

ziali benefici in termini terapeutici in caso di un trattamento con un PARP inibitore, insieme alla potenzialità del test a rilevare per se stessi e per i propri familiari la presenza di una condizione di alto rischio di sviluppare un altro tumore. 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 ade-

guato 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 gli aspetti etici del test BRCA. Inoltre nell'ambito di un percorso assistenziale andrà individuata un'équipe di genetica clinica oncologica, a cui fare riferimento quando la paziente richieda un approfondimento sugli aspetti genetici prima di decidere se sottoporsi o meno al test e per i casi che presentano particolari problematiche.

### Riferimenti bibliografici

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

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

Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature*. 2011; 474: 609-15

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

Drost R and Jonkers J. Opportunities and hurdles in the treatment of BRCA1-related breast cancer. *Oncogene* 2014; 33: 3753-63

George J1, Alsop K, Etemadmoghadam D, et al. Nonequivalent gene expression and copy number alterations in high-grade serous ovarian cancers with BRCA1 and BRCA2 mutations. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 3474-84

Hilton JL1, Geisler JP, Rathe JA, et al. Inactivation of BRCA1 and BRCA2 in ovarian cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2002; 94:1396-406

[http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/003726/human\\_med\\_001831.jsp&mid=WC0b01ac058001d124](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/003726/human_med_001831.jsp&mid=WC0b01ac058001d124)

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 randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2014; 15: 852-61.

Realising Genomics in Clinical Practice (Executive Summary). PHG Foundation 2014; 978-1-907198-15-1

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 Rev* 2008; 14: 3761-67

Song H, Cicek MS, Dicks E, et al. The contribution of deleterious germline mutations in BRCA1, BRCA2 and the mismatch repair genes to ovarian cancer in the population. *Hum Mol Genet*. 2014; 23: 4703-9

Wiggans 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

# Raccomandazioni per l'implementazione del test BRCA nei percorsi assistenziali e terapeutici delle pazienti con carcinoma ovarico

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

Maria Angela Bella, Ettore Capoluongo, Paola Carrera, Claudio Clemente, Nicoletta Colombo, Laura Cortesi, Gaetano De Rosa, Maurizio Genuardi, Stefania Gori, Valentina Guarneri, Antonio Marchetti, Paolo Marchetti, Nicola Normanno, Barbara Pasini, Sandro Pignata, Carmine Pinto, Paolo Radice, Enrico Ricevuto, Antonio Russo, Pierosandro Tagliaferri, Pierfrancesco Tassone, Mauro Truini, Liliana Varesco

Luglio 2015



# Raccomandazioni per l'implementazione del test BRCA nei percorsi assistenziali e terapeutici delle pazienti con carcinoma ovarico

## Premessa

Negli ultimi 20 anni, a seguito dell'identificazione di *BRCA1* e *BRCA2* come geni predisponenti alle neoplasie della mammella e dell'ovaio (di seguito indicati come geni BRCA), sono stati sviluppati percorsi di prevenzione per l'identificazione e la gestione clinica dei soggetti, sani o con precedenti diagnosi di tumore, ad alto rischio di sviluppare un altro tumore nel corso della vita in quanto portatori di una variante patogenetica in uno di questi geni. La finalità dei percorsi preventivi è stata quella di guidare la popolazione a intraprendere programmi mirati di diagnosi precoce e riduzione del rischio per questi tumori.

Queste Raccomandazioni di AIOM, SIGU, SIBIOC e SIAPEC-IAP riguardano la possibilità attuale di implementare il test BRCA nei percorsi assistenziali e terapeutici delle pazienti con carcinoma ovarico. Per gli aspetti generali e specifici riguardanti l'implementazione del test BRCA nei percorsi di prevenzione rivolti alle persone sane, si raccomanda di far riferimento al documento del 2013 "Consulenza genetica e test genetici in oncologia: aspetti critici e proposte AIOM - SIGU".

## Test BRCA come test predittivo di efficacia alle terapie antitumorali

Studi retrospettivi suggeriscono che le pazienti affette da carcinoma ovarico, portatrici di una variante patogenetica ereditaria BRCA presentano una prognosi significativamente più favorevole, predittiva di sensibilità farmacologica a combinazioni terapeutiche contenenti derivati del platino. Inoltre, è stato dimostrato che mutazioni dei geni BRCA, costituzionali o somatiche, rappresentano un biomarcatore predittivo di 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. La perdita di funzione delle proteine BRCA1/2 quale effetto di mutazioni costituzionali o somatiche dei geni corrispondenti rappresenta la condizione più frequente, anche se non esclusiva, di disfunzione dei meccanismi di HR. Studi clinici hanno portato nell'ottobre del 2014 alla registrazione da parte dell'Agenzia Regolatoria Europea EMA (*European Medicines Agency*) dell'uso 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 Fallopio e di carcinoma primitivo del peritoneo.

Studi recenti di popolazione hanno evidenziato che le pazienti affette da carcinoma ovarico presentano una prevalenza di varianti patogenetiche costituzionali BRCA >10%, indipendentemente dall'età alla diagnosi e dalla presenza di storia familiare per tumore della mammella/ovaio. La prevalenza di tali varianti patogenetiche aumenta nelle pazienti con carcinoma ovarico sie-

roso (17-20%), nelle pazienti con carcinoma sieroso di alto grado (23-25%) e nelle pazienti platino-sensibili (30-40%). Inoltre, circa il 25% delle portatrici di variante patogenetica BRCA hanno una diagnosi di carcinoma ovarico ad un'età superiore ai 60 anni.

Sulla base di queste evidenze, anche se attualmente il test BRCA è formalmente necessario come test predittivo per l'indicazione alla terapia con il PARP-inibitore, è consigliabile considerare l'invio al test BRCA sin dal momento della diagnosi per tutte le pazienti con diagnosi di carcinoma epiteliale ovarico non mucinoso e non borderline, di carcinoma delle tube di Fallopio e di carcinoma peritoneale primitivo, per completare la fase diagnostica molecolare, in previsione di un eventuale utilizzo terapeutico e per favorire l'accesso ad una consulenza genetica oncologica pre-test nell'ambito dei percorsi di prevenzione. La proposta all'esecuzione del test BRCA al momento della diagnosi deve avvenire nel rispetto dei tempi di decisione della paziente alla quale deve essere fornita adeguata informazione su tutti gli aspetti collegati all'eventuale risultato positivo del test.

## Tipologie di test BRCA

Il test BRCA su sangue periferico è in grado di evidenziare le varianti costituzionali/ereditarie, cioè trasmissibili ai figli (50% di probabilità per ogni figlio/a). Il test BRCA eseguito su tessuto tumorale è in grado di evidenziare sia le varianti acquisite per mutazione somatica sia quelle costituzionali; la natura della variante identificata (costituzionale o somatica) deve essere stabilita analizzando un tessuto normale (sangue, altro tessuto).

In base agli studi oggi disponibili, ci si attende che 2/3 delle varianti patogenetiche BRCA identificabili in pazienti affette da carcinoma ovarico siano di tipo costituzionale (presente in ogni cellula dell'organismo) e che 1/3 sia di tipo somatico (confinata al tessuto tumorale). Nella quasi totalità dei casi, le varianti di tipo costituzionale dei geni *BRCA1* e *BRCA2* sono ereditate dalla madre o dal padre (meno dell'1% dei casi sono dovuti a mutazioni *de novo*).

Attualmente, il test BRCA su sangue periferico per la ricerca di mutazioni ereditarie è eseguito in molti laboratori attraverso metodologie ampiamente validate quale il sequenziamento Sanger o in fase di validazione come il sequenziamento di nuova generazione (Next Generation Sequencing-NGS).

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 di poche paia di basi) e consente di identificare circa il 90% delle varianti patogenetiche BRCA. A completamento, deve esser 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%. Metodiche usate per la ricerca di riarrangiamenti genici sbilanciati sono la *Multiplex Ligation Probe dependent Amplification* (MLPA) o la *Multiplex Amplicon Quantification* (MAQ).

Non esistono ad oggi metodiche standardizzate per l'esecuzione e l'interpretazione dell'analisi BRCA sui tessuti tumorali. L'esecuzione del test BRCA sul tessuto tumorale presenta complessità maggiori dei test molecolari su tessuto già inseriti nella routine diagnostica oncologica. La peculiare complessità analitica del test BRCA somatico è dovuta al fatto che differenti varianti potenzialmente patogenetiche si possono osservare lungo tutto il gene *BRCA1* (23 esoni) e il gene *BRCA2* (27 esoni), e possono consistere sia di mutazioni puntiformi che di ampie delezioni/duplicazioni, oltre che di altre tipologie di alterazioni genetiche strutturali (metilazione della regione regolatoria). Questo amplifica la difficoltà attuale di interpretazione del significato clinico delle varianti, soprattutto a livello somatico, in funzione della predittività di risposta terapeutica. Gli algoritmi di classificazione delle varianti BRCA disponibili sono stati sviluppati per identificare varianti ereditarie associate ad alto rischio di sviluppare tumore della mammella e dell'ovaio.

Il test BRCA deve essere richiesto per la ricerca di varianti patogenetiche costituzionali e va valutata l'eventuale fattibilità del test BRCA somatico. Per un'adeguata esecuzione del test è necessaria per i laboratori una comprovata validazione ed un controllo di qualità esterno del test proposto.

## Interpretazione delle varianti genetiche BRCA

Lo spettro mutazionale dei geni BRCA è molto ampio. Pertanto, il problema della classificazione delle varianti genetiche identificate è di grande rilevanza in quanto molto frequentemente il laboratorio individua una variante che non è stata segnalata in precedenza nella letteratura scientifica. A questo proposito è necessario ricordare che, pur non esistendo standard consolidati per la classificazione delle mutazioni ereditarie BRCA, è importante che ciascun laboratorio adotti criteri aggiornati di classificazione delle varianti, e che i referti vengano redatti secondo le raccomandazioni vigenti di buona pratica di laboratorio.

Criteri specifici per l'interpretazione del significato clinico delle varianti costituzionali dei geni BRCA sono stati recentemente sviluppati dall'*Evidence-based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles* (ENIGMA) e sono disponibili sul sito Internet del consorzio (<http://enigmaconsortium.org>). Studi in modelli murini hanno evidenziato come non necessariamente le varianti dei geni BRCA associate ad aumentato rischio di sviluppo di un tumore costituiscano anche dei target responsivi alle terapie con anti-PARP.

È necessario pertanto che i laboratori rendano evidenti le modalità di interpretazione delle varianti BRCA, costituzionali e/o somatiche, attraverso la disponibilità pubblica dei protocolli di refertazione. Inoltre i laboratori devono indicare nel referto il significato clinico della variante genetica BRCA identificata e elencare le informazioni essenziali utilizzate per la classificazione. In quest'ambito è opportuno che i laboratori partecipino a programmi esterni di controlli di qualità, e che procedano ad una raccolta sistematica e centralizzata delle varianti BRCA osservate, al fine di contribuire alla miglior classificazione delle stesse.

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

L'utilizzo del test BRCA ai fini della decisione sulla terapia medica implica che il test genetico debba essere facilmente accessibile per tutte le pazienti che ne potrebbero beneficiare e che i risultati del test siano disponibili in tempi compatibili con le necessità cliniche.

I modelli di consulenza genetica oncologica sviluppati nei percorsi assistenziali di prevenzione sono attualmente insufficienti a far fronte all'aumento dei volumi, particolarmente quando il test genetico di predisposizione assume anche una valenza di predittività terapeutica che va determinata in tempi stretti. 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 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.

I medici prescrittori del test BRCA senza una formazione specifica in genetica oncologica dovranno acquisire un adeguato aggiornamento specifico in questo settore. Risulta necessario per il medico prescrittore verificare con il laboratorio di riferimento l'utilizzo di adeguati protocolli per la corretta interpretazione del risultato del test a scopo clinico, essendo la responsabilità ultima dell'utilizzo del risultato a carico del medico che riceve il referto. Vanno inoltre definiti protocolli di collaborazione con un'équipe di genetica clinica oncologica in grado di farsi carico dei casi in cui venga identificata una variante patogenetica ereditaria per quanto attiene alle implicazioni per la famiglia, o di situazioni con particolari problematiche meritevoli di altri approfondimenti genetici.

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.

## Elementi indispensabili del consenso informato

Il test BRCA predittivo di risposta ai farmaci PARP inibitori può essere prescritto dal genetista, dall'oncologo e dal ginecologo con competenze oncologiche, che diventano responsabili di informare adeguatamente la paziente sugli aspetti genetici collegati ai risultati al fine di permettere una scelta consapevole.

Le informazioni da dare alla paziente dovranno riguardare i poten-