempi adeguati. Anche se il modello di consulenza genetica oncologica ottimale del percorso preventivo assicura una presa in carico completa degli aspetti genetici fin dalla fase pre-test, la necessità di ottenere in tempi adeguati il risultato del test ai fini della programmazione terapeutica presuppone che siano anche gli oncologi ed i ginecologi con competenze oncologiche a richiedere direttamente il test BRCA al laboratorio. In quest'ambito risulta indispensabile identificare modalità organizzative che assicurino la corretta interpretazione dei risultati del test a scopo clinico, la corretta gestione dei familiari che sono a rischio nel caso in cui si identifichi una variante patogenetica ereditaria, e la corretta valutazione genetica dei casi in cui il test BRCA sia risultato non informativo (36, 37).

Si sottolinea la necessità di definire percorsi aziendali in cui vengano indicate, in modo chiaro per le pazienti ed i loro familiari, le funzioni e le responsabilità dell'équipe oncologica, del laboratorio e dell'équipe di genetica clinica oncologica nelle varie fasi del percorso individuato. In assenza di standard riconosciuti, si evidenzia l'opportunità di sottoporre tali percorsi ad una verifica mediante audit programmati, in un'ottica di miglioramento della qualità delle prestazioni offerte. È auspicabile che tutte le regioni rendano gratuito il test BRCA per i familiari sani delle pazienti in cui è stata individuata una variante patogenetica *BRCA1/2* e che venga offerto gratuitamente il programma di prevenzione proposto ai soggetti portatori di variante patogenetica eventualmente con l'introduzione di un codice di esenzione per malattie genetiche ereditarie.

- Il panel raccomanda di identificare modalità organizzative che assicurino la corretta interpretazione dei risultati del test a scopo clinico, la corretta gestione dei familiari a rischio nel caso in cui si identifichi una variante patogenetica ereditaria, e la corretta valutazione genetica dei casi in cui il test BRCA sia risultato non informativo.
- Appaiono necessari dei PDTA in cui vengano indicate, in modo chiaro per le pazienti ed i loro familiari, le funzioni e le responsabilità dell'équipe oncologica, del laboratorio per l'esecuzione del test genetico somatico e germinale e dell'équipe di genetica clinica oncologica, nelle varie fasi del percorso individuato.



Elementi indispensabili del consenso informato

Il test BRCA a fini prognostici e predittivi di risposta alle terapie può essere prescritto dal genetista, dall'oncologo e dal ginecologo con competenze oncologiche, che diventano responsabili anche di informare adeguatamente la paziente sugli aspetti genetici collegati ai risultati.

Le informazioni da dare alla paziente dovranno riguardare i potenziali benefici in termini prognostici e terapeutici, insieme alla possibilità di rilevare per se stessi la eventuale condizione di alto rischio di sviluppare un altro tumore e per i propri familiari di accedere ad analisi in grado di accertare la presenza di una predisposizione alla insorgenza di tumori. I tempi e le modalità di acquisizione del consenso all'esecuzione del test genetico dovranno essere rispettosi delle volontà della paziente, con disponibilità ad approfondire tutti i diversi aspetti prima della decisione, come ad esempio la scelta di comunicare o meno l'esito del test ad altri familiari.

Si richiede ai medici prescrittori del test BRCA di utilizzare un adeguato protocollo di comunicazione e raccolta del consenso scritto, attraverso la definizione di appositi moduli informativi e di consenso informato. È necessario per gli oncologi ed i ginecologi con competenze oncologiche che non hanno una specifica esperienza in genetica oncologica eseguire un percorso formativo che includa anche gli aspetti etici del test BRCA. Inoltre nell'ambito di un percorso assistenziale andrà individuata un'équipe di genetica clinica oncologica cui fare riferimento qualora siano indicati o richiesti dalla paziente approfondimenti sugli aspetti genetici, prima della decisione di sottoporsi o meno al test e per i casi che presentano particolari problematiche.

- Si richiede ai medici prescrittori del test BRCA di utilizzare un adeguato protocollo di comunicazione e raccolta del consenso scritto, attraverso la definizione di appositi moduli informativi e di consenso informato.
- Le informazioni da dare alla paziente dovranno riguardare i potenziali benefici in termini prognostici e terapeutici, la possibilità di rilevare per se stessi il rischio di sviluppare un altro tumore e l'opportunità per i propri familiari di effettuare test predittivi di rischio oncologico.
- È necessario per gli oncologi ed i ginecologi oncologi che non hanno una specifica esperienza in genetica oncologica eseguire un percorso formativo che includa anche gli aspetti etici del test BRCA.
- Andrà individuata un'équipe di genetica clinica oncologica, cui fare riferimento qualora siano indicati o richiesti dalla paziente approfondimenti sugli aspetti genetici.



Riferimenti bibliografici

- 1-Pinto C, Bella MA, Capoluongo E, et al. Recommendations for the implementation of BRCA testing in the care and treatment pathways of ovarian cancer patients. *Future Oncol* 2016; 12:2071-5
- 2-Alsop K, Fereday S, Meldrum C, et al. BRCA mutation frequency and patterns of treatment response in BRCA mutation-positive women with ovarian cancer a report from the Australian Ovarian Cancer Study Group. *J Clin Oncol* 2012;30:2654-63
- 3-Bolton KL, Chenevix-Trench G, Goh C, et al. Association between BRCA1 and BRCA2 mutations and survival in women with invasive epithelial ovarian cancer *J Am Med Assoc* 2012; 307:382-90
- 4-George A, Kristeleit R, Rafii S, et al. Clinical factors of response in patients with advanced ovarian cancer participating in early phase clinical trials. *Eur J Cancer*. 2017;76:52-59
- 5-Safra T1, Borgato L, Nicoletto MO, et al. BRCA mutation status and determinant of outcome in women with recurrent epithelial ovarian cancer treated with pegylated liposomal doxorubicin. *Mol Cancer Ther*. 2011 Oct;10(10):2000-7. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0272. Epub 2011 Aug 11.
- 6-Monk BJ, Lorusso D, Italiano A, et al. Trabectedin as a chemotherapy option for patients with BRCA deficiency. *Cancer Treat Rev*. 2016 Nov;50:175-182.
- 7-Drost R and Jonkers J, Opportunities and hurdles in the treatment of BRCA1-related breast cancer. *Oncogene* 2014; 33: 3753–63
- 8-George J, Alsop K, Etemadmoghadam D, et al. Non equivalent gene expression and copy number alterations in high-grade serous ovarian cancers with BRCA1 and BRCA2 mutations. *Clin Cancer Res* 2013; 19:3474-84
- 9-Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature*. 2011; 474: 609-15
- 10- Wiggins AJ, Cass GK, Bryant A, et al. Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitors for the treatment of ovarian cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2015 May 20;5:CD007929
- 11-Cortesi L, Toss A, Cucinotto I. Parp Inhibitors for the Treatment of Ovarian Cancer. *Curr Cancer Drug Targets*. 2018
- 12-Curtin NJ. DNA repair dysregulation from cancer driver to therapeutic target. *Nat. Rev. Cancer* 2012 12(12), 801–817
- 13-Hilton JL1, Geisler JP, Rathe JA, et al. Inactivation of BRCA1 and BRCA2 in ovarian cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2002; 94:1396-406
- 14-Soegaard M, Kjaer SK, Cox M et al. BRCA1 and BRCA2 mutation prevalence and clinical characteristics of a population-based series of ovarian cancer cases from Denmark. *Clin. Cancer Res*. 2008, 14(12), 3761–3767
- 15-Rust K, Spiliopoulou P, Tang CY, et al. Routine germline BRCA1 and BRCA2 testing in ovarian carcinoma patients: analysis of the Scottish real life experience. *BJOG*. 2018 Feb 20
- 16-Ledermann J, Harter P, Gourley C, et al. Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed serous ovarian cancer: a preplanned retrospective analysis of outcomes by BRCA status in a randomized phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2014;15:852-61



17http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/003726/human_med_001831.jsp&mid=WC0b01ac058001d124

18-Determina AIFA n.251/2015; GU n.72 del 27-3-2015.

http://www.gazzettaufficiale.it/atto/serie_generale/caricaDettaglioAtto/originario?atto.dataPubblicazioneGazzetta=2015-03-27&atto.codiceRedazionale=15A02247&elenco30giorni=false

19-Determina AIFA n 1367/2018; GU n.219 del 20-9-2018.

http://www.gazzettaufficiale.it/atto/serie_generale/caricaDettaglioAtto/originario?atto.dataPubblicazioneGazzetta=2018-09-20&atto.codiceRedazionale=18A05991&elenco30giorni=false

20-<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/rubraca>

21-Staropoli N, Ciliberto D, Del Giudice T, et al. The Era of PARP inhibitors in ovarian cancer: "Class Action" or not? A systematic review and meta-analysis. Crit Rev Oncol Hematol. 2018 Nov; 131:83-89.

22-K.N. Moore, N. Colombo, G. Scambia, et al. Maintenance olaparib following platinum-based chemotherapy in newly diagnosed patients (pts) with advanced ovarian cancer (OC) and a BRCA1/2 mutation (BRCAm): Phase III SOLO1 trial. Annals of Oncology Volume 29, 2018 Supplement 8, Abstract Book of the 43rd ESMO Congress. (ESMO 2018), LBA7_PR. Munich, Germany

23-Mirza MR, Monk BJ, Herrstedt J, et al. Niraparib Maintenance Therapy in Platinum-Sensitive, Recurrent Ovarian Cancer. N Engl J Med. 2016;375(22):2154-64.

24http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/004249/human_med_002192.jsp&mid=WC0b01ac058001d124

25-Pujade-Lauraine E, Ledermann JA, Selle F, et al; SOLO2/ENGOT-Ov21 investigators. Olaparib tablets as maintenance therapy in patients with platinum-sensitive, relapsed ovarian cancer and a BRCA1/2 mutation (SOLO2/ENGOT-Ov21): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. Lancet Oncol. 2017 Sep;18(9):1274-1284.

26 -Bayraktar S, Arun B. BRCA mutation genetic testing implications in the United States. Breast. 2017 Feb;31:224-232.

27-Scaglione GL, Concolino P, De Bonis M, et al. A Whole Germline BRCA2 Gene Deletion: How to Learn from CNV In Silico Analysis. Int J Mol Sci. 2018 Mar 23;19(4). pii: E961. doi: 10.3390/ijms19040961

28-Concolino P, Rizza R, Mignone F, et al. A comprehensive BRCA1/2 NGS pipeline for an immediate Copy Number Variation (CNV) detection in breast and ovarian cancer molecular diagnosis. Clin Chim Acta. 2018 May;480:173-179. doi: 10.1016/j.cca.2018.02.012

29-Ellison G, Ahdesmäki M, Luke S, et al. An evaluation of the challenges to developing tumor BRCA1 and BRCA2 testing methodologies for clinical practice. Hum Mutat. 2018 Mar;39(3):394-405. doi: 10.1002/humu.23375. Epub 2017 Dec 28

30-Capoluongo E, Ellison G, López-Guerrero JA, et al. Guidance Statement On BRCA1/2 Tumor Testing in Ovarian Cancer Patients. Semin Oncol. 2017 Jun;44(3):187-197

31-Zhong Q, Wagner U, Kurt H, et al. Multi-laboratory proficiency testing of clinical cancer



genomic profiling by next-generation sequencing. Pathol Res Pract. 2018 May 22. pii: S0344-0338(17)31187-1

32-Linee guida tracciabilità, raccolta, trasporto, conservazione e archiviazione di cellule e tessuti per indagini diagnostiche di anatomia patologica
www.salute.gov.it/imgs/C_17pubblicazioni_2369_allegato.pdf

33-Richards S, Aziz N, Bale S, et al.; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet Med. 2015 May;17(5):405-24

34-ENIGMA. <https://enigmaconsortium.org/>

35-Plon SE, Eccles DM, Easton D, et al. Sequence variant classification and reporting: recommendations for improving the interpretation of cancer susceptibility genetic test results. Hum. Mutat. 2008, 29:1282-1291

36-Claustres M, Kožich V, Dequeker E, et al. Recommendations for reporting results of diagnostic genetic testing (biochemical, cytogenetic and molecular genetic. Eur J Hum Genet 2014; 22: 160-70

37-Wallis Y, Payne S, McAnulty C et al. Practice guidelines for the evaluation of pathogenicity and the reporting of sequence variants in clinical molecular genetics ACGS/VGKL.
www.acgs.uk.com/media/774853/evaluation_and_reporting_of_sequence_variants_bpgs_june_2013_-_finalpdf.pdf