



Raccomandazioni 2019 per l'implementazione del test BRCA nelle pazienti con carcinoma mammario e nei familiari a rischio elevato di neoplasia

Ottobre 2019



Associazione Italiana di Oncologia Medica



A.N.I.S.C.
Associazione Nazionale Italiana Senologi Chirurghi



SOCIETÀ ITALIANA
DI CHIRURGIA
ONCOLOGICA
ESSO AFFILIATED



SIGUweb
Società Italiana di Genetica Umana



Società Italiana di Anatomia Patologica
e Citologia Diagnostica - Divisione Italiana
della International Academy of Pathology



Associazione Italiana di Oncologia Medica



*A cura del Gruppo di Lavoro AIOM-ANISC- SICO- SIGU - SIBIOC - SIAPEC-
IAP- Fondazione AIOM*

*Stefania Gori, Laura Cortesi, Fiamma Buttitta, Ettore Capoluongo, Saverio Cinieri,
Lucia Del Mastro, Massimo Dessena, Oreste Gentilini, Maurizio Genuardi, Valentina
Guarneri, Lorena Incorvaia, Nicla La Verde, Paolo Marchetti, Caterina Marchiò,
Fabrizio Nicolis, Laura Ottini, Matilde Pensabene, Enrico Ricevuto, Anna Sapino,
Pierosandro Tagliaferri, Mauro Truini, Daniela Turchetti, Liliana Varesco, Antonio
Russo*

Ottobre 2019



Introduzione

Da molti anni la presenza di una variante patogenetica (VP) costituzionale nei geni *BRCA1* e *BRCA2* consente di valutare il rischio di sviluppare una seconda neoplasia nelle pazienti oncologiche e di poter iniziare percorsi di prevenzione primaria e secondaria nelle donne ad alto rischio genetico nonché programmi di chirurgia profilattica di riduzione del rischio.

Oggi, il riscontro di una VP in *BRCA1/2* ha anche importanti implicazioni terapeutiche per le donne affette da carcinoma mammario (CM) (test BRCA come test predittivo di efficacia delle terapie antitumorali).

1-Criteri di invio alla consulenza genetica

L'indicazione all'esecuzione del test è basata generalmente sulla storia personale e familiare, e tiene conto degli elementi usualmente impiegati per il riconoscimento dei tumori legati a predisposizione ereditaria: numero di parenti affetti, tipo di neoplasia, tumori primitivi multipli, età alla diagnosi, caratteristiche istologiche, immuno-istochimiche e molecolari dei tumori. Queste variabili sono organizzate in criteri che, se soddisfatti, rendono indicato l'invio alla consulenza genetica; a questo proposito si può fare riferimento a quelli riportati nelle linee guida AIOM 2019 (1) (Tabella n.1) che sono in accordo con quelli presenti nelle linee guida internazionali e con quelli recepiti da diverse Regioni italiane.



Tabella 1 - Criteri per l'invio alla consulenza genetica oncologica del/della paziente con carcinoma mammario

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;
Storia personale di carcinoma mammario < 50 anni e familiarità di primo grado* per:
<ul style="list-style-type: none"> - Carcinoma mammario < 50 anni; - Carcinoma ovarico non mucinoso o borderline a qualsiasi età; - Carcinoma mammario bilaterale; - Carcinoma mammario maschile;
Storia personale di carcinoma mammario > 50 anni e familiarità per carcinoma mammario, ovarico in 2 o più parenti in primo grado* tra loro (di cui uno in primo grado con lei*)
Storia familiare di: Variante patogenetica nota in un gene predisponente in un familiare

* parenti di primo grado=genitori, fratelli/sorelle e figli.

Per il lato paterno della famiglia, considerare anche familiari di secondo grado (nonna, zie)

Questi criteri individuano situazioni associate a una probabilità superiore al 10% di identificare una VP BRCA germinale e rappresentano, quindi, un'indicazione all'esecuzione di un test con accettabile rapporto costi/benefici. Inoltre, è importante tenere presente che i criteri di avvio alla consulenza genetica per sospetto tumore ereditario BRCA-associato sono in evoluzione, sia in relazione alle maggiori capacità tecnologiche e alla più ampia disponibilità di percorsi di prevenzione strutturati, sia sulla spinta della disponibilità di farmaci specifici anche per altri tumori. A questo proposito, recentemente le linee guida internazionali NCCN hanno considerato eleggibili al test BRCA pazienti con carcinoma del pancreas e con carcinoma della prostata avanzato indipendentemente dall'età di insorgenza (2).

Nell'ambito della pratica clinica, i criteri di riferimento per l'avvio alla



consulenza genetica debbono essere adeguatamente contestualizzati, e non utilizzati in maniera acritica, al fine di prendere decisioni su singoli pazienti/famiglie. In particolare, nei casi in cui l'effettuazione del test BRCA sia indispensabile per l'accesso a specifici trattamenti antitumorali, dovrà essere presa in considerazione l'opportunità di eseguirlo anche in pazienti che **non** rientrano nei criteri di invio alla consulenza genetica oncologica. Questa decisione deve essere condivisa nell'ambito della discussione collegiale del Gruppo multidisciplinare (vedi paragrafo 2.2).

2- Test BRCA come test predittivo di efficacia alle terapie antitumorali

La presenza di una VP BRCA ha implicazioni terapeutiche per le donne che hanno già una diagnosi di neoplasia mammaria, sia in fase non metastatica che in fase metastatica.

2.1-Donne con diagnosi di carcinoma mammario in fase NON metastatica

Il riscontro di una VP BRCA in donne con nuova diagnosi di CM in fase non metastatica può influire sulla scelta sia del trattamento loco-regionale (intervento chirurgico radicale vs conservativo con radioterapia complementare; mastectomia mono- o bi-laterale) che della terapia sistemica adiuvante/neoadiuvante.

In ogni caso, l'esito del test può avere ricadute sui familiari della paziente: in caso di esito positivo, infatti, consente di estendere il test ai parenti a rischio di aver ereditato la VP BRCA (vedi paragrafo 3).

Chirurgia e radioterapia

Al momento non è dimostrato che una chirurgia estesa (mastectomia unilaterale o bilaterale) offra un beneficio in termini di sopravvivenza globale rispetto ad una chirurgia conservativa associata a radioterapia nelle donne affette da carcinoma mammario e portatrici di VP BRCA (3). L'incidenza di recidiva locale dopo chirurgia conservativa e radioterapia appare simile tra donne portatrici di VP e pazienti con CM non selezionate nelle pubblicazioni con follow up fino a 7 anni. Nelle analisi con follow up più lungo, appare tuttavia evidente un significativo eccesso di eventi locali omolaterali in aggiunta al significativo eccesso di tumore della mammella controlaterale (4-6).



Un recente studio israeliano propone la RT profilattica controlaterale in pazienti *BRCA* già sottoposte a chirurgia per tumore mammario. Lo studio sembrerebbe dimostrare una riduzione significativa dell'incidenza del tumore controlaterale rispetto al follow-up ($P=0.011$) (7).

Al fine di prendere una decisione appropriata ed individualizzata, le pazienti devono essere informate dell'entità del rischio di sviluppare una seconda neoplasia omolaterale o controlaterale e della relativa tempistica di possibile comparsa. La quantificazione del rischio deve essere stimata in relazione al gene coinvolto (*BRCA1* vs *BRCA2*) e all'età di insorgenza del primo evento (prima o dopo i 40 anni) (8). Inoltre, la storia personale e familiare della paziente vanno opportunamente considerate nel processo decisionale.

L'intervento di mastectomia bilaterale è in grado di ridurre il rischio di un nuovo tumore mammario del 90% (9), rendendo minima anche se non nulla la possibilità di dover affrontare una nuova diagnosi di carcinoma mammario e i successivi trattamenti antitumorali. Tuttavia, i benefici di una chirurgia estesa in termini di riduzione del rischio oncologico vanno ponderati con i rischi e le possibili conseguenze post-operatorie e discussi in relazione alle opzioni alternative di riduzione del rischio.

L'informazione sulla presenza di VP *BRCA* condiziona la scelta del trattamento chirurgico in base al timing della sua disponibilità. Infatti, in un'esperienza italiana si è riscontrato che il 42% delle donne andava incontro a mastectomia bilaterale laddove l'informazione fosse presente prima della chirurgia rispetto ad un 5% di pazienti che ha optato per una successiva mastectomia bilaterale laddove l'informazione fosse disponibile solo dopo la chirurgia iniziale (10).

Terapia antitumorale sistemica neoadiuvante

Alcuni studi non randomizzati hanno dimostrato un'aumentata chemiosensibilità del carcinoma mammario triplo negativo, in particolare ai derivati del platino, nel setting neoadiuvante, con l'ottenimento di un'alta frequenza di risposte patologiche complete (pCR) (11-13). Nello studio randomizzato di fase II GeparSixto/GBC 66 è stato dimostrato un incremento delle pCR con l'aggiunta del carboplatino a uno schema chemioterapico neoadiuvante contenente taxani, antracicline e terapia target (bevacizumab o trastuzumab/lapatinib in base alle caratteristiche biologiche della neoplasia) (14). Inaspettatamente, un'analisi secondaria dello studio non ha dimostrato lo stesso beneficio nel sottogruppo di tumori *BRCA*-correlati (15). Una possibile spiegazione potrebbe essere attribuita ad un'alta efficacia di uno schema chemioterapico composto da antracicline nei tumori *BRCA*-correlati; inoltre, si deve considerare il numero limitato di pazienti



con tumore *BRCA*-mutato incluse nel trial. Recenti studi suggeriscono che i tumori *BRCA*-correlati siano sensibili al trattamento con inibitori dell'enzima Poli ADP-Ribosio Polimerasi (PARP). Alcuni PARP-inibitori (Olaparib, Talazoparib) sono stati testati nel setting del carcinoma mammario avanzato *BRCA*-correlato, dimostrando un incremento della sopravvivenza libera da progressione rispetto alla chemioterapia (16, 17).

Nello studio randomizzato di fase III BrighTNess le pazienti sono state randomizzate a trattamento neoadiuvante con carboplatino vs carboplatino in associazione al PARP inibitore Veliparib vs chemioterapia standard. La combinazione di veliparib e carboplatino ha mostrato un tasso di pCR significativamente maggiore rispetto al trattamento standard; si è evidenziato inoltre che l'aggiunta del veliparib non aumenta il tasso di risposte rispetto all'aggiunta del solo carboplatino. Tali risultati si sono mantenuti anche nel sottogruppo di pazienti con VP *BRCA*; tuttavia lo studio non era sufficientemente dimensionato per analizzare l'efficacia dell'aggiunta del solo carboplatino al trattamento standard (18).

Uno studio pilota con talazoparib in monoterapia nel trattamento neoadiuvante del carcinoma mammario ha mostrato un alto tasso di pCR nelle pazienti portatrici di VP *BRCA* (19); sono attesi i dati di conferma dello studio di fase II in corso (NCT02282345).

Ad oggi i dati disponibili sul beneficio dell'aggiunta dei derivati del platino nel trattamento neoadiuvante delle pazienti con tumore mammario *BRCA*-correlato sono ancora controversi e non permettono di definire un potenziale trattamento personalizzato. Attualmente le linee guida raccomandano di basare la decisione del tipo di chemioterapia o terapia ormonale sui fattori prognostici e predittivi consolidati per le forme sporadiche.

Nel setting neo-adiuvante, l'aggiunta dei sali di platino a una chemioterapia standard (contenente antracicline e taxani) può essere considerata nelle pazienti con neoplasia mammaria triplo negativa (20-22). L'uso degli inibitori di PARP in fase neo-adiuvante è ancora oggetto di valutazione in studi clinici.



Terapia antitumorale sistemica adiuvante

Per quanto riguarda la chemioterapia adiuvante, è attualmente in corso lo studio di fase III NRG-BR003 (NCT02488967), che randomizza pazienti affette da carcinoma mammario triplo-negativo ad alto rischio a doxorubicina e ciclofosfamide seguite da paclitaxel con o senza carboplatino. Tra gli obiettivi secondari è prevista un'analisi di efficacia a seconda dello stato BRCA. In attesa di questi dati, l'offerta di chemioterapia adiuvante per le pazienti con VP BRCA non differisce da quella delle pazienti BRCA negative.

Ci sono molte aspettative riguardo al possibile ruolo degli inibitori di PARP nel setting adiuvante. È attualmente in corso il trial clinico di fase III OlympiA (NCT02032823) che prevede il confronto tra olaparib vs placebo somministrati per 12 mesi in pazienti affette da carcinoma mammario BRCA-correlato triplo-negativo o HR+HER2- ad alto rischio. Le pazienti sono arruolate dopo aver completato il trattamento chirurgico e chemioterapico adiuvante o neoadiuvante con antracicline, taxani o entrambi, con o senza carboplatino.

In attesa dei risultati degli studi clinici attualmente in corso, i dati disponibili sul possibile beneficio di trattamenti adiuvanti intensificati per pazienti con VP BRCA con carcinoma mammario ad alto rischio sono ad oggi non conclusivi. Lo studio HOCN BRE09-146 prevedeva la randomizzazione di pazienti con importante residuo di malattia (ypN+ o ypT>2cm) dopo chemioterapia neoadiuvante a base di antracicline e taxani a ricevere cisplatino +/- il PARP-inibitore rucaparib a basse dosi nel setting post-chirurgico. L'analisi finale di efficacia non ha permesso di osservare alcuna differenza in termini di DFS a 2 anni tra i due bracci di trattamento nella popolazione generale (n=128) nè nel sottogruppo di pazienti con VP germinale di BRCA(n=22) (23). La ridotta numerosità del sottogruppo di pazienti con VP BRCA incluse in tale studio non permette tuttavia di trarre conclusioni definitive.

Per quanto riguarda il trattamento endocrino, non vi è evidenza che le pazienti affette da carcinoma mammario BRCA-correlato debbano essere trattate diversamente rispetto a quelle affette da carcinoma mammario sporadico. Pertanto, il trattamento endocrino adiuvante deve essere somministrato in caso di positività per i recettori ormonali e quando clinicamente indicato, indipendentemente dallo stato BRCA. Appare tuttavia interessante il dato emerso da un'analisi cumulativa dei dati osservazionali relativi allo studio di coorte "International BRCA1, and BRCA2 Carrier" che ha incluso 2.464 pazienti portatrici di VP BRCA che hanno sviluppato carcinoma mammario unilaterale, secondo cui la somministrazione di tamoxifene come trattamento endocrino adiuvante è associata ad una riduzione del rischio di sviluppare carcinoma mammario controlaterale del 62% e del 67% nelle pazienti



con VP BRCA1 e BRCA2, rispettivamente, a prescindere dallo stato del recettore per l'estrogeno (24).

- **Nel setting adiuvante non esistono solidi dati prospettici sull'uso dei derivati del platino nelle pazienti con carcinoma mammario BRCA-correlato.**
- **Il possibile ruolo dei PARP-inibitori dovrà essere stabilito dagli studi in corso.**
- **Il trattamento endocrino adiuvante segue le stesse raccomandazioni date per le pazienti con carcinoma mammario senza VP BRCA.**

2.2-Donne con diagnosi di carcinoma mammario in fase metastatica

Recentemente sono stati pubblicati i risultati di due studi randomizzati di fase III che hanno valutato, in pazienti con carcinoma mammario metastatico HER-2 negativo e VP BRCA, l'efficacia di due differenti inibitori di PARP: olaparib e talazoparib (16, 17).

Lo studio OlympiAD ha arruolato 302 pazienti con carcinoma mammario HER2-negativo e con VP BRCA che non avevano ricevuto oltre due linee di chemioterapia per la malattia metastatica a ricevere olaparib in monoterapia (300 mg/os/ due volte al dì) verso chemioterapia (vinorelbina, capecitabina oppure eribulina, a scelta dello sperimentatore). La PFS è risultata statisticamente superiore nel gruppo di donne trattate con olaparib (7 mesi vs 4,2 mesi; (HR 0,58; 95% CI 0,43-0,80; $p < 0,001$) (16).

La PFS nelle pazienti ormonosensibili non ha mostrato alcun vantaggio rispetto alla chemioterapia di scelta dell'oncologo (HR=0,82, CI:0,55-1,26), mentre nelle pazienti triplo negative il vantaggio di PFS si è dimostrato ampiamente significativo (sopravvivenza a 12 mesi del 28% nel gruppo trattato con Olaparib vs. 0% nel gruppo trattato con chemioterapia), con una riduzione del rischio di progressione o morte del 57% (HR=0.43, CI:0.29-0.63). La sopravvivenza globale finale è risultata sovrapponibile nei 2 gruppi di trattamento (19,3 vs 17,1 mesi, rispettivamente, HR 0,90, 95% CI 0,66-1,23; $P=0,513$) (25).

Lo studio di fase III randomizzato EMBRACA, che ha portato alla registrazione FDA di talazoparib, ha confrontato l'inibitore di PARP con la chemioterapia scelta dal medico (capecitabina, vinorelbina, eribulina oppure gemcitabina) in



431 pazienti con VP BRCA affette da carcinoma mammario metastatico HER2 negativo (17). Le pazienti non dovevano aver ricevuto più di tre regimi citotossici per la malattia avanzata e dovevano aver ricevuto in adiuvante antraciclina o taxano o entrambi. 287 pazienti sono state randomizzate a ricevere talazoparib e 144 a ricevere chemioterapia. L'endpoint primario è stato la PFS valutata da una revisione centrale indipendente; questa è risultata statisticamente superiore nel braccio trattato con inibitore di PARP (8,6 mesi vs 5,6 mesi; HR= 0,54; 95% CI 0,41-0,71; $p < 0,001$).

Entrambi i sottogruppi trattati con talazoparib, luminale e triplo negativo, hanno mostrato un vantaggio significativo in PFS mediana rispetto alla chemioterapia (5,8 vs 2,9 mesi e 9,4 vs 6,7 mesi, rispettivamente) con un raddoppiamento del tasso di risposte (62,6% nel braccio con talazoparib vs 27,2% braccio con chemioterapia).

L'analisi ad interim della sopravvivenza globale condotta con un 57% degli eventi calcolati, dimostrava un trend di vantaggio del talazoparib con una riduzione del rischio di morte del 24%, anche se non risultava statisticamente significativo.

Le principali tossicità dei PARP inibitori sono l'anemia di grado ≥ 3 , la nausea e la fatigue di grado 1-2. Tuttavia, tali tossicità, che generalmente insorgono nei primi due mesi di trattamento, sono di facile gestione con adeguate terapie di supporto. Entrambi i farmaci, olaparib e talazoparib, hanno dimostrato un beneficio clinico significativo, anche in termini di probabilità di deterioramento della qualità di vita, per la terapia a base di olaparib rispetto alla chemioterapia.

La presenza di una variante patogenetica BRCA in donne con diagnosi di carcinoma mammario in fase metastatica può avere un impatto sulla scelta del trattamento antitumorale sistemico.

Attualmente in Italia un inibitore di PARP, olaparib, è utilizzabile nell'ambito di un programma compassionevole dal 28-2-2019 per le pazienti con carcinoma mammario metastatico con alterazione (VP) BRCA germinale, sia nei tumori tripli-negativi che in quelli recettori ormonali positivi/HER2-negativi



3- Test BRCA per la diagnosi di predisposizione ereditaria

Il test BRCA viene generalmente eseguito in primo luogo in una paziente con tumore della mammella o dell'ovaio che presenti caratteristiche cliniche e/o familiari sospette per una VP di BRCA (caso indice).

Tuttavia, nella pratica corrente è talvolta molto difficile o addirittura impossibile offrire il test al candidato più idoneo (ad esempio, nel caso di paziente oncologica deceduta oppure non disponibile a sottoporsi al test genetico). In questi casi è possibile valutare in ambito di consulenza genetica oncologica se e con quale approccio effettuare eventualmente il test su persone sane. In ogni caso, quando il risultato del test BRCA è informativo, cioè viene identificata una variante patogenetica o probabilmente patogenetica (vedi paragrafo 7), il test genetico mirato (cioè la ricerca della variante familiare) può essere esteso agli altri membri della famiglia che desiderino effettuarlo, a partire dai 18 anni di età. La probabilità di aver ereditato la variante è del 50% per ogni figlio di un individuo portatore di VP BRCA, indipendentemente dal sesso del genitore portatore, dal sesso del figlio e dal suo ordine di nascita nella fratria. La stessa probabilità, salvo situazioni particolari, si applica anche ai fratelli/sorelle di un individuo portatore.

Come già espresso in altri documenti (26,27), si ribadisce che il test genetico è parte di un percorso di valutazione genetica che richiede una conoscenza esperta dell'argomento che derivi da una formazione non episodica. Tale conoscenza è indispensabile per molti momenti del percorso di consulenza genetica pre-test e post-test (27).

La presenza di una VP BRCA individua donne sane che sono ad alto rischio di sviluppare carcinoma mammario e ovarico oppure, nel caso di donne già con una diagnosi di carcinoma mammario, quelle donne ad alto rischio di sviluppare un altro tumore primitivo mammario od ovarico.

Per quanto concerne l'entità di questo rischio, secondo un recente studio prospettico (8) su un'ampia coorte di donne portatrici di VP BRCA e sane al momento del test, la stima del rischio cumulativo medio di sviluppare una neoplasia mammaria e ovarica, a 80 anni in donne con VP BRCA, corrisponde al 72% per carcinoma mammario e 44% per carcinoma ovarico quando è coinvolto *BRCA1*; 69% per carcinoma mammario e 17% per carcinoma ovarico in caso di alterazione di *BRCA2* (Tabella 2).



Lo stesso studio riporta un alto rischio di tumore mammario controlaterale (Tabella 3).

Tabella 2 - Rischio cumulativo medio di carcinoma mammario e dell'ovaio a 80 anni in donne con VP BRCA (Modificata da Kuchenbaecher KB, 8).

	VP BRCA1	VP 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%)

Tabella 3 - Rischio età specifico di tumore della mammella controlaterale dopo la prima diagnosi (Modificata da Kuchenbaecker KB, 8)

Anni dopo la prima diagnosi	Rischio di tumore mammario controlaterale	
	BRCA1 (Deviazione Standard)	BRCA2 (Deviazione Standard)
< 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)

Strategie di riduzione del rischio in donne sane con VP BRCA

Le **strategie di riduzione del rischio** prevedono un programma di sorveglianza clinico-strumentale personalizzato e la valutazione di una chirurgia di riduzione del rischio (mastectomia e salpingo-ovariectomia), i cui rischi e benefici vanno discussi con la paziente (**consulenza oncogenetica post-test**).

Un modello probabilistico sviluppato da Kurian et al. (28) evidenzia che senza alcun intervento (cioè né screening né mastectomia profilattica) la probabilità di sopravvivenza a 70 anni è pari al 53% e al 71% rispettivamente per le portatrici di VP BRCA1 e BRCA2, rispetto all'84% della sopravvivenza della popolazione generale femminile USA, mentre la combinazione di mastectomia profilattica a 25 anni e di ovariectomia profilattica a 40 anni aumenta la sopravvivenza globale a 70 anni d'età fino al 79% nelle donne con VP BRCA1 e fino all'83%, simile a



quella della popolazione femminile generale (84%), nelle portatrici di VP *BRCA2*.

In questa fase, l'aspetto relazionale/comunicativo e l'attenzione agli aspetti psico-sociali è di fondamentale importanza al fine di aiutare la donna ad effettuare delle scelte consapevoli. Non possediamo ancora strumenti validati che aiutino i professionisti in questo ambito, per cui molto dipende dall'expertise dei singoli professionisti e dall'organizzazione in cui si trovano ad operare. Si sottolinea l'importanza di coinvolgere uno psicologo formato su questi argomenti nel team multidisciplinare.

Mastectomia bilaterale di riduzione del rischio

Al momento non vi è una chiara dimostrazione che una chirurgia mammaria di riduzione del rischio offra un beneficio in termini di sopravvivenza globale rispetto alla sorveglianza in donne sane portatrici di VP *BRCA*. I dati eterogenei, l'efficacia dei metodi di sorveglianza attiva in termini di diagnosi precoce e l'elevata possibilità di cura rendono improbabile la dimostrazione di un vantaggio in sopravvivenza, a differenza di quanto accade per il tumore ovarico.

Tuttavia, al momento la chirurgia rappresenta ancora la modalità più efficace di prevenzione primaria. L'intervento di mastectomia bilaterale è infatti in grado di ridurre di circa il 90% il rischio di sviluppare in futuro un tumore mammario, sebbene non sia possibile azzerarlo completamente, poiché permane un rischio residuo pari a circa l'1-2% (9). Il tipo di intervento può variare dalla mastectomia totale alla mastectomia skin sparing o nipple-skin sparing, che forniscono migliori risultati cosmetici. Sebbene i dati al riguardo siano limitati, la mastectomia nipple-sparing non sembra essere associata ad un aumentato rischio di recidiva locale e rappresenta in generale l'opzione di prima scelta, laddove sia tecnicamente fattibile.

La donna va informata dei benefici in termini di riduzione del rischio oncologico, che vanno ponderati rispetto ai rischi di complicanze e a alle possibili irreversibili conseguenze di una chirurgia estesa eseguita in un ambito di prevenzione e non di trattamento di una malattia.

La sede e il tipo di alterazione genetica (*BRCA1* vs *BRCA2*), varianti associate a rischi intermedi, la presenza/assenza di familiari con carcinoma mammario e l'età della donna vanno considerate nel processo decisionale, che va affrontato in maniera condivisa, rispettando le esigenze della donna e senza che il personale sanitario esprima un parere direttivo.

L'esecuzione della biopsia del linfonodo sentinella nelle pazienti sottoposte a una



mastectomia di riduzione del rischio non è raccomandata, ma potrebbe essere considerata in casi selezionati laddove sia presente un sospetto clinico-radiologico che non possa essere fugato con la diagnostica pre-operatoria.

Al momento la chirurgia rappresenta ancora la modalità più efficace di prevenzione primaria. L'intervento di mastectomia bilaterale è infatti in grado di ridurre di circa il 90% il rischio di sviluppare in futuro un tumore mammario, sebbene non sia possibile azzerarlo completamente, poiché permane un rischio residuo pari a circa l'1-2% (9).

Ad oggi, non è stato dimostrato che la mastectomia profilattica bilaterale determini un beneficio in termini di sopravvivenza globale

Salpingo-ovariectomia di riduzione del rischio

Sebbene in una donna portatrice di VP BRCA il rischio di sviluppare un carcinoma ovarico sia inferiore rispetto a quello di sviluppare un carcinoma mammario, la mancanza di metodi affidabili di diagnosi precoce e la prognosi infausta del carcinoma ovarico diagnosticato in fase avanzata portano a considerare l'intervento di annessiectomia bilaterale di riduzione del rischio come opzione principale da discutere, anche in assenza di storia familiare di carcinoma ovarico. Una metanalisi di 10 studi condotti in pazienti portatrici di VP BRCA ha mostrato una riduzione del rischio di carcinoma ovarico di circa l'80% dopo salpingo-ovariectomia bilaterale (29). Analogamente in un ampio studio prospettico condotto su 1.079 donne con VP BRCA, la salpingo-ovariectomia bilaterale era associata ad una riduzione di rischio di tumori ginecologici (carcinomi ovarici, delle tube di falloppio, peritoneali) dell'85% rispetto al gruppo di controllo ad un follow mediano di tre anni (30).

In uno studio retrospettivo l'ovariectomia era associata ad una riduzione dell'80% di rischio di neoplasia ovarica, delle tube di Falloppio o di carcinoma primitivo peritoneale nelle carriers di VP BRCA1 o BRCA2 e al 77% di riduzione di morte per tutte le cause.

Dopo salpingectomia e ovariectomia profilattica residua comunque un rischio pari al 5% di sviluppare un tumore primitivo del peritoneo.

L'intervento di salpingo-ovariectomia bilaterale in donne portatrici di VP BRCA è inoltre correlato anche con una riduzione del rischio di carcinoma mammario



del 50% circa in relazione alla diminuita esposizione ormonale che segue la rimozione chirurgica delle ovaie. La maggiore riduzione del rischio di carcinoma mammario è stata osservata in donne con VP BRCA1 sottoposte all'intervento di salpingo-ovariectomia ad un'età inferiore o uguale a 40 anni.

La salpingo-ovariectomia bilaterale dovrebbe essere raccomandata come opzione di riduzione del rischio a tutte le donne portatrici di VP BRCA a partire dall'età di 35-40 anni e comunque dopo avere soddisfatto il desiderio di prole. L'asportazione chirurgica dovrebbe comprendere le ovaie e le tube. Dopo l'intervento, al fine di identificare carcinomi occulti delle tube di Falloppio bisognerebbe seguire uno specifico protocollo patologico di dissezione delle tube specifico. In considerazione del rischio residuo di sviluppare un tumore primitivo del peritoneo (legato alla possibile presenza di isole di tessuto ovarico peritoneale che potrebbero evolvere in carcinoma), il dosaggio del CA125 dovrebbe continuare ad essere effettuato anche dopo l'intervento.

La rimozione dell'utero generalmente non è indicata, anche se nelle donne portatrici di VP BRCA1 è stato visto un incremento statisticamente significativo di tumori dell'endometrio di tipo sieroso; questa informazione andrebbe fornita durante la consulenza genetica oncologica (31). L'istero-annessiectomia effettuata in donne portatrici di VP BRCA1 entro l'età di 40 anni dimostra un guadagno di 4,9 mesi di vita ed è ritenuta cost-effective (32)

Per evitare la menopausa anticipata indotta dalla salpingo-ovariectomia e migliorare la qualità di vita, alcuni studi stanno valutando la possibilità di eseguire una salpingectomia in giovane età con ovariectomia ritardata come procedura alterativa nelle donne portatrici di VP BRCA (33-35). Il razionale è basato sull'osservazione che i carcinomi sierosi associati a VP BRCA avrebbero insorgenza a partire dalle tube, in particolare dalle fimbrie; per questo motivo è stata anche proposta la fimbriectomia come procedura chirurgica iniziale. Tali approcci non sono comunque ancora validati per la pratica clinica.



La salpingo-ovariectomia bilaterale profilattica è associata ad una riduzione dell'80% di rischio di neoplasia ovarica, delle tube di Falloppio o di carcinoma primitivo peritoneale nelle carriers di VP BRCA1 o BRCA2 e al 77% di riduzione di morte per tutte le cause.

Dopo salpingo-ovariectomia profilattica residua comunque un rischio pari al 5% di sviluppare un tumore primitivo del peritoneo.

L'intervento di salpingo-ovariectomia bilaterale in donne portatrici di VP BRCA è inoltre correlato anche con una riduzione del rischio di carcinoma mammario del 50% circa.

Programma di sorveglianza clinico-strumentale

Per quanto riguarda le strategie di sorveglianza consigliate in donne portatrici di VP BRCA non sottoposte a chirurgia profilattica, sono recentemente state pubblicate le linee guida della US Preventive Task Force che definiscono alcune raccomandazioni sulla base di una revisione sistematica (36) la quale non mostra vantaggi nell'effettuare uno screening intensivo in donne a rischio genetico. La RM annuale può dare una maggiore percentuale di falsi positivi ma in associazione alla mammografia mostra una sensibilità prossima al 100% (37,38).

Una recente revisione sistematica del rapporto costo-efficacia delle strategie di riduzione del rischio ha dimostrato un vantaggio della RM annuale associata alla mammografia nelle donne portatrici di VP BRCA, anche se nessuno studio ha evidenziato un vantaggio in sopravvivenza (32).

L'aggiunta dell'ecografia mammaria alla mammografia rispetto alla sola mammografia è stata valutata in alcuni studi prospettici su donne a rischio dimostrando un incremento pari ad 1.1 per 1000 persone anno di detection rate, anche se questo ha prodotto un contestuale aumento di falsi positivi (39).

A partire dal 2012, diverse regioni italiane hanno predisposto linee guida o percorsi per i tumori ereditari della mammella/ovaio che prevedono l'utilizzo della RM mammaria annuale nelle donne con VP BRCA. L'associazione dell'ecografia mammaria e della mammografia alla RM è prevista invece con modalità e tempistiche differenti, rispecchiando la



diversa interpretazione delle conoscenze disponibili in un'ottica di percorso assistenziale (es. alcuni percorsi non prevedono l'ecografia di routine, altri alternano ogni 6 mesi RM e mammografia).

È auspicabile che nei prossimi anni si rendano disponibili i dati derivati dal monitoraggio dei percorsi in atto, al fine di valutare l'adesione delle donne ed i risultati in termini di diagnosi precoce attraverso indicatori comuni nazionali.

Chemioprevenzione

L'American Society of Clinical Oncology (ASCO) nel 2009 ha confermato il ruolo del tamoxifene (20 mg/die per 5 anni) quale agente chemiopreventivo per le donne a rischio di insorgenza di carcinoma mammario (indice ≥ 1.66 secondo algoritmo di Gail nei confronti delle forme estrogeno-dipendenti), ma i dati relativi alle portatrici sane di VP *BRCA1/2* sono molto limitati. Tutti gli studi prospettici ad oggi condotti in questa popolazione hanno fallito nel dimostrare un effetto statisticamente significativo nel ridurre il rischio di neoplasia mammaria per l'esiguo numero di donne valutate (40).

Una metanalisi pubblicata nel 2015 ha invece riportato una significativa riduzione del rischio di carcinoma mammario controlaterale, pari al 53% e al 61% nelle donne con VP rispettivamente di *BRCA1* e *BRCA2* (41). Tuttavia sono necessari ulteriori studi per valutare i pro e i contro del tamoxifene in queste pazienti. In Italia, con la determina del 29.11.2017, AIFA ha inserito il tamoxifene nell'elenco dei medicinali erogabili a totale carico del Servizio Sanitario Nazionale istituito ai sensi della legge 23 dicembre 1996, n. 648, per il trattamento preventivo del carcinoma mammario in donne ad alto rischio (donne con rischio di sviluppare un tumore della mammella nei futuri 5 anni $\geq 1.66\%$ secondo il modello di Gail (42) o con un rischio $> 8\%$ a 10 anni nella decade 40-50 o $>30\%$ lifetime secondo il modello Tyrer-Cuzick (43).

Inoltre, con la medesima determina del 29.11.2017 AIFA ha inserito raloxifene nell'elenco dei medicinali erogabili a totale carico del Servizio Sanitario Nazionale per il trattamento preventivo del carcinoma mammario in donne in post-menopausa ad alto rischio (rischio di sviluppare un carcinoma mammario nei futuri 5 anni $>1.66\%$ secondo il modello Gail o con un rischio $>8\%$ a 10 anni nella decade 40-50 o $>30\%$ lifetime secondo Tyrer-Cuzick) (44)

Ad oggi l'indicazione all'uso degli inibitori dell'aromatasi per la chemioprevenzione del cancro della mammella non è registrata in alcun Paese ed il loro utilizzo è quindi off-label.



- **Un trattamento di chemioprevenzione con tamoxifene 20 mg/die per 5 anni non ha dimostrato un beneficio reale nella prevenzione dell'insorgenza di neoplasia mammaria nelle donne sane portatrici di VP BRCA.**
- **Il tamoxifene è consigliato nelle pazienti con carcinoma mammario portatrici di VP di BRCA per ridurre l'incidenza di tumore controlaterale.**
- **Nelle donne sane portatrici di VP BRCA, non è indicato l'utilizzo di inibitori di aromatasi in chemioprevenzione.**

Modificazione dello stile di vita (dieta e attività fisica)

L'eventuale impatto dello stile di vita e della dieta sul rischio di carcinoma mammario nelle donne portatrici di VP BRCA è stato valutato in alcuni studi. È stato evidenziato che l'introito calorico totale e il sovrappeso in età adulta si correlano ad un maggior rischio di carcinoma mammario (45).

È stata anche dimostrata una correlazione inversa tra dieta sana e rischio di carcinoma mammario e l'attività fisica effettuata durante l'adolescenza sembra associarsi ad una riduzione del rischio di carcinoma mammario (46,47).

Uno studio caso-controllo in famiglie con tumori mammari ed ovarici ha dimostrato che livelli sierici elevati di IGF-1 si associano ad una aumentata penetranza dei geni BRCA (48). Pertanto, è stato attivato uno studio randomizzato controllato in donne con VP BRCA rivolto a valutare gli effetti della dieta e dell'attività fisica sulla riduzione dei livelli di IGF-1 (49)

Fattori ormonali e rischio di carcinoma mammario in donne con VP BRCA

Nonostante diversi fattori ormonali e riproduttivi rientrino tra i principali fattori di rischio accertati per lo sviluppo di carcinoma mammario nella popolazione generale, il loro ruolo nelle donne portatrici di VP BRCA è ancora oggi oggetto di dibattito.

Storia riproduttiva

Ad oggi non ci sono studi conclusivi sull'impatto della parità sul rischio di



sviluppo di carcinoma mammario in donne portatrici di VP BRCA. Una meta-analisi del 2014 che ha incluso 7 studi caso-controllo e 3 studi di coorte retrospettivi (10.807 casi di carcinoma mammario e circa 10.591 controlli portatori di mutazione di BRCA) non ha riportato alcuna associazione tra parità e rischio di carcinoma mammario nelle pazienti portatrici di VP BRCA 1 o 2 (50). Più recentemente, uno studio retrospettivo che ha incluso 2522 donne ad aumentato rischio genetico o familiare per carcinoma mammario ha riportato che, tra le donne portatrici di VP BRCA, quelle con almeno 1 gravidanza a termine presentavano una riduzione del rischio di sviluppare carcinoma mammario del 73% rispetto alle nullipare, con un effetto protettivo crescente all'aumentare del numero di gravidanze (51).

Per quanto riguarda l'allattamento, è stato riportato nella meta-analisi precedentemente citata che esso si associa ad una riduzione del rischio di carcinoma mammario del 26% in donne portatrici di VP BRCA quando di durata superiore ad 1-2 anni (50). Tuttavia, nel più recente studio di Toss et al (51), è stato riportato che l'allattamento si associa ad una riduzione del rischio di carcinoma mammario di circa il 75% indipendentemente dalla sua durata (superiore od inferiore ad 1 anno).

Esposizione ormonale esogena

Nella popolazione generale, l'utilizzo della pillola anticoncezionale è stato associato ad un modesto incremento del rischio di sviluppo di carcinoma mammario, che progressivamente tende a diminuire dopo la sospensione (52,53). Tuttavia, alla luce del riconosciuto effetto protettivo sul rischio di sviluppo di carcinoma ovarico, una adeguata definizione della sicurezza della pillola anticoncezionale in termini di rischio di carcinoma mammario appare di grande interesse nella popolazione di donne portatrici di VP BRCA. In una metanalisi del 2010, che ha incluso 7 studi retrospettivi di coorte e 2 studi caso-controllo, è stato riportato che il rischio di sviluppare carcinoma mammario non è influenzato né dall'utilizzo di pillola anticoncezionale con le recenti formulazioni né dalla durata di tale utilizzo. Viceversa, le formulazioni precedenti al 1975 e pertanto attualmente obsolete, sono state associate ad un incremento del rischio di sviluppare carcinoma mammario tra le donne portatrici di VP BRCA (54). Tale dato è stato in parte confermato in una metanalisi che ha incluso 9 studi (5 caso-controllo, 3 caso-caso e 1 di coorte) di donne con VP BRCA. Nonostante tale metanalisi non abbia riportato alcun aumento significativo del rischio di carcinoma mammario associato all'utilizzo della pillola anticoncezionale, gli autori concludono che i dati in merito sono altamente eterogenei e non conclusivi (55). Più recentemente uno studio retrospettivo che ha incluso una coorte di



2.527 donne ad elevato rischio genetico o familiare per carcinoma mammario, di cui 113 portatrici accertate di VP BRCA, ha riportato che l'utilizzo della pillola anticoncezionale non è associato ad un incremento del rischio di carcinoma mammario, indipendentemente dalla durata dell'assunzione, in tutte le categorie di rischio genetico/familiare (56). Tuttavia, in uno studio caso-controllo che ha incluso 2.492 portatrici di VP *BRCA1* è stato riportato un incremento del rischio di carcinoma mammario ad insorgenza precoce nelle donne che avevano avviato la pillola concezionale prima dei 20-25 anni, con incremento del rischio proporzionale alla durata di utilizzo, suggerendo pertanto cautela nel suggerire tale intervento in donne portatrici di VP BRCA di età inferiore ai 25 anni (57).

Come ampiamente discusso nella sezione dedicata, la salpingo-ovariectomia bilaterale profilattica rappresenta l'opzione principale di intervento di riduzione del rischio sia di carcinoma ovarico sia di carcinoma mammario per donne portatrici della VP BRCA1/2, con conseguente induzione di una menopausa chirurgica. Essa, tuttavia, può associarsi a sintomatologia climaterica anche severa, sotto forma di vampate di calore, disfunzioni dell'apparato urogenitale e della sfera sessuale, disturbi del ritmo sonno-veglia ed alterazioni cognitive, con impatto sulla qualità della vita. Nonostante l'utilizzo della terapia ormonale sostitutiva venga in alcuni casi preso in considerazione allo scopo di alleviare tale sintomatologia, i dati disponibili sulla sicurezza di tale intervento nella popolazione di donne portatrici di VP BRCA non sono conclusivi, sebbene rassicuranti. Uno studio prospettico che ha incluso 462 donne portatrici di VP BRCA ha riportato che la terapia ormonale sostitutiva a breve termine non riduce l'effetto protettivo sulla riduzione del rischio di sviluppo di carcinoma mammario determinato dalla salpingo-ovariectomia (58).

Ad oggi non abbiamo evidenze conclusive sulla sicurezza dell'utilizzo di tecniche di riproduzione assistita in donne portatrici di VP BRCA. Uno studio caso controllo (circa 1.380 casi di pazienti con diagnosi di carcinoma mammario BRCA correlato e circa 1.380 controlli di donne portatrici di VP *BRCA 1* o *2* che non hanno sviluppato carcinoma mammario), suggerisce che il ricorso a tecniche di riproduzione assistita (farmaci per la fertilità a base di clomifene, gonadotropine o altro, o tecniche di fecondazione in vitro) non incrementi il rischio di insorgenza di carcinoma mammario. Tuttavia, la natura esploratoria di questo studio e la bassa numerosità impongono la necessità di ulteriori studi confirmatori (59).



4- BRCA e carcinoma della mammella maschile

Il carcinoma della mammella maschile è una neoplasia rara, rappresenta circa l'1% di tutti i tumori mammari e meno dell'1% dei tumori maschili. In Italia si stima che il tumore mammario interessi circa un uomo ogni 600. La sua incidenza sta lievemente aumentando e si estende anche alla fascia di età sotto i 50 anni, anche se l'età più a rischio è tra i 60 e i 70 anni (60).

Spesso a causa della minor consapevolezza nella popolazione, il carcinoma della mammella nell'uomo viene diagnosticato in uno stadio e a un'età più avanzata che nella donna, e questo può risultare nel complesso un fattore prognostico sfavorevole.

Circa il 20% degli uomini affetti da carcinoma della mammella ha storia familiare di carcinoma mammario in parenti di primo grado di sesso femminile, circa il 2% sviluppa un secondo tumore mammario e più del 20% sviluppa un secondo tumore non mammario (prevalentemente alla prostata), nell'insieme suggerendo un importante ruolo della componente genetica in questa malattia (61,62).

Si stima che circa il 10% degli uomini con carcinoma mammario abbia una predisposizione genetica alla malattia che, nella maggior parte dei casi, è determinata, da varianti patogenetiche (VP) ereditarie dei geni *BRCA1* e *BRCA2* (63).

VP germinali dei geni *BRCA* si trovano spesso in uomini affetti da carcinoma mammario che hanno una storia familiare per questa neoplasia, ma anche in uomini affetti senza storia familiare. Quindi, indipendentemente dalla storia familiare, ogni uomo con carcinoma mammario dovrebbe essere sottoposto a *screening* genetico per valutare la possibile presenza di VP nei geni *BRCA* fornendo così importanti informazioni genetiche per tutti i membri della stessa famiglia. Secondo le linee guida NCCN, ASCO e AIOM (Tabella 1), la diagnosi di carcinoma mammario maschile è sufficiente per raccomandare i test genetici *BRCA*.

VP ereditarie di *BRCA2* hanno un ruolo predominante rispetto a *BRCA1* nel determinare la suscettibilità al carcinoma mammario maschile. Si stima che le VP in *BRCA2* siano responsabili di circa il 60-70% dei casi di carcinoma mammario maschile che si verificano nelle famiglie ad alto rischio, mentre la frequenza di VP in *BRCA1* è di circa il 10-15%.



Gli uomini portatori di VP in *BRCA1* e *BRCA2* hanno un rischio stimato di carcinoma mammario rispettivamente pari a 1-5% e 5-10%, rispetto allo 0.1% della popolazione generale.

Ci sono inoltre evidenze che suggeriscono che i tumori mammari maschili associati a VP in *BRCA2* rappresentino un sottogruppo di tumori con un fenotipo peculiare, non identificato nella controparte femminile, caratterizzato da alto grado tumorale, e siano verosimilmente più aggressivi dei corrispettivi tumori mammari femminili associati a VP in *BRCA2*.

Così come per la donna, anche per l'uomo i geni *BRCA* sono oggetto di linee guida riguardo la sorveglianza e lo screening per il cancro della mammella nei portatori di VP (2,64). Le linee guida includono in particolare raccomandazioni per l'informazione ed educazione all'autopalpazione del seno ed esame clinico a partire dall'età di 30-35 anni. Le linee guida includono inoltre raccomandazioni per la prevenzione e lo *screening* del carcinoma prostatico, anch'esso associato a VP nei geni *BRCA*, in particolare *BRCA2*, a partire dai 40-45 anni.

A differenza della donna, per l'uomo portatore di una VP nei geni *BRCA* e affetto da carcinoma mammario, non sono attualmente disponibili dati sufficienti per raccomandare specifici trattamenti terapeutici e di riduzione di rischio. D'altra parte, recenti dati (TOPARP-B phase II study, ASCO 2019) sul carcinoma prostatico associato a VP *BRCA* hanno dimostrato un potenziale terapeutico per gli inibitori di PARP. L'associazione tra carcinoma mammario maschile e deficit di *BRCA* suggerisce la potenziale applicabilità di terapie mirate anche per il carcinoma mammario maschile.

Ulteriori studi sul ruolo di geni *BRCA* nei pazienti di sesso maschile sono necessari e fondamentali al fine di migliorare, anche per gli uomini, l'appropriatezza e la personalizzazione della gestione clinica, a partire dalla consulenza genetica, allo *screening*, alla diagnosi precoce, fino alla scelta dei trattamenti terapeutici più adeguati, come recentemente raccomandato dalla Food and Drug Administration (65).

5- Tipologie di test *BRCA*

Attualmente, il **test *BRCA* su sangue periferico (test costituzionale o germinale)** per la ricerca di VP 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 VP a carico di questi geni. 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 VP 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 sbilanciati in *BRCA1/2*, che possono essere anche individuati mediante le 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 (66,67).

Le VP BRCA di tipo costituzionale (presenti in ogni cellula dell'organismo) identificabili in pazienti affette da carcinoma mammario sono solitamente ereditate dalla madre o dal padre e raramente sono comparse per effetto di mutazioni *de novo* (meno dell'1% dei casi); in entrambi i casi, sono trasmissibili ai figli (50% di probabilità per ogni figlio/a).

Le evidenze attualmente disponibili non supportano il test BRCA su tessuto tumorale. E' tuttavia probabile che la prevalenza di VP somatiche in *BRCA1/2* sia più alta di quanto ritenuto in precedenza. In uno studio che include 273 pazienti svedesi con carcinoma della mammella, la prevalenza di VP somatiche BRCA è risultata pari a ~ 1/3 di quelle totali identificate, mentre 2/3 avevano origine germinale (68).

È possibile quindi che in futuro si renda importante a scopo terapeutico ricercare le varianti su tessuto tumorale, similmente a quanto accade per il carcinoma ovarico (27). Allo stato attuale, il test somatico può essere effettuato nell'ambito di studi a fini di ricerca.

6- Tempistica di refertazione

I tempi di refertazione possono variare a seconda della finalità per la quale si conduce il test e sono stati più volte condivisi nell'ambito di tavoli tecnici. La processività dipende molto dal numero di campioni processati dal laboratorio: laboratori con bassa capacità (*throughput* bassi) difficilmente possono assicurare



tempistiche rapide, se si tiene conto della necessità di contenimento dei costi e di una riproducibilità dei dati stessi.

Ai fini clinici, però, quando ci si riferisce al trattamento (chemioterapia o chirurgia profilattica) il test andrebbe assicurato entro 30-40 giorni dall'arrivo del campione (sangue) al laboratorio. Nel caso di chirurgia dopo terapia neoadiuvante tale tempistica è pienamente accettabile. Nello scenario di chirurgia primaria seguita da terapia adiuvante tale tempistica può rispondere alle esigenze cliniche solo a patto di una perfetta coordinazione del gruppo multidisciplinare di diagnosi e cura (richiesta immediata del test al momento della diagnosi e percorso di urgenza in laboratorio).

Nello scenario di un test genetico completo nell'ambito di consulenza per rischio genetico a livello familiare la finestra temporale potrà essere più ampia.

7- 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 (69), è opportuno adottare i criteri sviluppati dall'*Evidence-based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles* (ENIGMA), disponibili sul sito web del consorzio (70), in quanto più specifici e frutto di un'ampia collaborazione di esperti internazionali. ENIGMA classifica le varianti in cinque categorie, secondo le indicazioni IARC (71): benigna, probabilmente benigna, incerta, probabilmente patogenetica e patogenetica (vedi Tabella 4).

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 (72). In questo 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



(73), 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 (71) criteri specifici per l'interpretazione del significato clinico (accertamento di rischio ereditario) delle varianti costituzionali dei geni BRCA

Dal punto di vista clinico, alle donne portatrici di varianti probabilmente patogenetiche (classe 4) vengono proposte le stesse misure di prevenzione/riduzione del rischio proposte alle donne con varianti patogenetiche (classe 5) (pur sapendo che 1 su 20 delle varianti di classe 4 verrà successivamente ri-classificata come “non patogenetica”) mentre in presenza di una variante di incerto significato (classe 3) le indicazioni di prevenzione/riduzione del rischio devono basarsi sulla storia personale/famigliare in attesa di una riclassificazione della variante (la maggior parte delle varianti di classe 3 verranno riclassificate come classe 1).

In presenza di varianti probabilmente benigne (classe 2) o benigne (classe 1), il risultato del test è considerato normale, e le indicazioni di prevenzione/riduzione del rischio devono basarsi sulla storia personale/famigliare perché i limiti attuali dei test genetici non consentono di escludere la presenza di una forma ereditaria di predisposizione (i test attuali non riescono ad identificare la totalità delle VP BRCA oppure possono essere implicati altri geni).

Analogamente sono da considerarsi “non informativi” rispetto al quesito di predisposizione ereditaria, e gestiti sulla base della situazione di storia oncologica personale/famigliare, tutti i casi in cui non viene identificata alcuna variante BRCA di classe 3, 4 o 5 (ovvero la maggior parte dei casi sottoposti a test BRCA).



Tabella 4-Classificazione Varianti BRCA secondo ENIGMA

Classe 5: patogenetica	Classe 4: probabilmente patogenetica	Classe 3: incerta	Classe 2: probabilmente non patogenetica	Classe 1: non patogenetica
<p>Probabilità di patogenicità > 99% con modelli multifattoriali 0</p> <p>Delezioni che alterano un dominio funzionale proteico 0</p> <p>Duplicazioni che alterano un dominio funzionale proteico 0</p>	<p>Probabilità di patogenicità 0,95-0,99 con modelli multifattoriali 0</p> <p>Sito di splicing canonico non testato che non predice una isoforma naturale 0</p> <p>Codifica di un aminoacido già valutato come missense patogenico +</p> <p>Nessuna evidenza di splicing aberrante +</p> <p>Assenza dai gruppi di controllo di riferimento</p>	<p>Probabilità di patogenicità 0,05-0,949 con modelli multifattoriali 0</p> <p>Insufficiente evidenza per classificarla 0</p> <p>Variante di splicing con difficoltà di interpretazione 0</p>	<p>Probabilità di patogenicità 0,001-0,049 con modelli multifattoriali 0</p> <p>Cambiamento che codifica lo stesso aminoacido considerato non patogenico e non evidenza di aberrazioni all' mRNA</p>	<p>Probabilità di patogenicità <0,001 con modelli multifattoriali 0</p> <p>Frequenza allelica $\geq 1\%$ nei gruppi di controllo 0</p> <p>Variante intronica od esonica con probabilità a priori secondo A-GVGD $\leq 2\%$ +</p> <p>Variante in trans con una variante patogenetica e nessun fenotipo oltre al tumore mammario +</p> <p>Bassa probabilità di alterare lo splicing o alta probabilità di alterare lo splicing senza alcuna evidenza di aberrazione dello splicing dell' mRNA</p>
<p>Saggio di splicing dell' mRNA che altera un dominio funzionale proteico 0</p> <p>Frameshift che porta ad un codon di stop prematuro</p>	<p>Delezione in-frame per cui una variante patogenetica è già stata descritta +</p> <p>Assenza dai gruppi di controllo di riferimento</p>	<p>Variante di rischio intermedio</p>		



8- OPEN QUESTIONS

1. **Poiché nei prossimi anni è atteso un notevole incremento della richiesta di test genetici, può essere auspicabile istituire un “mini-counseling”, per ridurre i tempi di attesa e il carico di lavoro per le figure professionali impegnate nel processo di counseling oncogenetico.**

Il mini-counseling dovrebbe essere effettuato entro 1 settimana dalla diagnosi istologica.

Si ribadisce che una conoscenza esperta è richiesta anche nel caso del cosiddetto “mini-counseling” perché durante un breve colloquio occorre riuscire a veicolare in un breve tempo i contenuti fondamentali della consulenza genetica pre-test adattandoli alla situazione oncologica e familiare della paziente.

2. **Il test genetico dovrebbe includere altri geni oltre allo studio di BRCA1/2? Quando è raccomandabile eseguire un’analisi di un pannello di geni? Quali geni andrebbero inseriti nel pannello?**

Numerosi altri geni sono stati implicati nella predisposizione ereditaria a tumori della mammella e, in base al rischio conferito, possono essere classificati ad alta, media e bassa penetranza. I principali sono *TP53*, *STK11*, *PTEN*, *CDH1*, geni associati a sindromi tumorali ereditarie che includono il tumore mammario nello spettro dei tumori e che conferiscono un elevato rischio, *PALB2* che conferisce un rischio medio/alto, *CHEK2* e *ATM* che sono associati ad un rischio intermedio. Diversi laboratori usano di routine pannelli multigenici che possono includere alcuni o tutti i geni sopra menzionati. Il vantaggio dell’uso di questi pannelli multigenici è quello dell’aumento della resa diagnostica, poiché si individuano casi ereditari aggiuntivi non determinati dai geni *BRCA*. Dall’altro lato, aumenta la frazione di test con varianti di significato sconosciuto. Inoltre, l’inclusione di geni a penetranza intermedia è oggetto di ampio dibattito, e le raccomandazioni al riguardo sono variabili. Un’opzione potrebbe essere quella di utilizzare pannelli comprendenti esclusivamente geni “ clinicamente utili”, corrispondenti ai geni ad alta penetranza per il carcinoma mammario, per i quali le raccomandazioni sono abbastanza uniformi. Anche in questo caso va comunque considerato che alterazioni di questi geni sono generalmente associate a caratteristiche specifiche (Tabella 5), e di conseguenza il sospetto di un loro coinvolgimento



dovrebbe essere già posto su base clinica (associazione con altre neoplasie, caratteristiche istologiche, manifestazioni non tumorali associate).

L'uso dei pannelli deve comunque consentire di mantenere livelli accettabili di sensibilità per i geni BRCA.

Tabella 5: Sindromi ereditarie associate ad un alto rischio di tumore della mammella

SINDROME	SPETTRO TUMORALE	GENI
TUMORI EREDITARI MAMMELLA/OVAIO	Mammella, ovaio, utero, prostata, pancreas, melanoma	<i>BRCA 1</i> <i>BRCA2</i>
LI-FRAUMENI	Sarcomi, mammella, leucemia, SNC, carcinoma surrenalico, encefalo, altri	<i>TP53</i>
COWDEN/PHTS ¹	Mammella, tiroide, endometrio	<i>PTEN</i>
PEUTZ-JEGHERS	Colon-retto, stomaco, ovaio, testicolo, cervice uterina, pancreas, mammella	<i>STK11</i>
<i>PALB2</i> ^{2,3}	Mammella, ovaio, pancreas	<i>PALB2</i>
<i>ATM</i> ^{2,3,4}	Mammella, stomaco	<i>ATM</i>
<i>CHEK2</i> ^{2,3}	Mammella	<i>CHK2</i>

¹ PHTS: *PTEN* Hamartoma Tumor Syndrome

² Non sono in uso definizioni specifiche per le forme di predisposizione legate a questi geni, per cui viene indicata qui solo la sigla del rispettivo gene di rischio

³ VP bialleliche di *PALB2* e *ATM* sono causa rispettivamente di un sottotipo di anemia di Fanconi e della atassia-teleangectasia, patologie autosomiche recessive

⁴ Geni di penetranza intermedia (utilità clinica e tipo di raccomandazioni non univoche)



Bibliografia

- 1) Linea Guida AIOM 2019- Neoplasie della mammella- www.aiom.it
- 2) NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast and Ovarian. Version 3.2019. <http://www.nccn.org>
- 3) Pierce LJ, Phillips KA, Griffith KA, et al. Local therapy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers with operable breast cancer: comparison of breast conservation and mastectomy. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 121:389-398
- 4) Nilsson MP, Hartman L, Kristoffersson U, et al. High risk of in-breast tumor recurrence after BRCA1/2-associated breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2014; 147:571–578
- 5) Hallam S, Govindarajulu S, Hockett B, Bahl A. BRCA1/2 mutation-associated breast cancer, wide local excision and radiotherapy or unilateral mastectomy:a systematic review *Clin Oncol* 2015; 527-35
- 6) Valachis A, Nearchou Ad, Lind P, et al. Surgical management of breast cancer in BRCA-mutation carriers: a systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2014; 144:443-455
- 7) Evron E., Ben-David AM, Goldberg H. et al., Prophylactic irradiation to the contralateral breast for BRCA mutation carriers with early-stage breast cancer. *Annals of Oncology* 2019: 1–6
- 8) Kuchenbaecher KB, Hopper JL, Barner DR, et al. Risks of breast, ovarian, and contralateral breast cancer for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *JAMA* 2017;23:2402-2416
- 9) Domchek SM, Friebel TM, Singer CF, et al. Association of risk-reducing surgery in BRCA1 or BRCA2 mutation carrier risk and mortality. *JAMA* 2010; 304:967-975
- 10) Cortesi L, Razzaboni E, Toss A, et al. A rapid genetic counseling and testing in newly diagnosed breast cancer is associated with high rate of risk-reducing mastectomy in BRCA1/2-positive Italian women. *Ann Oncol* 2014; 25:57-63
- 11) Silver DP, Richardson AL, Eklund AC, et al. Efficacy of neoadjuvant cisplatin in triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol.* 2010;28:1145-1153.
- 12) Byrski T, Huzarski T, Dent R, et al. Pathologic complete response to neoadjuvant cisplatin in BRCA1-positive breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* 2014;147:401-405.
- 13) Gómez HL, Prat A, Moreno F, et al. Efficacy of neoadjuvant carboplatin plus docetaxel in triple negative breast cancer : Combined analysis of two cohorts. *Clin Cancer Res* 2017;23:649-657.



- 14) Von Minckwitz G, Schneeweiss A, Loibl S, et al. Neoadjuvant carboplatin in patients with triple-negative and HER2-positive early breast cancer (GeparSixto; GBG 66): A randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2014;15:747-756.
- 15) Hahnen E, Lederer B, Hauke J, et al. Germline mutation status, pathological complete response, and disease-free survival in triple-negative breast cancer: Secondary analysis of the GeparSixto randomized clinical trial. *JAMA Oncol* 2017;3:1378-1385.
- 16) Robson M, Im S-A, Senkus E, et al. Olaparib for Metastatic Breast Cancer in Patients with a Germline BRCA Mutation. *N Engl J Med*. 2017;377:523-533.
- 17) Litton JK, Rugo HS, Ettl J, et al. Talazoparib in Patients with Advanced Breast Cancer and a Germline BRCA Mutation. *N Engl J Med*. 2018;379:753-763.
- 18) Loibl S, O'Shaughnessy J, Untch M, et al. Addition of the PARP inhibitor veliparib plus carboplatin or carboplatin alone to standard neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer (BrighTNess): a randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2018;19:497-509.
- 19) Litton JK, Scoggins M, Hess KR, et al. Neoadjuvant talazoparib (TALA) for operable breast cancer patients with a BRCA mutation (BRCA+). *J Clin Oncol*. 2018;36(15_suppl):508.
- 20) Balmaña J, Díez O, Rubio IT, Cardoso F. BRCA in breast cancer: ESMO clinical practice guidelines. *Ann Oncol* 2011;22(Suppl 6):31-34.
- 21) NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Breast Cancer. Version 3.2019. <http://www.nccn.org>.
- 22) Dieci MV, Del Mastro L., Cinquini M et al., Inclusion of platinum-agents in neoadjuvant triple-negative breast cancer patients: development of GRADE (Grades of Recommendation, Assessment, Development and Evaluation) recommendation by the Italian Association of Medical Oncology. *Cancers (Basel)* 2019;11(8)
- 23) Miller KD, Tong Y, Jones DR, et al. Cisplatin with or without rucaparib after preoperative chemotherapy in patients with triple negative breast cancer: Final efficacy results of Hoosier Oncology Group BRE09-146. *J Clin Oncol* 2015; 33 (Suppl 15):1082-1082
- 24) Phillips KA, Milne RL, Rookus MA, et al. Tamoxifen and risk of contralateral breast cancer for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *J Clin Oncol*. 2013 ;31:3091-9.
- 25) Robson ME, Tung N, Conte P, et al.. OlympiAD final overall survival and tolerability results: Olaparib versus chemotherapy treatment of physician's choice in patients with a germline BRCA mutation and HER2-negative metastatic breast cancer. *Ann Oncol*. 2019;30:558-566
- 26) <http://www.sigu.net>: Consulenza genetica e test genetici in oncologia: aspetti critici e proposte di AIOM-SIGU 2013
- 27) Gori S, Barberis M, Bella MA , et al. Recommendations for the implementation of BRCA testing in ovarian cancer patients and their relatives. *Clin Rev Oncol Hematol* 2019; 140:67-72



- 28) Kurian AW, Sigal BM, Plevritis SK. Survival analysis of cancer risk reduction strategies for BRCA1/2 mutation carriers. *J Clin Oncol* 2010; 28:222-231
- 29) Rebbeck TR, Kauff ND, Domchek SM. Meta-analysis of risk reduction estimates associated with risk-reducing salpingo-oophorectomy in BRCA1 or BRCA2 mutations carriers. *J Natl cancer Inst* 2009; 101:80-87
- 30) Kauff ND, Domchek SM, Friebel TM, et al. Risk reducing salpingo-oophorectomy for the prevention of the BRCA1 and BRCA2 associated breast and gynecologic cancer: a multicenter, prospective study. *J Clin Oncol* 2008; 26:1331-1337
- 31) Shu CA, Pike MC, Jotwani AR, et al. Uterine cancer after risk-reducing salpingo-oophorectomy without hysterectomy in women with BRCA mutations. *JAMA Oncol* 2016; 2:1434-1440
- 32) Petelin L, Trainer AH, Mitchell G et al., Cost-effectiveness and comparative effectiveness of cancer risk management strategies in BRCA1/2 mutation carriers: a systematic review. *Genet Med*. 2018;20(10):1145-1156
- 33) Harmsen MG, Arts-de Jong M, Hoogerbrugge N, et al. Early salpingectomy (TUbectomy) with delayed oophorectomy to improve quality of life as alternative for risk-reducing salpingo-oophorectomy in BRCA1/2 mutation carriers (TUBA study): a prospective non-randomised multicentre study. *BMC Cancer* 2015;15:593
- 34) Kwon JS, Tinker A, Pansegrau G, et al. Prophylactic salpingectomy and delayed oophorectomy as an alternative for BRCA mutation carriers. *Obstet Gynecol* 2013; 121:14-24
- 35) Nebgen DR, Hurteau J, Holman LL, et al. Bilateral salpingectomy with delayed oophorectomy for ovarian cancer risk reduction: a pilot study in women with BRCA1/2 mutations. *Gynecol Oncol* 2018;150, 79-84
- 36) Nelson HD, Pappas M, Zakher B, et al. Risk Assessment, Genetic Counseling, and Genetic Testing for BRCA-Related Cancer: Systematic Review to Update the U.S. Preventive Services Task Force Recommendation. *Ann Intern Med*. 2014;160(4):255-66
- 37) Cortesi L, Turchetti D, Marchi I, et al..Breast cancer screening in women at increased risk according to different family histories: an update of the Modena Study Group experience.*BMC Cancer*. 2006; 6: 210.
- 38) Cho N, Han W, Han B-K, et al. Breast Cancer Screening With Mammography Plus Ultrasonography or Magnetic Resonance Imaging in Women 50 Years or Younger at Diagnosis and Treated With Breast Conservation Therapy. *JAMA Oncol*. 2017; 3(11):1495-1502
- 39) Berg WA, Blume JD, et al; ACRIN 6666 Investigators. Combined screening with ultrasound and mammography vs mammography alone in women at elevated risk of breast cancer. *JAMA*. 2008;299(18):2151-63



- 40) Visvanathan K, Chlebowski RT, Hurley P, et al. American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update on the use of pharmacologic interventions including tamoxifen, raloxifene, and aromatase inhibition for breast cancer risk reduction. *J Clin Oncol* 2009; 27:3235-3258
- 41) Xu L, Zhao Y, Chen Z, Wang Y, Chen L, Wang S. Tamoxifen and risk of contralateral breast cancer among women with inherited mutations in BRCA1 and BRCA2: a meta-analysis. *Breast Cancer*. 2015;22(4):327-34
- 42) Gail MH, Brinton LA, Byar DP et al., Projecting individualized probabilities of developing breast cancer for white females who are being examined annually. *J Natl Cancer Inst*. 1989;81(24):1879-86.
- 43) Tyrer J, Duffy SW, Cuzick J. A breast cancer prediction model incorporating familial and personal risk factors. *Stat Med*. 2004;23:1111–1130
- 44) Vogel VG, Costantino, JP, Wickerham, DL, et al: Effects of tamoxifen vs. raloxifene on the risk of developing invasive breast cancer and other disease outcomes: The NSABP study of tamoxifen and raloxifene (STAR) P-2 trial. *JAMA* 295 :2727-2741, 2006.
- 45) Nkondjock A, Robidoux A, Paredes Y, et al. Diet, lifestyle and BRCA-related breast cancer risk among French-Canadians. *Breast Cancer Res Treat* 2016; 98:285-294
- 46) Manders P, Pijpe A, Hooning MJ, et al. Body weight and risk of breast cancer in BRCA1/2 mutation carriers. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 126:193-202
- 47) King MC, Marks JH, Mandell JB. New York Breast Cancer Study Group. Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2. *Science* 2003; 302:643-646
- 48) Pasanisi P, Bruno E, Venturelli E, et al. Serum levels of IGF-1 and BRCA penetrance: a case control study in breast cancer families. *Fam Cancer* 2011; 10:521-528
- 49) Pasanisi P, Bruno E, Manoukian S, et al. A randomized controlled trial of diet and physical activity in BRCA mutation carriers. *Fam Cancer* 2014; 13: 181-187
- 50) Pan H, He Z, Ling L, et al. Reproductive factors and breast cancer risk among BRCA1 or BRCA2 mutation carriers: results from ten studies. *Cancer Epidemiol*. 2014 ;38:1-8.
- 51) Toss A, Grandi G, Cagnacci A, et al. The impact of reproductive life on breast cancer risk in women with family history or BRCA mutation. *Oncotarget*. 2017 ;8:9144-9154.
- 52) Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data on 53 297 women with breast cancer and 100 239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies. *Lancet* 1996, 347 (9017): 1713-1727



- 53) Collaborative Group on Epidemiological Studies of Ovarian Cancer(1), Beral V, Doll R, Hermon C, Peto R, Reeves G Ovarian cancer and oral contraceptives: collaborative reanalysis of data from 45 epidemiological studies including 23,257 women with ovarian cancer and 87,303 controls. *Lancet*. 2008 6;371(9609):303-14.
- 54) Cibula D, Zikan M, Dusek L, Majek O. Oral contraceptives and risk of ovarian and breast cancers in BRCA mutation carriers: a meta-analysis. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2011 ;11:1197-207.
- 55) Iodice S, Barile M, Rotmensz N, et al. Oral contraceptive use and breast or ovarian cancer risk in BRCA1/2 carriers: a meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2010 ;46:2275-84.
- 56) Grandi G, Toss A, Cagnacci A, et al. Combined Hormonal Contraceptive Use and Risk of Breast Cancer in a Population of Women With a Family History. *Clin Breast Cancer*. 2018 ;18:e15-e24.
- 57) Kotsopoulos J, Lubinski J, Moller P, et al. Timing of oral contraceptive use and the risk of breast cancer in BRCA1 mutation Carriers. *Breast Cancer Res Treat*. 2014 ;143:579-86.
- 58) Rebbeck TR, Friebel T, Wagner T Effect of short-term hormone replacement therapy on breast cancer risk reduction after bilateral prophylactic oophorectomy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: the PROSE Study Group. *J Clin Oncol*. 2005;23:7804-10.
- 59) Kotsopoulos J, Librach CL, Lubinski J Infertility, treatment of infertility, and the risk of breast cancer among women with BRCA1 and BRCA2 mutations: a case-control study. *Cancer Causes Control*. 2008 ;19:1111-9.
- 60) I numeri del cancro in Italia, edizione 2019.
- 61) Ottini L, Palli D, Rizzo S, et al. Male breast cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2010 ;73(2):141-55.
- 62) Silvestri V, Barrowdale D, Mulligan AM, et al. Male breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: pathology data from the Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2. *Breast Cancer Research*. 2016;18(1):15.
- 63) Lecarpentier J, Silvestri V, Kuchenbaecker KB, et al. Prediction of Breast and Prostate Cancer Risks in Male BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers Using Polygenic Risk Scores. *J Clin Oncol*. 2017;35(20):2240-2250.
- 64) Paluch-Shimon S, Cardoso F, Sessa C, et al. ESMO Guidelines Committee. Prevention and screening in BRCA1/2 mutation carriers and other breast/ovarian hereditary cancer syndromes: ESMO Clinical Practice Guidelines for cancer prevention and screening. *Ann Oncol*. 2016;27(suppl 5):v103-v110.



- 65) FDA GUIDANCE DOCUMENT: Male Breast Cancer: Developing Drugs for Treatment, August 2019. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/male-breast-cancer-developing-drugs-treatment>
- 66) 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; 19 (4). pii:E961
- 67) 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; 480:173-179
- 68) Winter C, Nilsson MP, Olsson E, et al., Targeted sequencing of BRCA1 and BRCA2 across a large unselected breast cancer cohorts suggests that one-third of mutations are somatic *Ann Oncol* 2016;27, 1532-8
- 69) Richards S, Aziz N, Bales S, et al. A CMG 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; 17:405-424
- 70) <https://enigmaconsortium.org>
- 71) 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; 20:1282-1291
- 72) Claustres M, Kozich V, Dequeker E, et al. Recommendations for reporting results of diagnostic genetic testing (biochemical, cytogenetic and molecular genetic). *Eur J Hum Genet* 2014; 22:160-170
- 73) <https://www.emqn.org/>