



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI
DI MODENA E REGGIO EMILIA

TUMORI EREDITARI: dalla biologia molecolare al trattamento

Atti del congresso

Modena, 18 - 19 novembre 2010

Palazzo Ducale - Accademia Militare

In copertina: Foto dell'Accademia Militare di Modena: Cortile d'Onore e Torre dell'Orologio.
Per gentile concessione del Comune di Modena

È con vivo piacere che porgiamo il benvenuto e ringraziamo i partecipanti al Congresso "Tumori Ereditari: dalla Biologia Molecolare al trattamento".

Il meeting è il primo tentativo di mettere a confronto, nel nostro paese, tutte le figure professionali che si occupano di tumori ereditari.

La scelta di Modena come sede del congresso non è casuale, proprio perché a Modena furono avviati, fin dagli anni '80, studi pionieristici su tale argomento, fino a pochi anni or sono pressoché sconosciuto.

Riteniamo che il meeting possa rappresentare lo strumento ideale per mettere a confronto ricercatori di diversa estrazione, per avviare studi collaborativi e per allargare lo spettro delle conoscenze attuali sull'argomento.

Il nostro augurio è pertanto che il meeting possa costituire una occasione di incontro e di scambio culturale e scientifico su un argomento di estremo interesse ed attualità.

Buon lavoro.

Massimo Federico


Maurizio Ponz de Leon


■ **PRESIDENTI DEL CONGRESSO:**

Maurizio Ponz de Leon
Massimo Federico

■ **COMITATO SCIENTIFICO:**

Massimo Federico
Università di Modena e Reggio Emilia

Maurizio Ponz de Leon
Università di Modena e Reggio Emilia

Maria Luisa Brandi
Università di Firenze

Carmela Di Gregorio
Azienda Policlinico di Modena

Giangaetano Delaini
Università di Verona

Maria Grazia Tibiletti
Azienda Ospedaliera di Varese

Riccardo Masetti
Università Cattolica, Roma

■ **SEGRETERIA SCIENTIFICA:**

Laura Cortesi
Università di Modena e Reggio Emilia
hbc@unimore.it

Monica Pedroni
Università di Modena e Reggio Emilia
monica.pedroni@unimore.it

■ **Segreteria organizzativa**

Valeria Casadio
☎ 349 612.9976 - valeria.casadio@gmail.com

■ **Segreteria amministrativa**

Prime Congress S.r.l.
✉ via XX Settembre, 47 - 41049 Sassuolo (MO)
☎ 0536 811651 - 📠 0536 811652
prime@primecongress.it

💻 www.tumoriereditari2010.unimore.it

RELATORI & MODERATORI

Antonio Acquaviva (Siena)
Marcello Anti (Viterbo)
Giovanna Bianchi-Scarrà (Genova)
Bernardo Bonanni (Milano)
Maria Luisa Brandi (Firenze)
Pier Franco Conte (Modena)
Laura Cortesi (Modena)
Giangaetano Delaini (Verona)
Carmela Di Gregorio (Modena)
Alberto Falchetti (Firenze)
Massimo Federico (Modena)
Maurizio Genuardi (Firenze)
Claudine Isaacs (Washington, USA)
Lidia Larizza (Milano)
Ettore Luzi (Firenze)
Alberto Malesci (Milano)
Riccardo Masetti (Roma)
Laura Ottini (Roma)
Furio Pacini (Siena)
Pier Giuseppe Pelicci (Milano)
Antonio Percesepe (Modena)
Maurizio Ponz de Leon (Modena)
Paolo Radice (Milano)
Guglielmina Nadia Ranzani (Pavia)
Nicoletta Resta (Bari)
Enrico Ricevuto (L'Aquila)
Guido Rindi (Roma)
Giovanni Romeo (Bologna)
Luca Roncucci (Modena)
Antonio Russo (Palermo)
Stefano Sacchi (Modena)
Massimo Santoro (Napoli)
Pierosandro Tagliaferri (Catanzaro)
Pierfrancesco Tassone (Catanzaro)
Daniela Terribile (Roma)
Maria Grazia Tibiletti (Varese)
Liliana Varesco (Genova)
Alessandra Viel (Aviano, PN)
Erica Villa (Modena)

PROGRAMMA

- 8.30 Introduzione
Maurizio Ponz de Leon - Massimo Federico
Saluto delle Autorità
- 9.00 Lettura:
ROLE OF P53 IN THE REGULATION OF SELF-RENEWAL IN CANCER STEM CELLS
Pier Giuseppe Pelicci
Moderatore: Maria Luisa Brandi
- 9.30 Tavola Rotonda:
NUOVE STRATEGIE PER LO STUDIO MOLECOLARE DEI TUMORI EREDITARI
Moderatori: Guglielmina Nadia Ranzani - Enrico Ricevuto
- VARIANTI GENOMICHE DI SIGNIFICATO INCERTO: MODELLI STATISTICI**
Maurizio Genuardi
- VARIANTI GENOMICHE DI SIGNIFICATO INCERTO: CRITERI PER LA CARATTERIZZAZIONE E L'IDENTIFICAZIONE DELLE CLASSI DI RISCHIO**
Antonio Russo
- APPROCCIO RIBONOMICO ALLO STUDIO DI UNA MALATTIA GENETICA RARA E COMPLESSA CHE PREDISPONE AL CANCRO: LA SINDROME MEN1 COME MODELLO**
Ettore Luzi
- DAL SOMATICO AL GERMINALE NELLA IDENTIFICAZIONE DI TUMORI EREDITARI**
Laura Ottini
- 11.00 Coffee break
- 11.30 Comunicazioni orali:
TUMORI DELLA MAMMELLA: ASPETTI CLINICI
Moderatori: Maria Grazia Tibiletti - Riccardo Masetti
- TUMORI EREDITARI DELLA MAMMELLA: VALUTAZIONE DEL RISCHIO GENETICO. ESPERIENZA DI UNA POPOLAZIONE A PRESENTAZIONE SPONTANEA PER "SCREENING" SENOLOGICO ANNUALE**
Michela Speziani
- GESTIONE DELLE FAMIGLIE AD ALTO RISCHIO PER TUMORE MAMMARIO/ ANNESSIALE: L'ESPERIENZA DELL'ISTITUTO EUROPEO DI ONCOLOGIA**
Irene Feroce
- LA PERCEZIONE DEL RISCHIO ONCOLOGICO E CARATTERISTICHE PSICOLOGICHE NELLE DONNE CON FAMILIARITÀ PER TUMORE DELLA MAMMELLA E/O OVAIO**
Elisabetta Razzaboni
- ASPETTATIVE E TIMORI, IN DONNE SANE O AFFETTE DA CARCINOMA MAMMARIO E/O OVARICO CHE AFFERISCONO AL SERVIZIO DI COUNSELING ONCOGENETICO DELL'ISTITUTO EUROPEO DI ONCOLOGIA**
Irene Feroce
- MODALITÀ DI COUNSELLING ONCOGENETICO FINALIZZATO ALLA SCELTA DELLA MASTECTOMIA PROFILATTICA BILATERALE IN BRCA1/2 CARRIERS**
Laura Cortesi
- EFFETTO FONDATORE DELLE MUTAZIONI BRCA1 E BRCA2 RICORRENTI NELL'AREA DEL TRIVENETO**
Elisa Pin
- TWO POSSIBLE BRCA1 FOUNDER MUTATIONS IN SICILIAN BREAST AND/OR OVARIAN CANCER FAMILIES**
Valentina Calò

GIOVEDÌ 18 NOVEMBRE



IDENTIFICAZIONE DI MUTAZIONI BRCA1 E BRCA2 IN RAPPORTO ALLA STORIA FAMILIARE DI TUMORI DELLA MAMMELLA E/O DELL'OVAIO ED AI CRITERI CLINICI DI RISCHIO

Tina Sidoni

CISPLATINUM SENSITIVITY OF BRCA1-MUTATED HCC1937 BREAST CANCER CELLS IS LINKED TO IMPAIRMENT OF NOTCH SIGNALING AND IS INCREASED BY GAMMA-SECRETASE INHIBITORS

Monica Ventura

13.00 Lunch

14.30 Comunicazioni orali:

TUMORI EREDITARI RARI

Moderatori: Marcello Anti - Antonio Percesepe

SINDROME DI BIRT-HOGG-DUBE': VALIDAZIONE DEI CRITERI DIAGNOSTICI E DI SELEZIONE PER IL TEST GENETICO PROPOSTI DAL CONSORZIO EUROPEO IN UNA CASISTICA ITALIANA

Antonella Maffè

PREVALENZA DELLE MUTAZIONI TMEM127 NEL FEOCROMOCITOMA SPO- RADICO

Giuseppe Opocher

PROTOCOLLO DI STUDIO GENE CDH1

Simonetta Pozzi

LOW FREQUENCY OF MICROSATELLITE INSTABILITY AMONG EUROPEAN PATIENTS WITH PANCREATIC CANCER

Antonino Spinelli

GERMLINE MUTATIONS OF THE TP53 GENE IN CENTRAL SUDANESE BREAST CANCER PATIENTS DIAGNOSED BEFORE AGE 45

Gitana Aceto

SUSCETTIBILITA' GENETICA AL CARCINOMA MAMMARIO MASCHILE: ANALISI MUTAZIONALE DEI GENI BRCA1, BRCA2, PALB2, BRIP1 E RAD51C

Valentina Silvestri

15.30 Tavola Rotonda:

PERCORSI DIAGNOSTICI E TERAPEUTICI NEI TUMORI EREDITARI: ESPERIENZE A CONFRONTO

Moderatori: Lidia Larizza - Luca Roncucci

I TUMORI EREDITARI DEL COLON-RETTO

Liliana Varesco

I TUMORI EREDITARI DELLA MAMMELLA

Laura Cortesi

SINDROMI MEN

Alberto Falchetti

PERCORSI DIAGNOSTICI NEL MELANOMA E CARCINOMA PANCREATICO EREDITARIO

Giovanna Bianchi-Scarrà

17.00 Assemblea dei Soci AIFEG

20.30 Cena Sociale

PROGRAMMA

- 9.00 Tavola Rotonda:
MANAGEMENT DI SOGGETTI A RISCHIO: PROBLEMI ATTUALI E NUOVE PROSPETTIVE
Moderatori: Alberto Malesci - Stefano Sacchi
- TUMORI EREDITARI DELLA TIROIDE**
Furio Pacini
- CHIRURGIA PROFILATTICA NEI CARRIERS DI MUTAZIONE BRCA1/2**
Daniela Terribile
- COSA VI È DI NUOVO PER I TUMORI RARI: LA S. DI PEUTZ-JEGHERS**
Nicoletta Resta
- RETINOBLASTOMI**
Antonio Acquaviva
- 10.30 Coffee break
- 11.00 Comunicazioni orali:
TUMORI EREDITARI DEL COLON-RETTO
Moderatori: Erica Villa - Giangaetano Delaini
- MISMATCH REPAIR DEFECTS AND RISK OF NODAL METASTASIS IN MSI COLORECTAL CANCERS**
Luigi Laghi
- MS-STATUS PREDICTS METASTASIS AT DIAGNOSIS AND PATIENTS' SURVIVAL IN SYNCHRONOUS COLORECTAL CANCER**
Lucia Fini
- METILAZIONE DEL PROMOTER DI MLH1 E MUTAZIONE DEL GENE BRAF NEL CARCINOMA COLORETTALE CON DEFICIT DEL MISMATCH REPAIR**
Giovanni Lanza
- RUOLO DELLA FLUORESCENZA NATIVA DEL PLASMA UMANO NELLA DIAGNOSI DELLE NEOPLASIE COLORETTALI EREDITARIE**
Alberto Vannelli
- ANALISI GLOBALE ED IDENTIFICAZIONE DI EVENTI DI SPLICING B-CATENINA DIPENDENTI IN LINEE CELLULARI DI CANCRO DEL COLON**
Alessandro Stella
- DELEZIONE DI TACSTD1 E METILAZIONE DI MSH2 NELLA SINDROME DI LYNCH: 2 NUOVI CASI DA UNA CASISTICA ITALIANA**
Alessandra Viel
- DIFFERENTE CORRELAZIONE DELLA LUNGHEZZA TELOMERICA CON L'ETA' IN PORTATORI DI MUTAZIONE NEI GENI MSH2 E MLH1**
Cristina Bozzao
- SELEZIONE E SORVEGLIANZA DI 19 FAMIGLIE AFFETTE DA SINDROME DI LYNCH: ESPERIENZA NEL SUD ITALIA**
Patrizia Lastella
- MICRORNAS EXPRESSION PROFILE IN COLORECTAL CANCER PATIENTS AND CLINICO-PATHOLOGICAL CORRELATION**
Ada Piepoli
- TRASCritti ALTERNATIVI NEI TUMORI DEL COLON-RETTO: IDENTIFICAZIONE MEDIANTE DNA MICROARRAYS**
Orazio Palumbo
- ESPRESSIONE ALLELICA DEL GENE MYH IN PAZIENTI CON POLIPOSIS, APC-NEGATIVI**
Maria Cristina Curia
- LA MUTAZIONE C.34G>T DEL GENE KRAS COME MARCATORE PRECOCE DELLE POLIPOSIS ASSOCIATE AL GENE MUTYH (MAP)**
Tiziana Venesio

VENERDÌ NOVEMBRE

13.00 Lunch

14.30 Comunicazioni orali:

TUMORI DELLA MAMMELLA: ASPETTI BIOMOLECOLARI

Moderatori: Alessandra Viel - Carmela Di Gregorio

A STUDY OF PATHOLOGICAL CHARACTERISTICS IN BRCA-OVARIAN CANCER AND IN A HIGH RISK GROUP

Grazia Artioli

TRASMISSIONE DI MUTAZIONI E VARIANTI POLIMORFICHE BRCA CORRELATE NELLE FAMIGLIE CON TUMORE EREDITARIO DELLA MAMMELLA

Katia Danza

ANALISI DELLE ALTERAZIONI DI EGFR, HER2 E PIK3CA NEL CARCINOMA MAMMARIO MASCHILE

Piera Rizzolo

BREAST CANCER AND THE ROLE OF LOW PENETRANCE ALLELES: A FOCUS ON ATM GENE

Laura La Paglia

NOVEL SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHIC VARIANT ASSOCIATED TO BRCA1 HEREDITARY BREAST CANCER IDENTIFIED BY DMET PLATFORM

Maria Teresa Di Martino

TEST FUNZIONALE EX VIVO DI SPLICING PER LA DIAGNOSTICA MOLECOLARE DEL CARCINOMA DEL SENO E DELL'OVAIO: VALUTAZIONE DELL'EFFETTO DELLE VARIANTI DI SIGNIFICATO SCONOSCIUTO NEI GENI BRCA1 E BRCA2

Daniela Di Giacomo

CASE REPORT: PRESENZA DI SIMULTANEE ALTERAZIONI IN BRCA1 E BRCA2 IN UN CASO DI TUMORE MAMMARIO EREDO-FAMILIARE

Brunella Pilato

DOUBLE HETEROZYGOSIS FOR hMLH1 AND BRCA1 IN A YOUNG WOMAN

Monica Pedroni

16.00 Tavola Rotonda:

NUOVE STRATEGIE NEI TUMORI EREDITARI

Moderatori: Pierfrancesco Tassone - Paolo Radice

TERAPIE MIRATE PER I TUMORI EREDITARI MEDIANTE L'UTILIZZO DI PARP-INIBITORI: UN NUOVO APPROCCIO BIOLOGICO

Pier Franco Conte

STRATEGIE INDIVIDUALIZZATE PER IL TRATTAMENTO DEI TUMORI EREDITARI DELLA MAMMELLA

Pierosandro Tagliaferri

APPROCCI INNOVATIVI NELLA FARMACOPREVENZIONE DEI TUMORI EREDITARI DELLA MAMMELLA

Bernardo Bonanni

NUOVE TERAPIE NEL CARCINOMA MIDOLLARE TIROIDEO

Massimo Santoro

CLASSIFICAZIONE E NUOVI APPROCCI NEI TUMORI NEUROENDOCRINI

Guido Rindi

17.45 Lettura:

EVALUATION AND MANAGEMENT OF HIGH RISK WOMEN

Claudine Isaacs

Moderatore: Giovanni Romeo

18.15 Considerazioni conclusive

Massimo Federico - Maurizio Ponz de Leon

18 NOVEMBRE 2010

9.00



LETTURA

Moderatore: M.L. Brandi

L1 ROLE OF P53 IN THE REGULATION OF SELF-RENEWAL IN CANCER STEM CELLS

Pier Giuseppe Pelicci (Milano)

9.30-11.00



NUOVE STRATEGIE PER LO STUDIO MOLECOLARE DEI TUMORI EREDITARI

Moderatori: G.N. Ranzani - E. Ricevuto

TR1 VARIANTI GENOMICHE DI SIGNIFICATO INCERTO: MODELLI STATISTICI

Maurizio Genuardi (Firenze)

TR2 VARIANTI GENOMICHE DI SIGNIFICATO INCERTO: CRITERI PER LA CARATTERIZZAZIONE E L'IDENTIFICAZIONE DELLE CLASSI DI RISCHIO

Antonio Russo (Palermo)

TR3 APPROCCIO RIBONOMICOMICO ALLO STUDIO DI UNA MALATTIA GENETICA RARA E COMPLESSA CHE PREDISPONE AL CANCRO: LA SINDROME MEN1 COME MODELLO

Ettore Luzi (Firenze)

TR4 DAL SOMATICO AL GERMINALE NELLA IDENTIFICAZIONE DI TUMORI EREDITARI

Laura Ottini (Roma)

Legenda: **L** lettura **TR** tavola rotonda



ROLE OF P53 IN THE REGULATION OF SELF-RENEWAL IN CANCER STEM CELLS

Pier Giuseppe Pelicci

Istituto Europeo di Oncologia (IEO) at the IFOM-IEO Campus, Milan; University of Milan



ABSTRACT

1

Recent findings support the concept that cells with the properties of stem cells (SC) are integral to the development and perpetuation of several forms of human cancer, and that eradication of cancer stem cells (CSC) may be essential to achieve cancer cure. However, direct proof of these concepts is still lacking, mainly due to the scarcity of appropriate model systems.

We have recently defined a number of CSC-specific biological properties and underlying molecular mechanisms. These findings were generated using mouse models of two types of human cancer: i) leukaemia, obtained by transgenic expression of the PML-RAR or AML1-ETO leukemia-associated oncogene; and ii) mammary tumor, obtained by transgenic expression of the ErbB2 oncogene, and represent the rationale for the research activities proposed in this grant application.1. Extended self-renewal of leukemic SCs, due to p21 up-regulation (Viale et al., *Nature* 2009). The self-renewal potential of normal SCs (measured as the number of times a single SC replicates during a life span without losing its regenerative potential) is intrinsically limited. This limit becomes experimentally evident as exhaustion of their regenerative potential when SCs are synchronously induced to hyper-proliferate, such as in serial transplantation. Self-renewal of CSCs, instead, is virtually unlimited, as inferred by their ability to support continuous expansion of the cancer clone and to be propagated inexhaustibly during serial transplantation. We have demonstrated that up-regulation of the cell-cycle inhibitor p21 is indispensable for maintaining self-renewal of leukaemia SCs (LSCs). Expression of leukaemia-associated oncogenes in normal hematopoietic SCs (HSCs) induces DNA damage and activates a p21-dependent cellular response that, in turn, imposes cell-cycle restriction and triggers repair of the damaged DNA. This effect of p21 prevents the physiological exhaustion of HSC self-renewal, which occurs in time owing to accumulation of DNA damage, and confers an advantage to HSCs when they hyper-proliferate, as it occurs during stress or after full transformation (for example, in the LSCs), thus explaining the role of p21 in the maintenance of the self-renewal potential of LSCs. These findings imply that cell-cycle-restricted LSCs are critical for the initiation and/or maintenance of the leukaemic clone, suggesting that targeting this compartment might be critical to disease eradication, and suggest that inhibition of DNA repair might be synthetic lethal with oncogene expression. However, it is not clear: i) whether targeting of p21 in growing leukemias can lead to tumor regression, e.g. whether p21 or the p21-pathways are molecular targets for therapeutic intervention; ii) which are the molecular mechanisms underlying the effect of p21 on LSCs; iii) whether p21-upregulation in CSCs is a general mechanism of transformation and is also critical in the more common epithelial tumors.2. Increased frequency of symmetric self-renewing divisions in ErbB2-mammary CSCs, due to attenuated p53-signaling (Cicalese et al., *Cell* 2009). Normal SCs accomplish their functions of self-renewal and differentiation through a single mitotic division ('asymmetric division'), in which one progeny retains SC identity, while the other (progenitor) undergoes multiple rounds of divisions



ABSTRACT

1

before entering a post-mitotic fully differentiated state. We found that self-renewing divisions of CSCs are more frequent than normal counterparts, unlimited and symmetric, thus contributing to increasing numbers of SCs in tumoral tissues. SCs with targeted mutation of the tumor suppressor p53 possess the same self-renewal properties of cancer SCs, and their number increases progressively in the p53-null pre-malignant mammary gland. We showed that p53 signaling is attenuated in ErbB2-driven tumors, and that pharmacological re-activation of p53 induced restoration of asymmetric divisions in cancer SCs and tumor growth reduction, without affecting rates of apoptosis or proliferation on additional cancer cells. These data demonstrate that p53 regulates polarity of cell division in mammary SCs and suggest that loss-of-p53 in epithelial cancers favors symmetric divisions of CSCs, contributing to tumor growth. Molecular mechanisms underlying the effects of p53 on mammary SC polarity remain unknown.

3. Biological heterogeneity of breast cancers correlates with their cancer stem cell content (Pece et al., Cell 2010). Emerging evidence suggests that the number of CSCs within a given tumor can significantly vary from tumor to tumor. This is true not only in human tumors when using xenotransplantation assays, as discussed above, but also in syngeneic mouse models. In this context, CSCs can denote a small subpopulation of tumor cells (0.0001–0.1%, as for ErbB2 mammary tumors or leukemias associated with loss of Pten) or rather constitute a substantial proportion of the tumor mass (>10% in Ras- or myc-induced lymphomas). It is not clear though if the variation in the relative frequencies of CSCs is due to tumour type, specific genetic aberrancies in a given tumor, stage of disease progression or the specific experimental system used. We have recently showed that the heterogeneous phenotypical and molecular traits of human breast cancers are a function of their CSC content. Using an expression signature derived from purified normal mammary SCs (MSCs), we analysed breast cancer expression data sets, and found that we can stratify breast cancers on the basis of their biological (poorly differentiated G3 vs well differentiated G1) and molecular (basal-type tumors from other molecular types of breast cancers: ErbB2-type, luminal-A or -B) characteristics. Xenotransplantation experiments and immunohistochemistry using markers from the SC-signature directly demonstrated that G3s are enriched in CSCs. Notably, genes annotated as putative p53 targets were significantly enriched ($p < 0.002$) in the MSC-signature, suggesting that p53 is one component of the genetic program that accounts for the diversity of abundance of CSCs in tumors.



VARIANTI GENOMICHE DI SIGNIFICATO INCERTO: MODELLI STATISTICI

Maurizio Genuardi

Sezione Genetica Medica, Dipartimento Fisiopatologia Clinica, Università degli Studi di Firenze



ABSTRACT

TR 1

Varianti di sequenza di significato incerto (Unclassified Variants; UV) sono di frequente identificazione nel corso dell'analisi molecolare di geni di predisposizione al cancro. Il riscontro di una UV pone problemi per la consulenza genetica nelle famiglie in cui queste vengono identificate. La definizione delle conseguenze funzionali delle UV e, di conseguenza, degli effetti fenotipici, è quindi particolarmente importante sia per migliorare la comprensione dei meccanismi biologici della predisposizione a tumori sia sul piano clinico. Allo stato attuale sono disponibili diversi approcci complementari per la caratterizzazione clinico-funzionale delle UV; in ultima analisi, la definizione della loro rilevanza clinica può essere effettuata utilizzando un approccio integrato di tipo bayesiano, che tiene conto di diversi parametri clinici e biologici (Goldgar et al. *Hum. Mutat.* 29:1265-1272, 2008). Al termine del processo di valutazione le UV vengono classificate secondo il sistema standardizzato in 5 categorie, elaborato dallo IARC Unclassified Genetic Variants Working Group, ciascuna delle quali è associata a specifiche raccomandazioni cliniche (Plon et al. *Hum. Mutat.* 29:1282-1291, 2008).

VARIANTI GENOMICHE DI SIGNIFICATO INCERTO: CRITERI PER LA CARATTERIZZAZIONE E L'IDENTIFICAZIONE DELLE CLASSI DI RISCHIO

Antonio Russo, Valentina Calò, Laura La Paglia, Loredana Bruno, Sergio Rizzo, Giuseppe Bronte, Naomi Margarese, Sybilla Cimino, Marco Perez, Lidia Rita Corsini, Valeria Amodeo, Marianna Terrasi, Daniele Fanale, Viviana Bazan

Dip. di Discipline Chirurgiche ed Oncologiche, Università degli Studi di Palermo

ABSTRACT

TR2

Mutazioni germinali nei geni BRCA1/2 sono responsabili della maggior parte dei tumori ereditari della mammella e dell'ovaio. Molte varianti alleliche ad alta penetranza sono state identificate e comprendono mutazioni frameshift o nonsense che causano la formazione di proteine tronche.

Altri alleli contengono mutazioni missenso più rare, rappresentate da singole sostituzioni aminoacidiche e varianti introniche che interferiscono con il processo di splicing. Queste, denominate varianti di significato clinico incerto (VUS) possono rendere più complicata la stima del rischio durante il consulto oncogenetico.

La maggior parte delle varianti di significato clinico incerto sono mutazioni missenso ma possono includere anche varianti introniche e piccole inserzioni o delezioni in frame.

Più di 2000 sono le varianti missenso identificate nei geni BRCA1/2, localizzate lungo l'intero gene e riportate nel BIC (Breast Cancer Information Core). Di queste il 10-20% sono riportate come varianti di significato incerto.

Ad oggi, molti metodi sono stati proposti e differenti strategie di studio sono utilizzate da diversi laboratori per classificare le VUS in varianti deleterie/ad alto rischio o neutre/a basso rischio. Tra questi, vi sono l'analisi di co-segregazione della variante all'interno della famiglia, l'influenza della mutazione sull'attività della proteina, la conservazione aminoacidica nelle diverse specie, l'analisi di un gruppo controllo, saggi biochimico-funzionali etc.

Più recentemente, l'utilizzo di modelli integrati comprendenti dati epidemiologici diretti ed indiretti, unitamente a dati basati su modelli matematici, fisici e statistici, ha contribuito all'interpretazione del ruolo clinico e funzionale delle VUS. Bisogna però sottolineare che non sempre tutte le variabili sono disponibili e, nonostante l'utilizzo dei modelli integrati dia un notevole contributo all'interpretazione del significato clinico, non può predire la patogenicità con assoluta certezza.

La creazione di un sistema di classificazione standard comprendente diverse Classi di rischio potrebbe aiutare i clinici a proporre, a tutti i portatori di VUS, le più adeguate strategie di sorveglianza.



APPROCCIO RIBONOMICO ALLO STUDIO DI UNA MALATTIA GENETICA RARA E COMPLESSA CHE PREDISPONE AL CANCRO: LA SINDROME MEN1 COME MODELLO

E Luzi, A Falchetti, F Marini, I Tognarini, G Galli, ML Brandi

Dip. di Medicina Interna, Università degli Studi di Firenze



ABSTRACT

TR3

Premesse: La Neoplasia Endocrina Multipla di tipo 1 (MEN1; MIM#131100) è caratterizzata dalla presenza di tumori delle paratiroidi, del pancreas endocrino e dell'ipofisi anteriore, ed include oltre 20 diverse combinazioni di tumori endocrini e non endocrini. Il gene MEN1, un gene oncosoppressore, codifica la proteina menin. La perdita di eterozigotità (LOH) al locus 11q13 è stata riscontrata in tumori MEN1, ma anche nel 30-70% di tumori sporadici delle paratiroidi e del pancreas endocrino. Mutazioni del gene MEN1 sono presenti in circa l'80% dei pazienti con la forma familiare della MEN1.

Scopo: Gli effetti di MEN1 nelle cellule neuroendocrine umane ed il suo ruolo nella regolazione genica rimangono ancora da chiarire. In particolare, non è stato ancora chiarito il meccanismo molecolare che garantisce la specificità della patologia. Noi ci siamo proposti di analizzare tali meccanismi.

Materiali e metodi: Analisi per Northern blot, RNase Mapping, RT-PCR, "gel retardation" analisi e western blot, "RNA chiP" analisi assieme a trasfezione di siRNAs e ribozimi in cellule di tumore pancreatico BON1 e colture primarie di fibroblasti MEN1 sono stati usati.

Risultati: In vitro menin si lega al proprio mRNA all'interno di un complesso ribonucleoproteico governando la compensazione di menin stesso. In tessuti paratiroidei MEN1 menin è sotto il controllo post-trascrizionale del microRNA 24a.

Conclusioni: La tumorigenesi MEN1 potrebbe essere indotta tramite un controllo post-trascrizionale che vede la interazione tra menin, il proprio mRNA e il miR-24a in un "autoregulatory feedback loop", cioè la formazione di uno specifico complesso dove "RNA binding proteins" (RBPs), "noncoding regulatory RNAs (ncRNAs) e mRNAs interagiscono in maniera dinamica (RNA REGULON).

L'interazione del miR-24 con altri geni coinvolti nella tumorigenesi MEN1 potrebbe essere alla base di un meccanismo EPISTATICO che governa la complessità della patologia.

Questi risultati hanno un importante significato funzionale per la comprensione della sindrome MEN1 e lo sviluppo di una "RNA-based" therapy per il controllo della tumorigenesi nei pazienti MEN1.

DAL SOMATICO AL GERMINALE NELL'IDENTIFICAZIONE DEI TUMORI EREDITARI

Laura Ottini

Dipartimento di Medicina Molecolare, I Facoltà di Medicina, "Sapienza" Università di Roma



ABSTRACT

TR4

La maggior parte dei tumori sono sporadici, cioè le alterazioni del DNA (mutazioni) si sviluppano casualmente a livello delle cellule somatiche. Queste mutazioni si originano nel DNA di un ristretto gruppo di cellule e determinano l'errore genetico che si propaga nelle cellule figlie. Solo una piccola ma significativa percentuale dei tumori è ereditaria. Si stima che circa il 5-10% dei tumori coloretali e dei tumori mammari abbiano una componente ereditaria. In questi tumori le mutazioni del DNA insorgono a livello delle cellule germinali e quindi potranno essere trasmesse alla progenie. In generale, i tumori possono essere considerati una patologia a componente genetica caratterizzata da alterazioni nei geni che codificano per proteine coinvolte nella regolazione della proliferazione cellulare e che determinano una crescita cellulare incontrollata. La caratteristica fondamentale dei tumori è l'instabilità genomica che può essere causata da mutazioni ereditate in geni che controllano l'integrità del genoma e da mutazioni somatiche acquisite durante lo sviluppo del tumore. L'integrità genomica è garantita da geni caretakers, geni che, direttamente o indirettamente, giocano un ruolo nel riparo del danno al DNA, come i geni del mismatch repair (MMR) e i geni BRCA1/BRCA2. Mutazioni a carico di questi geni sono spesso associate a sindromi tumorali ereditarie. In particolare, le mutazioni dei geni BRCA conferiscono suscettibilità ereditaria a tumori mammari e mutazioni dei geni MMR alla Sindrome di Lynch (o Hereditary nonpolyposis colorectal cancer, HNPCC). Nel complesso, alterazioni di questi geni si traducono in un'instabilità genetica generalizzata con conseguente accumulo di mutazioni somatiche che conferiscono un vantaggio proliferativo. Distinti sottogruppi tumorali possono essere identificati in base alla presenza di specifici fenotipi molecolari legati a mutazioni germinali di geni caretakers. Mutazioni dei geni MMR danno luogo ad un fenotipo molecolare specifico di tumori coloretali, caratterizzato dalla presenza di instabilità dei microsatelliti (Microsatellite Instability, MSI), ossia di alterazioni a carico di sequenze ripetitive del DNA. L'acquisizione di questo fenotipo determina non solo la progressione del tumore ma anche specifiche caratteristiche biologiche rilevanti per la gestione del paziente stesso. Il fenotipo MSI sembra infatti avere un rilevante valore prognostico e predittivo di risposta terapeutica. Mutazioni dei geni BRCA determinano specifici e distinti sottotipi patologici di tumori mammari con rilevanti implicazioni cliniche. Recentemente è emerso come i profili di espressione (trascrittoma) e di metilazione (metiloma) dei tumori mammari eredo-familiari possano essere definiti dallo stato mutazionale dei geni BRCA aprendo interessanti prospettive nell'identificazione di nuovi biomarcatori.

COMUNICAZIONI ORALI

18 NOVEMBRE 2010

11.30-13.00



TUMORI DELLA MAMMELLA: ASPETTI CLINICI

Moderatori: M.G. Tibiletti - R. Masetti

- 1 TUMORI EREDITARI DELLA MAMMELLA: VALUTAZIONE DEL RISCHIO GENETICO. ESPERIENZA DI UNA POPOLAZIONE A PRESENTAZIONE SPONTANEA PER "SCREENING" SENOLOGICO ANNUALE**
Michela Speziani et al. (Brescia)
- 2 GESTIONE DELLE FAMIGLIE AD ALTO RISCHIO PER TUMORE MAMMARIO/ANNESSIALE: L'ESPERIENZA DELL'ISTITUTO EUROPEO DI ONCOLOGIA**
Irene Feroce et al. (Milano)
- 3 LA PERCEZIONE DEL RISCHIO ONCOLOGICO E CARATTERISTICHE PSICOLOGICHE NELLE DONNE CON FAMILIARITÀ PER TUMORE DELLA MAMMELLA E/O OVAIO**
Elisabetta Razzaboni et al. (Modena)
- 4 ASPETTATIVE E TIMORI, IN DONNE SANE O AFFETTE DA CARCINOMA MAMMARIO E/O OVARICO CHE AFFERISCONO AL SERVIZIO DI COUNSELING ONCOGENETICO DELL'ISTITUTO EUROPEO DI ONCOLOGIA**
Irene Feroce et al. (Milano)
- 5 MODALITÀ DI COUNSELLING ONCOGENETICO FINALIZZATO ALLA SCELTA DELLA MASTECTOMIA PROFILATTICA BILATERALE IN BRCA1/2 CARRIERS**
Laura Cortesi et al. (Modena)
- 6 EFFETTO FONDATORE DELLE MUTAZIONI BRCA1 E BRCA2 RICORRENTI NELL'AREA DEL TRIVENETO**
Elisa Pin et al. (Aviano, PN)
- 7 TWO POSSIBLE BRCA1 FOUNDER MUTATIONS IN SICILIAN BREAST AND/OR OVARIAN CANCER FAMILIES**
Valentina Calò et al. (Padova)
- 8 IDENTIFICAZIONE DI MUTAZIONI BRCA1 E BRCA2 IN RAPPORTO ALLA STORIA FAMILIARE DI TUMORI DELLA MAMMELLA E/O DELL'OVAIO ED AI CRITERI CLINICI DI RISCHIO**
Tina Sidoni et al. (L'Aquila)
- 9 CISPLATINUM SENSITIVITY OF BRCA1-MUTATED HCC1937 BREAST CANCER CELLS IS LINKED TO IMPAIRMENT OF NOTCH SIGNALING AND IS INCREASED BY GAMMA-SECRETASE INHIBITORS**
Monica Ventura et al. (Catanzaro)



TUMORI EREDITARI DELLA MAMMELLA: VALUTAZIONE DEL RISCHIO GENETICO. ESPERIENZA DI UNA POPOLAZIONE A PRESENTAZIONE SPONTANEA PER “SCREENING” SENOLOGICO ANNUALE

Michela Speziani, Antonio Amico, Ileana Capata Tudor, Clara Faustini, Aurora Ferrari, Marco Ghirardi, Annamaria Paris, Vittorio Corsetti, Enzo Galligioni

Ambulatori di Prevenzione Oncologica Raphael, Calcinato, Brescia

ABSTRACT

1

Obiettivo: verificare la fattibilità di un protocollo di selezione di individui a rischio genetico per carcinoma mammario nell’ambito di un programma di “screening” senologico annuale volontario calcolando la prevalenza di mutazioni nei geni BRCA 1 e 2 in tale popolazione.

Materiali e metodi: Nel periodo Gennaio 2009- Agosto 2010 su un totale di 6214 donne, di età tra i 25 e 89 anni, che si sono sottoposte a “screening” senologico volontario, 106 (1,7%) sono state candidate all’esecuzione di consulenza oncogenetica per familiarità o perchè affette, secondo i criteri ASCO (American Society of Clinical Oncology). Di queste, 69 (65%) hanno accettato di sottoporsi a consulenza oncogenetica per la valutazione dell’eleggibilità al test genetico per la ricerca di mutazioni nei geni BRCA. Nell’ambito della consulenza è stato eseguito il calcolo del rischio di essere portatrici di mutazioni nei geni BRCA mediante il software CancerGene versione 5, modello BRCAPRO: i soggetti con una probabilità calcolata > al 10% sono considerati eleggibili al test genetico.

Risultati: Nella nostra popolazione l’ 1,7% delle donne soddisfa i criteri ASCO per la selezione. Delle 69 donne sottoposte a consulenza genetica, 26 (37,6%) sono risultate essere eleggibili al test genetico.

A seguito della consulenza genetica, 17 (65%) donne si sono sottoposte all’esecuzione del test genetico per l’identificazione di mutazioni nei geni BRCA 1e 2 mentre 9 (35%) hanno rifiutato la proposta. I risultati dell’analisi genetica hanno finora permesso di individuare: 8 portatrici di varianti di sequenza nei geni BRCA 1 e 2: 3 portatrici di mutazioni patogenetiche, due nel gene BRCA1 (C64R a livello dell’esone 5 e del GTCTstop 1262 a livello dell’esone 11) ed una nel gene BRCA2 (Q2960stop a livello dell’esone22), due probabili portatrici di riarrangiamento genomico per le quali si sta eseguendo approfondimento mediante MLPA, tre portatrici di varianti di sequenza descritte in letteratura come varianti non ancora classificate, A2466V a livello dell’esone 14 del gene BRCA2 e delAAA K1109del a livello dell’esone 11 del gene BRCA1; quest’ultima meritevole di ulteriori approfondimenti in quanto potrebbe trattarsi di nuova variante patogenetica. 2 donne sono risultate negative al test e 7 test sono ad oggi ancora in corso.

Conclusioni: Il nostro studio dimostra la fattibilità di tale protocollo applicato ad una popolazione a presentazione spontanea. Dalla nostra esperienza emerge tuttavia che il 34% delle donne rifiuta di eseguire consulenza genetica pre-test mentre il 35% delle candidate all’esecuzione del test decide di non eseguirlo. Ciò potrebbe dipendere da molti fattori: comunicazione inefficace, storia personale di malattia, parità, istruzione, paura dell’esito del test.

I dati preliminari indicano che il 30% è portatrice di mutazioni patogenetiche nei geni BRCA 1 e 2. Tali dati sono paragonabili a quelli riportati in letteratura (Capalbo C et al, 2006; Stppia et al, 2000).

GESTIONE DELLE FAMIGLIE AD ALTO RISCHIO PER TUMORE MAMMARIO/ANNESSIALE: L'ESPERIENZA DELL'ISTITUTO EUROPEO DI ONCOLOGIA

Irene Feroce¹, Monica Barile¹, Lorenzo Preda¹, Gaetano Villa¹, Paolo Radice², Loris Bernard³, Dorella Franchi¹, Alessandra Rossi¹, Angela Maniscalco¹, Bernardo Bonanni¹

¹Istituto Europeo di Oncologia

²Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori

³IFOM-IEO Campus



ABSTRACT

2

Premessa: Negli ultimi anni è aumentata la domanda di test genetici, soprattutto tra le donne che hanno sviluppato un tumore della mammella o che hanno una storia familiare di neoplasie del seno e/o dell'ovaio.

Le scoperte genetiche in ambito oncologico hanno ormai molta influenza nei differenti aspetti del processo generale di assistenza della persona, dalla prevenzione allo screening, dalla diagnosi al trattamento; è perciò un ambito di lavoro clinico in espansione e destinato a crescere in un prossimo futuro in modo significativamente stimolante, con la possibilità di apertura a nuove competenze per diverse figure professionali in campo sanitario, come ad esempio gli infermieri.

Scopo: la gestione dei soggetti a rischio oncologico eredo-familiare – modulata sui diversi profili di rischio individuale per età, stato di salute e attitudine - usa un approccio multidisciplinare mantenuto nel tempo con specifico follow-up.

Materiali e metodi: Team multidisciplinare - modello High Risk Clinic (HRC) - che interagisce con vari specialisti e include: 1 oncologo, 1 medico genetista, 1 infermiera di ricerca, 1 patient manager, 1 segretaria.

Nel modello emerge il ruolo infermieristico nella consegna e valutazione di un questionario dedicato (QdF), raccolta della documentazione clinica necessaria, disegno del pedigree e calcolo di rischio con vari modelli statistici.

Segue la discussione con gli altri membri del team per identificare l'eleggibilità del paziente e dei suoi consanguinei alla consulenza genetica (alto rischio) e/o alla visita di prevenzione oncologica (rischio intermedio), per proporre una sorveglianza mirata e personalizzata in base al rischio oncologico e la possibilità di partecipare a studi clinici di prevenzione e/o opzioni di riduzione del rischio.

Risultati: 01/00 al 08/10: 3045 questionari valutati, 1565 cons. genetiche proposte, 1241 effettuate, 1480 visite di prevenzione oncologica proposte, 999 test DNA eseguiti (193 BRCA1+, 181 BRCA2+, 1BRCA1/2 +).

Eco, Mx, RM, lavaggio dotti offerti a 170 donne, Eco TV, CA125 a 48 soggetti. 45 mastectomie e 97 annessietomie profilattiche.

Conclusioni: nel modello HRC italiano non vi è ancora un ruolo infermieristico definito. Il carico clinico ed emozionale dei soggetti con predisposizione genetica necessita ulteriori studi. L'aumento delle richieste di questa attività rende necessario definire un modello di HRC con figure specificamente preparate per tale area di oncologia clinica.



LA PERCEZIONE DEL RISCHIO ONCOLOGICO E CARATTERISTICHE PSICOLOGICHE NELLE DONNE CON FAMILIARITÀ PER TUMORE DELLA MAMMELLA E/O OVAIO

Elisabetta Razzaboni, Laura Cortesi, Elisabetta De Matteis, Massimo Federico
Programma di Epidemiologia e prevenzione Oncologica, Dipartimento di Oncologia ed Ematologia, Università di Modena e Reggio Emilia



ABSTRACT

3

In letteratura è noto come la percezione del rischio oncologico delle persone che presentano familiarità per tumore sia uno dei fattori più influenti sulla comprensione e sull'impatto psicologico delle informazioni ricevute nell'ambito della consulenza oncogenetica.

L'obiettivo dello studio è stato quello di valutare la percezione del rischio oncologico nelle donne che presentano familiarità per tumore della mammella e/o ovaio. Si è voluto, inoltre, valutare se la percezione del rischio fosse influenzata dalla presenza di disturbi psicologici e dalla eventuale storia personale di malattia.

395 donne che presentano familiarità per tumore della mammella e/o dell'ovaio (292 pazienti; 103 non affette) hanno compilato un questionario valutante: ansia, depressione, stress, benessere, tono dell'umore, paure sanitarie, e percezione del rischio oncologico.

Le pazienti hanno riportato una percezione del rischio oncologico significativamente più elevata rispetto alle non affette. In entrambi i gruppi la percezione del rischio oncologico è risultata essere significativamente correlata a: ansia, depressione, stress e benessere. Nelle donne non affette, inoltre, la percezione del rischio oncologico è risultata essere correlata significativamente anche alle paure sanitarie. Si è inoltre rilevato che, le pazienti oncologiche che presentano un disturbo depressivo hanno una percezione del rischio oncologico significativamente maggiore rispetto alle pazienti che non hanno un disturbo depressivo, mentre le donne non affette che presentano un disturbo d'ansia hanno una percezione del rischio oncologico significativamente maggiore rispetto alle donne non affette che non presentano il disturbo d'ansia.

In conclusione possiamo dire che la storia personale di malattia, e soprattutto la presenza di disturbi psicologici quali ansia e depressione influenzano notevolmente la percezione del rischio oncologico nelle donne con storia familiare per tumore della mammella e/o dell'ovaio. È opportuno quindi che tali dimensioni psicologiche vengano attentamente analizzate nel percorso di consulenza oncogenetica.

ASPETTATIVE E TIMORI, IN DONNE SANE O AFFETTE DA CARCINOMA MAMMARIO E/O OVARICO CHE AFFERISCONO AL SERVIZIO DI COUNSELING ONCOGENETICO DELL'ISTITUTO EUROPEO DI ONCOLOGIA

Irene Feroce, Chiara Catania, Monica Barile, Davide Radice, Laura Adamoli, Sabrina Boselli, Aaron Goldhirsch, Bernardo Bonanni

Istituto Europeo di Oncologia, Milano

ABSTRACT

4

Premessa: Le persone che afferiscono al servizio di consulenza oncogenetica hanno in qualche modo una particolare percezione di malattia e di morte che possono spesso influenzare la propria percezione del rischio, la progettualità futura e sentimenti conflittuali in relazione ai propri consanguinei.

Gli aspetti specifici di tali percezioni e l'impatto nella vita quotidiana sono complessi ed eterogenei e ad oggi poco indagati.

Scopo: Effettuare un'analisi mirata a conoscere e riconoscere aspettative, timori, sensi di colpa e come questi possano influire nella vita delle persone al fine di ottimizzare il servizio di counseling oncogenetico e la successiva pianificazione dell'iter diagnostico e terapeutico.

Materiali e metodi: E' stata rivista la letteratura per valutare l'esistenza di studi condotti riguardanti la percezione di malattia e di morte in donne sane quando sanno di avere un rischio familiare di ammalarsi di malattia tumorale mammaria e ovarica.

Lo studio della letteratura è stato condotto da un gruppo di oncologi medici, oncologi clinici, esperti di prevenzione, infermieri di ricerca, genetisti dedicati agli ambulatori di counseling oncogenetico.

Nella prima fase dello studio sono stati costruiti dei questionari somministrati a 30 soggetti sani, non target, per verificare comprensibilità e adeguatezza dello strumento. I questionari definitivi costruiti successivamente verranno somministrati alla popolazione target.

La somministrazione di un primo questionario avviene prima della consulenza oncogenetica. Un secondo questionario viene fatto compilare dopo la consulenza ed un terzo alla consegna del referto del test molecolare per chi effettua l'indagine genetica.

Risultati e conclusioni: Attualmente lo studio è ancora in corso.

La durata dell'arruolamento prevista è di due anni.

Dalle informazioni ricavate dai questionari ci aspettiamo di avere materiale sufficiente per poter migliorare le prestazioni del servizio clinico e per implementare l'attuale offerta di counseling con attività alternative e di supporto, come ad esempio colloqui psicologici, incontri di gruppo, corsi di drammatizzazione o altro al fine di poter rendere le persone maggiormente consapevoli ed essere più determinate nel (ri)trovare un'adeguata progettualità di vita.



MODALITÀ DI COUNSELLING ONCOGENETICO FINALIZZATO ALLA SCELTA DELLA MASTECTOMIA PROFILATTICA BILATERALE IN BRCA1/2 CARRIERS

Laura Cortesi, Elisabetta De Matteis, Elisabetta Razzaboni, Veronica Medici, Giovanni Tazzioli, Massimo Federico

Programma di epidemiologia e prevenzione oncologica, Dipartimento di Oncologia ed Ematologia, Azienda Ospedaliero Universitaria di Modena



ABSTRACT

5

Obiettivo: E' ampiamente documentato che il rischio di sviluppare un tumore della mammella in portatrici di mutazione BRCA1/2 è pari al 46% e al 43%, rispettivamente, nell'arco dell'intera vita, mentre il rischio di insorgenza di una neoplasia controlaterale è pari al 25% dopo 10 anni dalla prima diagnosi. E' altresì noto che la mastectomia profilattica rappresenta la strategia preventiva più efficace poichè abbate il rischio di sviluppare una neoplasia mammaria del 95%. Poichè le donne italiane mostrano una scarsa accettabilità di tale metodica, abbiamo valutato due diversi approcci di consulenza oncogenetica ai fini di incrementare il numero di mastectomie profilattiche.

Materiali e metodi: Presso il Centro per lo studio dei tumori familiari della mammella e dell'ovaio di Modena è attivo dal 1995 un percorso di counselling oncogenetico per la ricerca di mutazioni nei geni BRCA1/2. Tale percorso, articolato in 3 fasi, ha consentito ad oggi di eseguire 1754 tests genetici, portando all'identificazione di 292 carriers di mutazione, di cui 163 pazienti affetti da neoplasia mammaria od ovarica e 123 individui sani. Le pazienti che in corso di consulenza post-test ricevono un esito di positività hanno l'opportunità di valutare anche l'ipotesi di un intervento di mastectomia profilattica bilaterale (se non affette) o controlaterale (se già affette). Dal gennaio 2008 abbiamo parallelamente intrapreso un percorso di counselling accelerato per la pazienti che al momento della diagnosi di neoplasia mammaria, mostrano le caratteristiche di una ereditarietà. In tale caso le fasi di consulenza e l'eventuale test genetico avvengono in tempi molto rapidi, con la consegna dell'esito nell'arco di 3 settimane. In tal modo, in caso di positività al test, la paziente ha l'opportunità, prima di sottoporsi all'intervento chirurgico di rimozione della neoplasia mammaria, di poter eseguire un intervento radicale sottocutaneo bilaterale.

Risultati: Con la modalità di counselling tradizionale abbiamo ottenuto un rate di mastectomie bilaterali profilattiche pari al 2,9% (10 casi), mentre con il percorso di consulenza pre-operatoria abbiamo condotto 60 tests genetici, di cui 20 (33%) sono risultati positivi. Di tali pazienti 10 (50%) hanno eseguito in un tempo unico la mastectomia profilattica bilaterale ($p < 0.0001$).

Conclusioni: In conclusione la possibilità di eseguire una consulenza preoperatoria e di comunicare il test nell'arco di 3 settimane ha ulteriormente incrementato il numero di pazienti che sceglie tale intervento con buona accettazione dello stesso. Tale tipologia di counselling è stata possibile grazie al miglioramento delle tecniche diagnostiche, che hanno notevolmente ridotto i tempi di refertazione dei tests genetici, e all'inserimento dello stesso all'interno di un percorso multidisciplinare in cui collaborano diverse figure professionali in particolare l'oncologo, lo psicologo e il chirurgo.

EFFETTO FONDATORE DELLE MUTAZIONI BRCA1 E BRCA2 RICORRENTI NELL'AREA DEL TRIVENETO

Elisa Pin¹, Elisa Cupelli¹, Lara della Puppa¹, Angela Valentina D'Elia², Giuseppe Damante², Laura Papi³, Gianmaria Miolo⁴, Riccardo Dolcetti⁴, Clelia de Giacomo⁴, Andrea Piga⁵, Carla Dellach⁶, Alessandra Viel¹

¹Oncologia Sperimentale, Centro di Riferimento Oncologico-IRCCS, Aviano (PN)

²Azienda Ospedaliero-Universitaria di Udine, Istituto di Genetica, Udine

³Università di Firenze, Genetica Medica, Firenze

⁴Centro di Riferimento Oncologico-IRCCS, Dipartimento Oncologia Medica, Aviano (PN)

⁵Ospedale A. Businco, Oncologia Medica, Cagliari

⁶Azienda Servizi Sanitari n.1 Triestina, Centro Sociale Oncologico, Trieste

ABSTRACT

6

Obiettivo: Esiste un ampio spettro di diverse mutazioni costituzionali dei geni BRCA1 e BRCA2, responsabili di tumori della mammella e dell'ovaio ereditari. Lo studio si propone di indagare quali mutazioni ricorrono in maniera significativa nella popolazione del Nord-Est Italia e di definire la loro frequenza. Si vuole inoltre verificare se esse siano riconducibili ad un effetto founder.

Materiali e metodi: I test genetici BRCA1 e BRCA2 vengono condotti su pazienti appartenenti a famiglie ad alto rischio nell'ambito di attività diagnostiche e di ricerca presso il C.R.O. di Aviano. Le mutazioni sono state caratterizzate mediante sequenziamento diretto e MLPA. L'analisi degli aplotipi associati alle mutazioni selezionate per questo studio viene realizzata mediante analisi di alcuni marcatori microsatellitari intragenici e fiancheggianti il gene BRCA1 (D17S806, D17S902, D17S1325, D17S855, D17S1328; D17S800, D17S250) o BRCA2 (D13S171, D13S1701, D13S1698, D13S260, D13S290). La dimensione degli alleli di questi microsatelliti viene determinata mediante PCR fluorescente ed elettroforesi capillare.

Risultati: Tra le mutazioni ricorrenti, quelle più frequenti sono risultate essere: BRCA1: c.235G>A p.Cys39Tyr (7x); c.795delT (7x); c.1806C>T p.Gln536Ter (7x); c.5382insC (8x); c.300T>G p.Cys61Gly (7x); BRCA2: c.5910 C>G p.Tyr1894Ter (5x); IVS16-2A>G (10x); 9106C>T p.Gln2960Ter (5x).

Complessivamente esse rappresentano il 39% (56/145) delle mutazioni identificate nell'intera casistica del laboratorio, ma circa la metà se ci si limita a considerare le famiglie di probabile origine dall'area del Triveneto.

Il DNA di 52 probandi (33 con mutazione ricorrente BRCA1 e 19 BRCA2) e di 92 familiari (carrier e non, appartenenti a 37 diverse famiglie) è stato sottoposto ad analisi degli aplotipi. Parallelamente sono stati analizzati anche 90 DNA di controllo ottenuti da donne sane. Si è evidenziata una differenza statisticamente significativa tra casi e controlli nella distribuzione degli alleli intragenici e/o più prossimi ai loci BRCA per tutte le mutazioni indagate. La valutazione della segregazione all'interno delle famiglie ha permesso di individuare gli aplotipi condivisi e più frequentemente associati a ciascuna mutazione.

Conclusioni: La totale o parziale condivisione degli aplotipi evidenziata mediante analisi di marcatori microsatellitari supporta l'ipotesi di mutazioni di derivazione ancestrale comune per entrambi i geni. L'estensione dell'analisi ad ulteriori marcatori ci consentirà inoltre di stabilire il numero di generazioni dall'origine e quindi l'età approssimativa delle singole mutazioni. L'elevata frequenza di queste mutazioni founder nella popolazione del Triveneto giustifica la messa a punto di un test di laboratorio rapido e a basso costo per la loro identificazione e permetterà di intraprendere studi di correlazione genotipo/fenotipo e penetranza in un gran numero di casi.

Ringraziamenti: Fondazione UNICREDIT FVG e ANDOS.



TWO POSSIBLE BRCA1 FOUNDER MUTATIONS IN SICILIAN BREAST AND/OR OVARIAN CANCER FAMILIES

Valentina Calò, Loredana Bruno, Laura La Paglia, Sibilla Cimino, Marco Perez, Naomi Margarese, Florinda Di Piazza, Sergio Rizzo, Giuseppe Bronte, Viviana Bazan and Antonio Russo

Regional Reference Center for the Biomolecular Characterization and Genetic Screening of Hereditary Tumors, Department of Oncology, University of Palermo, Palermo

ABSTRACT

7

Background: Germline mutations in BRCA1 gene account for the majority of familial and hereditary cases of breast and/or ovarian cancer (BC and OC). Many highly penetrant predisposition alleles have been identified and include frameshift or nonsense mutation which lead to the translation of a truncated protein. There is a major incidence of specific mutations according to the ethnic group and geographical area. The identification of these mutations with a founder effect have been reported both in many populations. (i.e. Ashkenazi Jewish). Various studies have been published in Italy regarding different BRCA1 mutations, but only the BRCA1-5083del19 mutation is recurrent and specific to individuals of Italian descent with a founder effect on patients with Calabrian or Sicilian origin. The 4843delC -BRCA1 mutation is another genetic variant with a probable founder effect in Sicilian patients.

Methods: One hundred and sixty five BC and OC families were selected and screened for 5083del19-BRCA1 mutation and 4843delC-BRCA1 mutation at the “Regional Reference Center for the Characterization and Genetic Screening of Hereditary Tumors” at the University of Palermo using automatic direct sequencing.

Results: 131 of the 165 selected patients had BC (among which 11 were bilateral), 24 had OC and 10 had both tumors. The 5083del19-BRCA1 mutation and the 4843delC-BRCA1 mutation were detected respectively in 4/165 (2.5%) patients and in 2/165(1.2%). To date this last mutation is still not found in Breast Cancer International Core (BIC) database. The frequency of these two mutations is 3.7% (7/165) in our Sicilian series.

Conclusions: The 5083del19-BRCA1 mutation is very frequent in the Sicilian population, but the 4843delC-BRCA1 mutation is less frequent than the first one. It is possible that the 4843delC-BRCA1 mutation is not a founder mutation but that it is a new germline mutation. Further investigation of this possible founder mutation in a larger group of Sicilian patients with breast cancer as well as population studies from the region is warranted for a better understanding of the origin and distribution of the mutation.

IDENTIFICAZIONE DI MUTAZIONI BRCA1 E BRCA2 IN RAPPORTO ALLA STORIA FAMILIARE DI TUMORI DELLA MAMMELLA E/O DELL'OVAIO ED AI CRITERI CLINICI DI RISCHIO

Tina Sidoni¹, Anna Coppa², Laura De Marchis³, Amelia Buffone², Daniela Di Giacomo¹, Katia Cannita¹, Valentina Coccolone¹, Giovanni Scambia⁴, Paolo Marchetti⁵, Corrado Ficorella¹, Giuseppe Giannini², Enrico Ricevuto¹

¹Medical Oncology, Department of Experimental Medicine, University of L'Aquila

²Service of Molecular and Ultrastructural Pathology, Dept. Experimental Medicine and Pathology, University "La Sapienza", Rome

³Medical Oncology, Dept. Experimental Medicine and Pathology, University "La Sapienza", Rome

⁴Oncology, UCSC, Campobasso

⁵Oncology, S.Andrea Hospital, Rome



ABSTRACT

8

Nel periodo compreso tra Marzo 2002 e Dicembre 2008 è stato sviluppato un programma di selezione, identificazione e gestione clinica di famiglie a rischio di predisposizione genetica al carcinoma della mammella (BC) e/o dell'ovaio (OC), applicando criteri che definiscono un rischio "a priori" di mutazione dei geni BRCA1/2 > del 10%: carcinoma della mammella e/o dell'ovaio familiare (FB/OC), carcinoma della mammella familiare (FBC), carcinoma a precoce età di insorgenza della mammella <35 anni o dell'ovaio <45 anni (EO-BC/OC) e carcinoma della mammella maschile (MBC).

Successivamente a counselling genetico e firma del consenso informato, il probando affetto è stato sottoposto ad analisi di alterazioni strutturali dei geni BRCA1/BRCA2 (mutazioni puntiformi e riarrangiamenti).

Nelle 185 famiglie analizzate sono state identificate il 28% (52/185) di mutazioni predisponenti: il 17% nel gene BRCA1 (30 mutazioni puntiformi e 2 grandi delezioni) ed il 15% nel gene BRCA2 (tutte mutazioni puntiformi). Nelle 40 FB/OC sono state identificate il 72% di mutazioni BRCA1/2 (29/40): 100% nelle 11 FB/OC con >2 OC in famiglia, rispetto al 62% (18 mutazioni) identificate nelle 29 FB/OC con >1 OC in famiglia ($p=0.02$). Nelle 143 FBC la percentuale di mutazioni BRCA1/2 è del 15% (22/143): 4% BRCA1 (6/143) ed 11% BRCA2 (16/143). Nelle 37 FBC con >4 BC sono state identificate 11 mutazioni BRCA1/2 (30%) rispetto alle 11 mutazioni identificate nelle 106 famiglie con ≤ 3 BC (10%) ($p=0.01$).

Nelle probande EO-BC/OC sono state identificate il 29% di mutazioni BRCA1/2: 13/51 (25%) mutazioni puntiformi e 2/51 (4%) riarrangiamenti genomici. Nelle famiglie MBC sono state identificate il 14% (2/14) di mutazioni BRCA2. Nessuna mutazione BRCA1/2 è stata identificata negli 18 probandi in assenza di altri casi familiari di tumori della mammella e/o dell'ovaio (15 EO-BC/OC e 3 MBC) rispetto al 31% di mutazioni (52/167) identificate in probandi con una storia familiare per tumori ($p=0.024$). Nel sottogruppo BC con 2-3 casi di tumore della mammella in famiglia sono state identificate il 12% di mutazioni BRCA1/2 (11/89) il 27% nelle EO-BC (7/26) ed il 6% nelle probande non EO (4/63).

Questi dati confermano il rischio >10% di predisposizione genetica BRCA1/2 nelle famiglie selezionate in accordo ai criteri raccomandati e individuano due sottogruppi a rischio: FBOC, M≥4 e famiglie EO con >2 BC rischio del 30% di mutazioni BRCA1/2; famiglie M2-M3 non EO, EO e MBC senza familiarità rischio < 10% di mutazioni BRCA1/2.

La prevalenza di mutazioni BRCA1/2 risulta essere statisticamente significativa nel gruppo FB/OC in particolare in presenza di almeno 2 tumori dell'ovaio in famiglia e nei FBC con almeno 4 casi di tumori della mammella.



ABSTRACT

9

CISPLATINUM SENSITIVITY OF BRCA1-MUTATED HCC1937 BREAST CANCER CELLS IS LINKED TO IMPAIRMENT OF NOTCH SIGNALING AND IS INCREASED BY GAMMA-SECRETASE INHIBITORS

Monica Ventura^{1,2,4}, Maria Teresa Di Martino^{1,2,4}, Mariamena Arbitrio³, Pierfrancesco Tassone^{2,4} and Pierosandro Tagliaferri^{1,4}

¹Medical Oncology Unit and ²Referral Center for Innovative Treatments in Medical Oncology, "Campus Salvatore Venuta", "Magna Graecia" University and "Tommaso Campanella" Cancer Center, CZ
³Institute of Neurological Science-National Council of Research - UOS of Pharmacology - Catanzaro
⁴Department of Experimental and Clinical Medicine and Magna Graecia University Catanzaro

Obiettivo: BRCA1 plays a critical role in DNA-damage repair mechanisms elicited by cell exposure to anti-tumor agents. HCC1937 is a BRCA1-defective breast cancer cell line which discloses higher sensitivity to cisplatin (CDDP) as compared to its derivative clone, HCC1937/wtBRCA1, generated in our laboratory by full-length BRCA1 cDNA transfection. To identify the molecular bases of BRCA1-related differential sensitivity to CDDP, we analyzed the whole gene expression profile of HCC1937 and HCC1937/wtBRCA1 cells following in vitro exposure to CDDP; with this experimental approach, we identified CDDP-induced transcriptional changes involving the Notch pathway. Preclinical evidence suggests that combination strategies with platinum compounds and Notch inhibitors may exert anti-tumor effects. At this aim, we evaluated in vitro anti-proliferative effect of a pan-Notch inhibitor, γ -secretase inhibitor XII (GSI-XII) in HCC1937 and HCC1937/wtBRCA1, alone or in combination with CDDP, to assess its antitumor activity in this specific setting.

Materiali e metodi: RNA was isolated from HCC1937 and HCC1937/wtBRCA1 cell lines exposed to CDDP at IC50 doses of 30 and 70 μ M respectively, for 3, 12 and 24 hours. Gene expression profiling was performed by Array 1.0ST (Affymetrix). Array data were analyzed using Gene Expression Console and Ingenuity[®] Pathway Analysis (IPA). Western Blotting was performed in both cell lines after exposure to CDDP using Notch3 M20 sc-7424 goat polyclonal IgG. Cell proliferation was analyzed by MTT assay on both cell lines in presence of increasing concentration of CDDP, GSI-XII and combination of both compounds.

Risultati: By cDNA microarray whole gene expression profile and IPA, we demonstrated a differential modulation of Notch signaling after CDDP exposure in HCC1937 cell line as compared to HCC1937/wtBRCA1, with strong down-regulation of Notch1, 2 and 3 expression in HCC1937 together with other genes involved in the Notch pathway. We demonstrated a significant reduction of Notch3 protein's expression following CDDP exposure at the IC50 dose for 12, 18 and 24 hours in HCC1937 as compared to HCC1937/wtBRCA1 consistently with gene expression results. Finally, we observed a time- and dose-dependent decrease of cell growth of HCC1937 following GSI-XII exposure as compared to HCC1937/wtBRCA1, with an IC50 between 20 and 25 μ M. Conversely, HCC1937/wtBRCA1 was highly resistant to the drug. The combination of 10 μ M of GSI-XII plus CDDP at different concentrations produced a significant synergistic effect at 48 hours in HCC1937, which did not occur in HCC1937/wtBRCA1.

Conclusioni: Our findings suggest that the high sensitivity of BRCA1-defective cells to CDDP exposure may be related not only to depression of the DNA-damage repair machinery but also to down-modulation of the Notch survival pathway. GSIs deserve investigation as a novel therapeutic tool in the specific setting of BRCA1 defective tumors (Supported by Italian Ministry of Education).

COMUNICAZIONI ORALI

18 NOVEMBRE 2010

14.30-15.30

TUMORI EREDITARI RARI

Moderatori: M. Anti - A. Percesepe



- 10** **SINDROME DI BIRT-HOGG-DUBE': VALIDAZIONE DEI CRITERI DIAGNOSTICI E DI SELEZIONE PER IL TEST GENETICO PROPOSTI DAL CONSORZIO EUROPEO IN UNA CASISTICA ITALIANA**
Antonella Maffè et al. (Cuneo)
- 11** **PREVALENZA DELLE MUTAZIONI TMEM127 NEL FEOCROMOCITOMA SPORADICO**
Giuseppe Opocher et al. (Padova)
- 12** **PROTOCOLLO DI STUDIO GENE CDH1**
Simonetta Pozzi et al. (Milano)
- 13** **LOW FREQUENCY OF MICROSATELLITE INSTABILITY AMONG EUROPEAN PATIENTS WITH PANCREATIC CANCER**
Antonino Spinelli et al. (Rozzano, MI)
- 14** **GERMLINE MUTATIONS OF THE TP53 GENE IN CENTRAL SUDANESE BREAST CANCER PATIENTS DIAGNOSED BEFORE AGE 45**
Gitana Aceto et al. (Chieti)
- 15** **SUSCETTIBILITA' GENETICA AL CARCINOMA MAMMARIO MASCHILE: ANALISI MUTAZIONALE DEI GENI BRCA1, BRCA2, PALB2, BRIP1 E RAD51C**
Valentina Silvestri et al. (Roma)



ABSTRACT

10

SINDROME DI BIRT-HOGG-DUBE': VALIDAZIONE DEI CRITERI DIAGNOSTICI E DI SELEZIONE PER IL TEST GENETICO PROPOSTI DAL CONSORZIO EUROPEO IN UNA CASISTICA ITALIANA

Antonella Maffè¹, Benedetta Toschi², Giuliana Circo³, Daniela Giachino⁴, Sabrina Giglio², Antonio Rizzo⁵, Angelo Carloni⁶, Venerino Poletti⁷, Sara Tomassetti⁷, Lucia Inaudi¹, Susanna Orsini¹, Silvana Ribero¹, Michele Zuccarofino¹, Bruno Bossi¹, Carmelo Ginardi¹, Silvana Ungari¹, Maurizio Genuardi²

¹ S.S. Genetica e Biologia Molecolare, A.O. S Croce e Carle di Cuneo, Cuneo

² Dipartimento Fisiopatologia Clinica, Università degli Studi di Firenze, Firenze

³ Pediatria . P. O. Muscatello di Augusta AUSL n. 8, Siracusa

⁴ Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Università di Torino, Torino

⁵ Servizio di Anatomia Patologica, Ospedale San Giacomo, Castelfranco Veneto (TV)

⁶ U.O. di Radiologia A.O. Santa Maria di Terni, Terni

⁷ S.C. Pneumologia Interventistica Ospedale GB Morgagni, Forlì

La sindrome di Birt-Hogg-Dubè (BHDS) è caratterizzata da una triade di manifestazioni cliniche (amartomi cutanei, cisti polmonari e/o pneumotoraci e tumori renali). L'intero complesso di sintomi non è ancora perfettamente chiarito poiché la variabilità fenotipica è alta e la penetranza incompleta. Mutazioni inattivanti il gene oncosoppressore FLCN sono identificate nella maggior parte delle famiglie con BHDS. La maggior parte dei casi indirizzati al test genetico erano in precedenza selezionati in base alla presenza delle tipiche manifestazioni cutanee di BHDS. Il "European BHD Consortium" (EBC) ha recentemente proposto criteri di diagnosi clinica e per la selezione dei pazienti da indirizzare al test genetico. Specificità e sensibilità di questi criteri necessitano di verifica in futuri studi prospettici.

Abbiamo studiato 19 probandi consecutivi selezionati per la presenza di tumori renali e/o manifestazioni polmonari di BHDS: 17 probandi soddisfacevano i criteri suggeriti dall'EBC per eseguire il test e 2 avevano sviluppato tumori renali multipli ad età <50 anni. Abbiamo identificato mutazioni di FLCN in 9/19 probandi. I soggetti risultati portatori di mutazioni erano affetti da BHDS con il coinvolgimento di almeno 1 diversi tessuti (cute e/o polmone e/o rene). La maggior parte dei soggetti negativi al test genetico avevano solo sintomi renali o polmonari. Le lesioni cutanee tipiche erano presenti in 8/21 soggetti risultati positivi al test genetico esteso ai familiari. Nello studio sono state inoltre ottenute evidenze cliniche e molecolari che suggeriscono di includere l'oncocitoma parotideo tra le manifestazioni caratteristiche della BHDS.

Nel complesso, i risultati ottenuti contribuiscono a chiarire il quadro fenotipico della BHDS e a rifinire i criteri proposti dall'EBC.

PREVALENZA DELLE MUTAZIONI TMEM127 NEL FEOCROMOCITOMA SPORADICO

Giuseppe Opocher, Francesca Schiavi, Sara Bobisse, Elisa Taschin, Francesca Boaretto, Stefania Zovato

Unità Tumori Ereditari, Istituto Oncologico Veneto, IRCCS



ABSTRACT

11

Obiettivo: il feocromocitoma, tra le neoplasie endocrine ereditarie, rappresenta un caso molto particolare ed interessante. Infatti, e' l'unico tumore endocrino per il quale sono stati identificati molti diversi geni di suscettibilità che, attraverso meccanismi solo in parte sovrapposti, conducono allo sviluppo del tumore. Da tempo era noto il ruolo di mutazioni dei geni RET, VHL e NF1, ma lo studio della genetica del feocromocitoma ha registrato un grande sviluppo di interesse dopo la scoperta che anche i geni che codificano per le tre subunità della succinato deidrogenasi, SDHB, SDHC, SDHD contribuivano allo sviluppo del feocromocitoma e la dimostrazione che la quota dei soggetti a presentazione sporadica, ma portatori di mutazioni in uno dei diversi geni di suscettibilità, poteva anche superare il 20%. Recentemente abbiamo potuto contribuire all'identificazione di un nuovo gene, il cui nome e' TMEM 127, che predispone allo sviluppo del feocromocitoma (Nature Genetics 2010 Mar;42(3):229-33); non è ancora stata stimata la sua prevalenza nei soggetti con feocromocitoma.

Materiali e metodi: in un campione di soggetti con feocromocitoma apparentemente sporadico, afferenti presso la nostra Unità, abbiamo valutato la prevalenza di mutazione di TMEM127 insieme a quella dei geni VHL, RET, SDHB, SDHC, SDHD. In un gruppo di soggetti che presentavano anche ipercalcemia è stato studiato anche il gene MEN1. L'analisi e' stata condotta con sequenziamento automatico ed analisi MLPA, o multiplex, tranne che nel caso del gene RET.

Risultati: sono stati genotipizzati 231 soggetti affetti da feocromocitoma che non presentavano segni clinici indicativi di una forma sindromica o familiare. In 36 casi (15,5%) e' stato possibile dimostrare una mutazione predisponente così suddivisa: VHL= 9 (3,8%), SDHB= 7(3,0%), TMEM127= 7(3,0%), SDHD= 4 (1,7%), RET=3 (1,3%), MEN1=2 (0,86%). Non sono state identificate mutazioni del gene SDHC. I soggetti con mutazione TMEM127 avevano un'età di comparsa del feocromocitoma più elevata rispetto a quelli dei portatori di mutazione in uno degli altri geni; le mutazioni TMEM sono risultate più frequenti nei casi a presentazione bilaterale.

Conclusioni: questa analisi, eseguita in un numero consistente di casi di feocromocitoma apparentemente sporadico, indica che il gene TMEM 127 è associato ad un particolare fenotipo e può essere considerato, alla pari del gene SDHB, un gene di suscettibilità' maggiore per il feocromocitoma.



PROTOCOLLO DI STUDIO GENE CDH1

Simonetta Pozzi¹, Bernardo Bonanni², Monica Barile², Davide Serrano², Irene Feroce², Bernard Loris³, Guglielmina Nadia Ranzani⁴, Vito D'agostino⁴, Roberto Biffi¹

¹Istituto Europeo di oncologia divisione chirurgia addomino pelvica

²Istituto Europeo di oncologia divisione di prevenzione e genetica oncologica

³IFOM-IEO Campus

⁴Dipartimento genetica e microbiologia

ABSTRACT

12

Obiettivo: indagare una popolazione che ha criteri riconducibili ad una diagnosi di HDCG (Hereditary Diffuse Gastric Cancer), al fine di individuare possibili alterazioni in grado di far aumentare il rischio di neoplasia gastrica (CDH1, ampie delezioni, inserzioni, ASE, MiRNA). Il primo passo prevede lo screening del gene CDH1 effettuando il test su DNA genomico tramite sequenziamento. Le ampie delezioni o inserzioni non riscontrabili con questo primo metodo saranno studiate mediante MLPA (Multiple Ligation-dependent Probe Amplification). Nei campioni provenienti da pazienti risultati negativi anche all'MLPA, verrà analizzata l'espressione allele-specifica. L'ipotesi è che uno dei due alleli di CDH1 possa essere silenziato a livello costitutivo.

Materiali e metodi: la popolazione in studio sarà costituita da pazienti afferenti all'Istituto Europeo di Oncologia per patologia gastrica e selezionati secondo i seguenti criteri di inclusione:

- 1) due o più casi documentati di carcinoma gastrico in parenti di primo/secondo grado tra loro con almeno un caso di carcinoma gastrico diffuso diagnosticato prima dei 50 anni di età;
- 2) tre casi documentati di carcinoma gastrico in parenti di primo/secondo grado tra loro con almeno un CDG indipendentemente dall'età di insorgenza della malattia;
- 3) donne con diagnosi di tumore lobulare della mammella e di carcinoma diffuso dello stomaco (la presenza di entrambi gli istotipi in parenti di primo/secondo grado);
- 4) soggetti che abbiano sviluppato carcinoma gastrico di tipo diffuso ad età < a 45 anni anche in assenza di storia familiare positiva per carcinoma gastrico;
- 5) due o più casi documentati di carcinoma gastrico e del colon-retto in parenti di primo/secondo grado tra loro con almeno un caso di carcinoma gastrico diffuso.

La nostra ipotesi è quella di selezionare 60 soggetti che soddisfino i criteri sopra citati. I pazienti eleggibili saranno indirizzati alla divisione di Prevenzione e Genetica Oncologica per il colloquio informativo. Dopo aver spiegato lo studio e previa firma di consenso informato specifico viene effettuata la raccolta dei campioni di sangue venoso che dovranno essere processati entro 24 ore dal prelievo per l'estrazione di DNA e RNA. Lo studio prevede inoltre la consulenza post test, una volta ottenuti i risultati del sequenziamento del DNA genomico.

Risultati: ancora in corso, protocollo di studio iniziato a metà settembre.

Discussione: per i soggetti con test genetico positivo, e per i suoi consanguinei, saranno fornite le informazioni adeguate attraverso appropriata consulenza genetica durante la quale potrà essere discusso un programma personalizzato di sorveglianza, diagnosi precoce e/o chirurgia profilattica a seconda delle differenti situazioni e attitudine dei soggetti coinvolti. Nei soggetti con test genetico non informativo i risultati relativi all'espressione allelica specifica e dei MiRNA, essendo solo esplorative, non avranno una ricaduta clinica immediata.

LOW FREQUENCY OF MICROSATELLITE INSTABILITY AMONG EUROPEAN PATIENTS WITH PANCREATIC CANCER

Antonino Spinelli¹, Anna Brecht², Gianluca Basso¹, Paolo Bianchi¹, Guido Schumacher², Christoph Röcken³, Ilona Gräntzdörffer³, Massimo Roncalli^{4,5}, Peter Neuhaus², Marco Montorsi^{1,6}, Luigi Laghi¹, Alberto Malesci^{1,7}

¹Depts. of Gastroenterology, IRCCS-Istituto Clinico Humanitas, Rozzano

²Depts. of General Surgery and Trasplantation, Charité Campus Virchow, University of Berlin

³Depts. of Pathology, Charité Campus Virchow, University of Berlin

⁴Depts. of Pathology, IRCCS-Istituto Clinico Humanitas, Rozzano

⁵Depts. of Pathology, University of Milan

⁶Depts. of Surgery, University of Milan

⁷Depts. of Internal Medicine, University of Milan



ABSTRACT

13

Background: Inherited and acquired defects of the mismatch repair (MMR) genes are responsible for gastrointestinal cancers with microsatellite instability (MSI), which account for 10-15% of the cases. However, the reported prevalence of the MSI phenotype among pancreatic tumors varies widely from 1% to 10%, and the contribution to the inherited burden of pancreatic tumors remains to be determined. AIM. To assess the prevalence of tumors with the MSI phenotype among pancreatic neoplasms in Caucasian patients.

Materials and methods: We studied the prevalence of the MSI phenotype among 135 consecutive pancreatic tumor resections performed at an Italian and at a German referral center. Specimens from Italy comprised 10 ampullary cancers, 6 endocrine tumors and 57 pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC), and those from Germany 62 PDAC. MS-status was determined by taking advantage of mononucleotide repeat markers (BAT25 and BAT26), which are almost monomorphic in Caucasians.

Results: Only one out 119 (0.8%) PDAC showed MSI, and was identified in a 77 year old Italian patient (1.7%), as compared to 1 out 10 ampullary cancers (10%, P=0.2) arising in a member of a family diagnosed with Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (HNPCC) due to germ-line hMSH2 defect.

Conclusions: The prevalence of MSI was higher in pancreatic tumors other than PDAC in European patients. In PDAC MSI is a rare phenomenon, which does not contribute to the burden of pancreatic cancer, while it is encountered in less frequent, susceptible to radical surgery, pancreatic neoplasms which might arise in the context of HNPCC.



ABSTRACT

14

GERMLINE MUTATIONS OF THE TP53 GENE IN CENTRAL SUDANESE BREAST CANCER PATIENTS DIAGNOSED BEFORE AGE 45

Gitana Aceto¹, Serena Veschi¹, Khalid Dafaallah Awadelkarim², Elgaylani Abdalla Eltayeb², Ermanna Rovida⁴, Ida Biunno⁴, Nasr Eldin Elwali^{2,3}, Renato Mariani-Costantini¹

¹Center for Sciences on the Aging (CeSI), "G. d'Annunzio" University Foundation, Chieti, Italy

²Department of Molecular Biology, National Cancer Institute (NCI-UG), University of Gezira, Wad Medani, Sudan

³Department of Basic Sciences, College of Medicine, Al Imam Mohamed Bin Saud Islamic University, Riyadh 11432, Saudi Arabia

⁴Institute for Biomedical Technologies-National Research Council (ITB-CNR) Milano, Italy

Background and objective: Germ-line mutation in the TP53 gene are rare, but predispose women to a range of cancer types, including early-onset breast cancer (BC). TP53 mutation carriers have a risk of developing BC before 45 years more than 18 times higher than that of the general population. In the IARC TP53 mutation database, BC accounts for 25.3% of the tumors attributable to TP53 germline mutations often associated with the Li-Fraumeni syndromes (LFS). Few studies tested TP53 germline mutation prevalence in BC patient series outside the LFS context, and none in sub-Saharan African BC patients, where BC-related ethnic, reproductive and environmental factors are different from those prevailing in western populations. This study investigates the impact of TP53 germline mutations in a Central Sudanese BC series.

Methods: We studied a consecutive series of 94 consecutive female BC cases diagnosed before age 45 years at the Sudanese National Cancer Institute in Wad Medani, unselected for cancer family history. Exons 1-11 of the TP53 gene coding sequence were analyzed by denaturing high performance liquid chromatography (DHPLC) and direct sequencing using DNA from blood.

Results and Conclusions: In the 94 patients, we identify 10 TP53 germline variants. These included two pathogenetic mutations, i.e., c.817C>T (p.Arg273Cys), identified in a patient diagnosed at age 32, and c.918+1G>A (IVS8+1 G>A), identified in a patient diagnosed at age 30. The p.Arg273Cys mutation is a well known pathogenetic TP53 mutation associated with Li-Fraumeni syndrome and/or early onset breast cancer (IARC). The IVS8+1 G>A mutation is a novel mutation that targets the splice donor site of exon 8 and is predicted to affect the protein product. Other 3 patients carried new variants of TP53, including c.555C>T (p.Ser185Ser); c.1-10774C>T (5'UTR); c.1-10788G>C (5'UTR). Furthermore 5 variants previously reported as polymorphisms (rs56275308, rs1800372, rs1800899, rs17881850, rs17880172) were found in several patients. Frequencies of TP53 variants are being verified in 150 population controls from the same geographic area; the data obtained will be compared with the alleles frequency available from HapMap (NCBI) and the current literature. Conclusion: Overall, the study suggests that a fraction of the unselected BC cases with no evidence of LFS phenotype occurring in young women with strong reproductive history in sub-Saharan Africa could be ascribed to TP53 germline mutations.

SUSCETTIBILITA' GENETICA AL CARCINOMA MAMMARIO MASCHILE: ANALISI MUTAZIONALE DEI GENI BRCA1, BRCA2, PALB2, BRIP1 E RAD51C

Valentina Silvestri¹, Piera Rizzolo¹, Veronica Graziano¹, Mario Falchetti¹, Ines Zanna², Giuseppe Giannini³, Domenico Palli², Laura Ottini¹

¹Dipartimento di Medicina Molecolare, "Sapienza" Università di Roma

²Unità di Epidemiologia Molecolare e Nutrizionale, ISPO, Firenze

³Dipartimento di Medicina Sperimentale, "Sapienza" Università di Roma



ABSTRACT

15

Obiettivo: Il carcinoma mammario maschile (CMM) è una patologia rara e dall'eziologia ancora poco conosciuta. Come nella controparte femminile, i fattori di rischio genetici, tra cui le mutazioni germinali dei geni BRCA1 e BRCA2, hanno un ruolo rilevante anche nella patogenesi del CMM. Inoltre, a causa della sua rarità e dell'assenza di rischio associato alla storia riproduttiva dell'individuo, il CMM rappresenta un ottimo modello per lo studio della suscettibilità genetica al carcinoma mammario (CM).

Recentemente alcuni geni codificanti per proteine che interagiscono con BRCA1/2 nel mantenimento dell'integrità genomica, come CHEK2, PALB2, BRIP1 e RAD51C, sono stati associati al rischio di CM femminile ma il loro ruolo nel CMM è largamente sconosciuto. Il nostro studio si propone di valutare la prevalenza e lo spettro delle alterazioni in linea germinale dei principali geni di suscettibilità al CM in un'ampia serie di CMM, al fine di delucidare le basi della suscettibilità genetica di questa patologia.

Materiali e metodi: Lo studio è stato condotto su una serie di popolazione, epidemiologicamente caratterizzata, di 108 casi di CMM provenienti dall'area di Firenze. 30 dei 108 casi (27.8%) presentano una storia familiare di carcinoma della mammella o ovaio in parenti di primo grado. L'analisi mutazionale di BRCA1, BRCA2, CHEK2, PALB2, BRIP1 e RAD51C è stata condotta tramite SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism), PTT (Protein Truncation Test), HRM (High Resolution Melting) e sequenziamento automatico.

Risultati: 8 (7.4%) dei 108 casi sono risultati portatori di mutazioni in BRCA2 e 2 casi (1.9%) in BRCA1, confermando le mutazioni di BRCA2 come il maggior fattore di rischio genetico nel CMM. I casi negativi per mutazioni di BRCA1/2 sono stati quindi sottoposti ad analisi mutazionale dei geni CHEK2, PALB2, BRIP1 e RAD51C. Nessuna delle più comuni mutazioni patogenetiche di CHEK2 (1100delC, IVS2+1G>A and I157T) e nessuna mutazione troncante in PALB2, BRIP1 e RAD51C è stata identificata nella serie analizzata. Una nuova mutazione missenso di PALB2 (I1180T), indicata come patogenetica dall'analisi in silico, è stata identificata in un caso (~1%) e in nessuno dei 90 controlli sani analizzati. Numerose varianti comuni di PALB2, BRIP1 e RAD51C, per le quali può essere escluso un ruolo patogenetico, sono state identificate nella serie esaminata.

Conclusioni: Il nostro studio condotto su un'ampia serie di popolazione mostra che le mutazioni di BRCA1/2 giocano un importante ruolo nella suscettibilità al CMM e sono responsabili di circa il 9% dei casi di CMM. Al contrario, mutazioni in CHEK2, PALB2, BRIP1 e RAD51C sono responsabili di una minima percentuale (~1%) di casi di CMM. Complessivamente, nel nostro studio solo il 10% di casi di CMM è caratterizzato da alterazioni genetiche specifiche, suggerendo che altri fattori genetici e, probabilmente anche epigenetici, potrebbero essere coinvolti nella patogenesi del CMM.

18 NOVEMBRE 2010

15.30-17.00

**PERCORSI DIAGNOSTICI E TERAPEUTICI
NEI TUMORI EREDITARI:
ESPERIENZE A CONFRONTO**

Moderatori: L. Larizza - L. Roncucci



TR5 I TUMORI EREDITARI DEL COLON-RETTO

Liliana Varesco (Genova)

TR6 I TUMORI EREDITARI DELLA MAMMELLA

Laura Cortesi (Modena)

TR7 SINDROMI MEN

Alberto Falchetti (Firenze)

**TR8 PERCORSI DIAGNOSTICI NEL MELANOMA E
CARCINOMA PANCREATICO EREDITARIO**

Giovanna Bianchi-Scarrà (Genova)

Legenda: **TR** tavola rotonda



I TUMORI EREDITARI DEL COLON RETTO

Varesco Liliana

IST, Ist. Naz. Ricerca sul Cancro di Genova

Centro Tumori Ereditari



ABSTRACT

TR5

Negli ultimi anni sono stati identificati numerosi geni responsabili di forme di predisposizione al tumore colon-rettale; molti di questi sono noti ormai da quasi due decenni.

Le conoscenze accumulate sul loro spettro mutazionale, sulle stime di rischio cancro-specifiche e sulle correlazioni genotipo-fenotipo sono alla base di vari possibili algoritmi diagnostici.

Questi ultimi devono essere inseriti in percorsi assistenziali che assicurino una corretta gestione della problematica ‘tumori ereditari’ nell’ambito del più ampio capitolo della prevenzione del tumore colon rettale (rischio di popolazione, rischio familiarità).

I TUMORI EREDITARI DELLA MAMMELLA

Laura Cortesi, Elisabetta De Matteis, Elisabetta Razzaboni, Angela Toss, Valeria Lucarini, Manuela Proietto, Massimo Federico

Programma di Epidemiologia, Prevenzione Oncologica e Trials clinici

Azienda Ospedaliera Policlinico di Modena



ABSTRACT

TR6

Introduzione: Il carcinoma mammario ereditario rappresenta circa il 5-10% di tutte le neoplasie mammarie. La possibilità di identificare precocemente una predisposizione al carcinoma mammario rende l'argomento di grandissima rilevanza ai fini della prevenzione oncologica. In presenza di un sospetto clinico di carcinoma mammario/ovarico ereditario, l'analisi dei geni BrCa1 e BrCa2 può consentire la conferma, a livello molecolare, della predisposizione. Le forme ereditarie devono essere valutate all'interno di un percorso comprendente consulenza onco-genetica, eventuale test genetico e follow-up in cui siano presenti competenze professionali adeguate quali l'oncologo, il genetista, lo psicologo, il radiologo e il chirurgo.

Materiali e metodi: Il Centro per lo Studio dei Tumori Familiari della Mammella e dell'Ovaio di Modena è nato nei primi anni '90 con il fine di identificare soggetti a rischio eredo-familiare di neoplasie mammarie ed ovariche e di impostare piani mirati di prevenzione e sorveglianza. Tre sono le opzioni di prevenzione per le donne a rischio: 1) lo screening radiologico, che prevede l'inizio dei controlli a partire dai 25 anni e si basa su un esame ecografico semestrale e una mammografia associata a RM annuale; 2) la mastectomia sottocutanea profilattica che viene proposta qualora la paziente abbia già avuto una diagnosi di neoplasia mammaria o in fase pre-operatoria; 3) la farmacoprevenzione, che impiega gli inibitori dell'aromatasi in donne in postmenopausa.

Risultati: 287 carriers BRCA1/2 sono seguite presso il nostro centro, di cui 136 già affette e 151 sane. 109 BRCA1/2 carriers sono monitorate con RM, mammografia ed ecografia mammaria, attraverso cui abbiamo diagnosticato 9 carcinomi mammary. Per quanto riguarda la chirurgia profilattica 5 pazienti (3.6%) hanno eseguito la mastectomia controlaterale, mentre solo 2 carriers sane (1.3%) ha eseguito l'intervento bilaterale. Nell'ambito dell'attività di counselling oncogenetico preoperatorio, che consente l'identificazione di pazienti candidate al test e l'esecuzione dello stesso in sole 4 settimane, prima dell'atto chirurgico, abbiamo selezionato 57 pazienti eleggibili al test, di cui 18 (31.6%) sono risultate positive e 9 (50%) hanno eseguito la mastectomia bilaterale con ricostruzione. Infine i trials di farmacoprevenzione in corso riguardanti portatrici di mutazione impiegano antiaromatasi (Aromasin) e fenretinide. Tali studi sono tuttora in corso.

Conclusioni: Le caratteristiche dei tumori ereditari della mammella e dell'ovaio necessitano di un percorso multidisciplinare in cui l'attività di identificazione, diagnosi e sorveglianza degli individui a rischio sia differenziata rispetto a quella proposta per le neoplasie sporadiche. A tal proposito auspichiamo la nascita e lo sviluppo di Family Cancer Clinics su tutto il territorio nazionale.



SINDROMI MEN

Alberto Falchetti

Dipartimento di Medicina Interna, Università di Firenze e Centro Regionale Tumori Endocrini Ereditari, SOD di Malattie del Metabolismo Minerale ed Osseo, AOU Careggi Firenze



ABSTRACT

TR 7

I tumori neuroendocrini (NET) possono verificarsi in associazione con le sindromi delle neoplasie endocrine multiple (MEN). In generale, una MEN viene definita come una sindrome tumorale con ereditarietà autosomica dominante, caratterizzata dalla presenza di neoplasie in almeno due tessuti endocrini. Le MEN possono causare varie combinazioni di diversi tipi di tumore, sia in casi familiari che “simplex” o sporadici, che riflettono mutazioni in un gene critico. In generale, i tumori associati a MEN sono multifocali con insorgenza precoce rispetto alle controparti sporadiche non MEN. Due sono le sindromi MEN ben definite: la MEN1 e la MEN2. La MEN1 determina oltre 20 combinazioni di diversi tumori, endocrini e non, ha un’elevata penetranza, 100% entro i 50 anni ed espressività variabile. Data la variabilità estrema delle combinazioni tumorali associate a MEN1, non esiste una semplice definizione che possa comprenderle tutte. Pertanto, una definizione pratica di MEN1 consiste di un caso con 2 dei 3 principali tumori endocrini MEN1-correlati (adenomi delle paratiroidi, tumori endocrini enteropancreatici e tumori ipofisari). La MEN1 familiare è definita dalla presenza di almeno 1 soggetto affetto più la presenza in un parente di primo grado di almeno 1 dei 3 tumori principali e/o di una mutazione germinale del gene MEN1. Il meccanismo presunto unificante per la formazione del tumore nella MEN1 implica la perdita delle copie del gene in una cellula precursore del tumore. Il primo “hit” è ereditato dal genitore affetto ed è quindi presente in ogni cellula del corpo, mentre il secondo “hit” consiste nella perdita somatica della copia sana del gene. Il test genetico permette di identificare precocemente i pazienti portatori di una mutazione MEN1 ancorché asintomatici, con riduzione della morbilità e della mortalità. La MEN2 è anch’essa una sindrome ereditaria tumorale rara (MIM 171.400). Il proto-oncogene RET è stato identificato come il solo gene responsabile della MEN2. La MEN2 è suddivisa in tre varianti cliniche: MEN2A, circa il 55% dei casi di MEN2, FMTC (carcinoma midollare tiroideo familiare), 35%, e MEN2B, 10%. Tutte e tre le varianti mostrano un’elevata penetranza per il carcinoma midollare della tiroide (MTC). Il 90% dei portatori adulti MEN2 presenta segni di MTC che è in genere la prima manifestazione clinica, insorgente in età giovanile. La diagnosi di MEN2A/2B è basata sulla presenza di 2 o più specifici tumori endocrini (MTC, feocromocitoma, o adenoma/ipertrofia delle paratiroidi) in un singolo individuo, mentre FMTC è identificata in famiglie con ≥ 4 casi di MTC, in assenza di feocromocitoma o adenoma/ipertrofia delle paratiroidi. La MEN2B è clinicamente caratterizzata da un comportamento più aggressivo del MTC rispetto alle altre due varianti, e oltre a MTC e feocromocitoma comprende un fenotipo marfanoide e ganglioneuromatosi della mucosa intestinale. Tutte e tre le varianti sono causate da mutazioni missense attivanti del proto-oncogene RET. La probabilità di una mutazione de novo è $\leq 5\%$ nei casi indice con MEN 2A e 50% nei casi di indice con MEN 2B. Esiste una forte correlazione genotipo-fenotipo, in base al rischio di aggressività di MTC. E’, pertanto, possibile prevedere il fenotipo clinico, in rapporto al tipo di mutazione, e stabilire l’età a cui eseguire la tiroidectomia profilattica.

PERCORSI DIAGNOSTICI NEL MELANOMA E CARCINOMA PANCREATICO EREDITARIO

P Ghiorzo, W Bruno, G Bianchi Scarrà

AOU SanMartino Genova - Genetica dei tumori ereditari rari



ABSTRACT

TR8

Premesse: Il melanoma ereditario è una sindrome il cui gene di suscettibilità *CDKN2A* è mutato in circa il 40 % delle famiglie con 3 melanomi (A.Goldstein 2007). Esiste una significativa associazione con l'adenocarcinoma pancreatico (ACP), mentre si sta ancora valutando quella con i tumori del SNC e il melanoma oculare. Il percorso diagnostico per il melanoma ereditario, e i criteri per l'accesso al test genetico, sono stati fonte di discussione soprattutto per la diversa incidenza di questo tumore e per il diverso ruolo della esposizione ambientale nel suo sviluppo nelle varie aree geografiche. La recente revisione internazionale dei criteri di accesso al test genetico per melanoma ereditario (Leachman, JAAD, 2009) stabilisce che la variabilità dell'incidenza del melanoma e della penetranza delle mutazioni dei geni di suscettibilità è tale che è consigliabile che i clinici seguano criteri adattati all'incidenza del melanoma nella propria popolazione, riservandosi la possibilità di indirizzare alla consulenza genetica anche casi sporadici di melanoma multiplo (MPM), allo scopo di identificare ulteriori coorti di pazienti ad alto rischio. In particolare sottolinea per i clinici il criterio dei 3 eventi neoplastici, includendo l'ACP.

Scopi: Allo scopo di verificare in Italia quale e come fosse distribuita la frequenza di positività per *CDKN2A* nelle famiglie abbiamo allestito un progetto cooperativo interregionale.

Metodi: 9 centri di genetica (Bruno, JAAD 2009), hanno contribuito allo studio includendo famiglie (2 affetti da melanoma, confermati istologicamente, in 2-3 generazioni) secondo le raccomandazioni nazionali della SIGU-ONC. Il gene *CDKN2A* viene analizzato per sequenza diretta, includendo oltre 100 nucleotidi del 5'UTR, e per MLPA per escludere microdelezioni nei casi negativi.

Risultati: Lo studio ha evidenziato che: a) la prevalenza di mutazione è del 33%; b) è dovuta essenzialmente a mutazioni di *CDKN2A* ricorrenti/fondatore (50%), di cui G101W rappresenta il 60%, mentre nel restante 50% di mutazioni private esiste una piccola frazione di alterazioni genomiche nel 5'UTR di cui è necessaria una sistematica valutazione sulla funzionalità traduzionale (A.Bisio Human Genetics 2010); c) è correlata al N° di casi di melanoma nella famiglia, ma specificatamente al N° di casi di MPM e che il 23% dei casi di melanoma ereditario *CDKN2A* positivi ha sviluppato MPM; d) non differisce significativamente tra famiglie in cui sono stati testati 2 affetti vs 1 affetto, avendo come criterio di ammissione la certificazione anche del secondo melanoma.

Discussione: Il criterio di accesso al test utilizzato in Italia e raccomandato dalla SIGU-ONC appare coprire in modo soddisfacente la probabilità di trovare mutazioni. Il dato sulla rilevanza del MPM nelle famiglie è in accordo con uno studio ligure su casi di MPM (Pastorino, 2008) che ha riportato la presenza di mutazioni in *CDKN2A* (indipendente dalla storia familiare) pari al 32.6%, implicando un rischio di positività per *CDKN2A* 4 volte superiore a quella dei casi singoli. L'introduzione del criterio di accesso al test per il melanoma multiplo implicherebbe importanti ricadute sulla pratica clinica e il follow-up di pazienti ad alto rischio attualmente identificati solo nell'ambito di progetti di ricerca. Il percorso diagnostico per ACP ereditario è attualmente alla base di diversi protocolli di ricerca che vengono brevemente discussi.

19 NOVEMBRE 2010

9.00-10.30

**MANAGEMENT DI SOGGETTI A RISCHIO:
PROBLEMI ATTUALI E NUOVE
PROSPETTIVE**

Moderatori: A. Malesci - S. Sacchi



- TR9 TUMORI EREDITARI DELLA TIROIDE**
Furio Pacini (Siena)
- TR10 CHIRURGIA PROFILATTICA NEI CARRIERS DI
MUTAZIONE BRCA1/2**
Daniela Terribile (Roma)
- TR11 COSA VI È DI NUOVO PER I TUMORI RARI: LA S.
DI PEUTZ-JEGHERS**
Nicoletta Resta (Bari)
- TR12 RETINOBLASTOMI**
Antonio Acquaviva (Siena)

Legenda: **TR** tavola rotonda



TUMORI EREDITARI DELLA TIROIDE

Furio Pacini

Sezione di Endocrinologia e Metabolismo, Università di Siena



ABSTRACT

TR9

Le neoplasie maligne della tiroide possono originare dalle cellule follicolari (carcinoma papillare e follicolare) deputate alla produzione degli ormoni tiroidei o dalle cellule parafollicolari (carcinoma midollare) deputate alla produzione di calcitonina. Sebbene prevalentemente sporadiche, sia le forme papillari che quelle midollari possono presentarsi in forma eredo-familiare.

Nel caso dei carcinomi papillari, l'associazione familiare è riportata nel 10% circa dei pazienti, in forma isolata, non sindromica. A livello somatico le mutazioni ritrovate in questi tumori sono le stesse note nei carcinomi sporadici, e non è stato identificato alcun gene candidato a livello germinale. Le forme familiari sono caratterizzate dalla presenza del fenomeno della "anticipazione genica", ovvero la malattia si presenta in età più giovane e con maggiore aggressività nelle generazioni successive alla prima. Recentemente è stata descritta una alterazione del complesso telomero-telomerasi a livello germinale, consistente in un accorciamento dei telomeri e in una riattivazione della telomerasi significativa rispetto ai carcinomi sporadici. Questa alterazione potrebbe essere alla base della suscettibilità a sviluppare la forma familiare.

Nel caso dei carcinomi midollari familiari, le nostre informazioni sono molto più avanzate. Il carcinoma midollare della tiroide si manifesta in forma familiare nel 20% dei casi e si trasmette con carattere autosomico dominante nell'ambito delle Neoplasie Endocrine Multiple di tipo II, caratterizzate dalla ricorrenza di carcinoma midollare, feocromocitoma e adenomi delle paratiroidi. Il gene responsabile è il gene RET, che tramite mutazioni puntiformi germinali conferisce la suscettibilità ed è presente nel 100% delle famiglie affette. Poiché i portatori del gene sviluppano il carcinoma midollare praticamente nel 100% dei casi, la ricerca della mutazione nei familiari del probando permette di identificare precocemente i "gene carriers" nei quali è consigliato l'intervento profilattico di tiroidectomia totale. A seconda dell'aggressività biologica delle varie mutazioni è stata elaborata una stratificazione di rischio che detta l'età alla quale eseguire l'intervento chirurgico: nei primi anni di vita per le mutazioni più aggressive o dopo i 10 anni per quelle meno aggressive.

CHIRURGIA PROFILATTICA NEI CARRIERS DI MUTAZIONE BRCA1/2

D Terribile, G Franceschin, A Di Leone, A Scaldaferrì, R Masetti

U.O.C. di Chirurgia Senologica - Università Cattolica del Sacro Cuore - Roma



ABSTRACT

TR10

Le donne portatrici di una mutazione nei geni BRCA1 o BRCA2 hanno una probabilità rispettivamente del 45-60% e del 25-40% di sviluppare un tumore alla mammella nell'arco di vita (rispetto al 10% della popolazione generale) ed un rischio di sviluppare un tumore all'ovaio del 20-40% (nei BRCA1) e del 10-20% (nei BRCA2) rispetto all'1-2% della popolazione generale. Nel corso degli anni le strategie mirate alla riduzione del rischio di sviluppare un tumore alla mammella e/o all'ovaio hanno approfondito quattro indirizzi principali: sorveglianza strumentale, chirurgia profilattica, farmaco-prevenzione e cambiamento dello stile di vita. La chirurgia profilattica, rivolta sia a livello mammario sia ovarico, continua ad occupare un ruolo decisamente importante ed essenziale oltre a riscuotere un notevole interesse da parte dei medici, delle donne nonché dei media. L'assenza di studi randomizzati, la carenza di uniformità di criteri di inserimento, di trattamento chirurgico e di lunghezza di follow up hanno reso e rendono difficile la formulazione di linee guida condivise a livello nazionale ed internazionale. Tuttavia alla luce dei risultati attuali riguardo l'efficacia della chirurgia profilattica nel ridurre il rischio di questi tumori ereditari comincia ad essere possibile stabilire una serie di raccomandazioni ed indicazioni basate per lo più su livello di evidenza di tipo III. L'opzione della mastectomia bilaterale profilattica (MBP) per la prevenzione del carcinoma mammario dovrebbe essere discussa con le portatrici di mutazioni dei geni BRCA1/2 in relazione ai dati che hanno mostrato una riduzione del rischio di sviluppare un carcinoma mammario dell'85-90% attraverso l'attuazione di MBP. Sempre in questo gruppo di donne, l'annessiectomia profilattica (AP) riduce il rischio di carcinoma ovarico/tubarico oltre che quello mammario. In particolare nelle portatrici di mutazioni del gene BRCA1, l'AP dovrebbe essere proposta dopo il completamento del piano riproduttivo, e differita dopo i 40 anni solo dopo un'esauriente discussione dei rischi e benefici. Nelle portatrici di mutazioni del gene BRCA2 l'AP può essere proposta tra i 40-50 anni, ma se eseguita dopo la menopausa non si associa all'effetto protettivo rispetto al carcinoma mammario. Anche dal punto di vista tecnico si è verificata un'evoluzione consistente. L'intervento oggi consigliato e/o attuato a livello mammario è rappresentato dalla mastectomia "nipple sparing" associata a ricostruzione immediata, con caratteristiche in termini di risultati estetici e di sicurezza oncologica sicuramente superiore rispetto all'intervento di mastectomia sottocutanea utilizzato in passato così come l'approccio laparoscopico per l'annessiectomia profilattica è da considerare il gold standard. Le opzioni chirurgiche di riduzione del rischio di carcinoma mammario rappresentano comunque atti irreversibili che possono essere gravate da ripercussioni psicologico-relazionali e/o fisiologiche. L'effetto protettivo di questi interventi deve essere soppesato rispetto alle possibili complicazioni chirurgiche ed i problemi psicosociali derivanti (instabilità emotiva, stima di se stessi, livello di stress, relazioni sessuali). Inoltre, la chirurgia profilattica diminuisce in modo significativo ma non azzerata la possibilità che la malattia si sviluppi. Appare quindi di fondamentale importanza il fatto che ogni donna possa considerare adeguatamente gli aspetti medici e non medici di una scelta riguardo la riduzione del proprio rischio di sviluppare un tumore del seno o dell'ovaio attraverso un counselling ad hoc inserito in un contesto multidisciplinare e specialistico opportunamente coordinato.



COSA VI È DI NUOVO PER I TUMORI RARI: LA SINDROME DI PEUTZ-JEGHERS

Nicoletta Resta

Dipartimento di Biomedicina dell'Età Evolutiva. Università degli Studi di Bari



ABSTRACT

TR 11

La sindrome di Peutz-Jeghers (PJS) è una malattia autosomica dominante, caratterizzata principalmente dalla presenza di polipi amartomatosi gastrointestinali, pigmentazioni mucocutanee e da incrementato rischio di sviluppare tumori a carico di vari organi. In particolare conferisce un rischio elevato di tumore del colon, dello stomaco, dell'ovaio (cellule della granulosa), del testicolo (cellule del Sertoli), del collo dell'utero e del pancreas, e un rischio di tumore della mammella paragonabile a quello conferito da mutazioni dei geni BRCA1 e BRCA2. E' una malattia rara e la sua frequenza è probabilmente inferiore a 1/50.000. Mutazioni germinali del gene LKB1 codificante per una chinasi con funzione di oncosoppressore risultano responsabili della stragrande maggioranza dei casi PJS.

L'applicazione di nuove tecniche (MLPA) ed i risultati negativi della ricerca di mutazioni in altri loci funzionalmente correlati al prodotto del gene LKB1 rendono remota l'ipotesi avanzata di eterogeneità genetica nei pazienti PJS. Infatti il ricorso all' MLPA permette di evidenziare delezioni genomiche quando il sequenziamento non evidenzia mutazioni. Sono state identificate delezioni parziali coinvolgenti alcuni esoni del gene LKB1, il promotore e l'esone immediatamente a valle, oltre a delezioni comprendenti l'intero gene e le regioni contigue, nel 30% dei pazienti affetti da PJS (15 delezioni su un campione di 51 pazienti PJS). Combinando i risultati ottenuti mediante tecniche FISH con sonde fosmidiche, qPCR, custom CGH-array, long-range PCR per tutte le delezioni è stato possibile mappare e clonare i punti di rottura. Le delezioni caratterizzate presentavano una estensione variabile: da poche Kb a 180 kb. Due presentavano estensione atipica, rispettivamente 123 Kb e 180 Kb. In entrambe oltre al locus LKB1 risultavano deleti rispettivamente 7 e 8 geni contigui. Il sequenziamento dei punti di rottura in tutte le delezioni identificate evidenziava i meccanismi molecolari responsabili della loro insorgenza e la non casualità: ricombinazione ineguale AluY-mediata (NAHR), microhomology-mediated end-joining (MMEJ) o non-homologous end-joining (NHEJ).

RETINOBLASTOMI

Antonio Acquaviva

Registro Italiano del Retinoblastoma (RIR). Dipartimento di Pediatria, Ostetricia e Medicina della Riproduzione, Università degli Studi di Siena



ABSTRACT

TR12

Il retinoblastoma (RB) è la neoplasia maligna oculare più frequente in età pediatrica. E' un tumore raro (incidenza di 1:12-20.000 nati vivi/anno). Raramente si sviluppa nell'adulto. Il RB è oggi curabile e guaribile in circa il 95% dei casi. Il RB può svilupparsi in un solo occhio o in entrambi gli occhi e può essere originariamente sia unifocale che multifocale. Circa il 70% è unilaterale e il 30% si presenta in forma bilaterale. L'età d'insorgenza è più precoce nei bilaterali. I casi unilaterali osservati nei primi 6 mesi di vita hanno un elevato rischio di bilateralizzarsi. Il RB, che rappresenta il modello per eccellenza di tumore ereditario nell'uomo e che ha permesso la scoperta dei geni oncosoppressori, può essere di 2 tipi: a) sporadico o b) ereditario o genetico. La predisposizione ereditaria è legata ad alleli mutanti ad alta penetranza (80-90%) mappati sul locus Rb1 della banda q14 del cromosoma 13. Tale predisposizione può essere ereditata come tratto autosomico dominante. Il gene RB1 fa parte della "retinoblastoma genes family" a cui appartengono anche il gene RB2/p130 e il gene RB2/p107. Con tecniche di biologia molecolare sono state finora documentate oltre 930 diverse mutazioni a carico di RB1. La conoscenza delle basi genetiche del RB ha consentito la formulazione della consulenza genetica in modo completo e personalizzato. Attualmente emergono diverse tipologie di rischio riproduttivo: Casi sporadici: sono il 60-70% dei casi. A) Genitori del soggetto ammalato: il rischio di trasmettere la malattia ad altri figli è trascurabile; B) Soggetto ammalato: il rischio di trasmettere il RB ai figli è trascurabile: la mutazione è presente solo nel tessuto tumorale e non nei gameti. La probabilità di avere un figlio ammalato è sovrapponibile a quella della popolazione generale, essendo legata alla possibilità, molto remota, di una mutazione "de novo" in un gamete al concepimento. Casi Ereditari o Genetici (bilaterali o monolaterali multifocali): sono circa il 40% del totale. Al suo interno sono possibili diverse condizioni di rischio: 1) Soggetti ammalati e/o guariti di RB: sono portatori di mutazione germinale che possono trasmettere a ogni figlio con una probabilità del 50%. Il figlio che riceve la mutazione germinale ha la probabilità del 90% di sviluppare un RB ereditario; 2) Genitori di un soggetto con RB ereditario "de novo": I genitori non sono portatori di una mutazione germinale (90-95% dei casi) e il rischio di avere un secondo figlio ammalato è trascurabile. E' possibile però che uno dei due coniugi possieda una piccola popolazione di cellule gametiche (clone) con una "mutazione germinale in mosaico" (5-10%): in tal caso il rischio di trasmettere la mutazione al concepimento è del 3-5% e il figlio che erediterà la mutazione ha il 90% di rischio di sviluppare il tumore. I pazienti con RB ereditario e trattati con radioterapia hanno un rischio 500 volte maggiore rispetto alla popolazione generale di sviluppare una seconda neoplasia maligna (SNM). Nel RIR sono state finora segnalate 48 SNM su 1364 pazienti (3,5%) in un periodo variabile tra 1- 48 anni dopo la diagnosi. Principali ricerche in corso: 1) marcatori di suscettibilità e/o predittivi di risposta alle terapie citostatiche: alterazioni nell'espressione di geni codificanti proteine regolatorie del ciclo cellulare nella "retinoblastoma genes family". L'identificazione di tali proteine consentirà lo sviluppo e l'impiego di farmaci demetilanti a scopo preventivo o terapeutico; 2) correlazione genotipo-fenotipo e fattori prognostici, allo scopo di modulare la terapia antiproliferativa.

COMUNICAZIONI ORALI

19 NOVEMBRE 2010

11.00-13.00



TUMORI EREDITARI DEL COLON-RETTO

Moderatori: E. Villa - G. Delaini

- 16 MISMATCH REPAIR DEFECTS AND RISK OF NODAL METASTASIS IN MSI COLORECTAL CANCERS**
Luigi Laghi et al. (Rozzano, MI)
- 17 MS-STATUS PREDICTS METASTASIS AT DIAGNOSIS AND PATIENTS' SURVIVAL IN SYNCHRONOUS COLORECTAL CANCER**
Lucia Fini et al. (Rozzano, MI)
- 18 METILAZIONE DEL PROMOTER DI MLH1 E MUTAZIONE DEL GENE BRAF NEL CARCINOMA COLORETTALE CON DEFICIT DEL MISMATCH REPAIR**
Giovanni Lanza et al. (Ferrara)
- 19 RUOLO DELLA FLUORESCENZA NATIVA DEL PLASMA UMANO NELLA DIAGNOSI DELLE NEOPLASIE COLORETTALI EREDITARIE**
Alberto Vannelli et al. (Milano)
- 20 ANALISI GLOBALE ED IDENTIFICAZIONE DI EVENTI DI SPLICING B-CATENINA DIPENDENTI IN LINEE CELLULARI DI CANCRO DEL COLON**
Alessandro Stella et al. (Bari)
- 21 DELEZIONE DI TACSTD1 E METILAZIONE DI MSH2 NELLA SINDROME DI LYNCH: 2 NUOVI CASI DA UNA CASISTICA ITALIANA**
Alessandra Viel et al. (Aviano, PN)
- 22 DIFFERENTE CORRELAZIONE DELLA LUNGHEZZA TELOMERICA CON L'ETA' IN PORTATORI DI MUTAZIONE NEI GENI MSH2 E MLH1**
Cristina Bozzao et al. (Bari)
- 23 SELEZIONE E SORVEGLIANZA DI 19 FAMIGLIE AFFETTE DA SINDROME DI LYNCH: ESPERIENZA NEL SUD ITALIA**
Patrizia Lastella et al. (Bari)
- 24 MICRORNAS EXPRESSION PROFILE IN COLORECTAL CANCER PATIENTS AND CLINICO-PATHOLOGICAL CORRELATION**
Ada Piepoli et al. (San Giovanni Rotondo, FG)
- 25 TRASCRITTI ALTERNATIVI NEI TUMORI DEL COLON-RETTO: IDENTIFICAZIONE MEDIANTE DNA MICROARRAYS**
Orazio Palumbo et al. (San Giovanni Rotondo, FG)
- 26 ESPRESSIONE ALLELICA DEL GENE MYH IN PAZIENTI CON POLIPOSII, APC-NEGATIVI**
Maria Cristina Curia et al. (Chieti-Pescara)
- 27 LA MUTAZIONE C.34G>T DEL GENE KRAS COME MARCATORE PRECOCE DELLE POLIPOSII ASSOCIATE AL GENE MUTYH (MAP)**
Tiziana Venesio et al. (Torino)



ABSTRACT

16

MISMATCH REPAIR DEFECTS AND RISK OF NODAL METASTASIS IN MSI COLORECTAL CANCERS

Luigi Laghi^{1,2}, Paolo Bianchi², Gabriele Delconte¹, Giuseppe Celesti², Giuseppe Di Caro², Barbara Jung³, Valter Torri⁴, Massimo Roncalli^{5,6}, Alberto Malesci^{1,6}

¹Department of Gastroenterology, IRCCS Istituto Clinico Humanitas, Rozzano (MI)

²Laboratory of Molecular Gastroenterology, IRCCS Istituto Clinico Humanitas, Rozzano (MI)

³Department of Medicine, University of California at San Diego, La Jolla, United States

⁴Laboratory of Clinical Research in Oncology, Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Milano

⁵Department of Pathology, IRCCS Istituto Clinico Humanitas, Rozzano (MI)

⁶Department of Translational Medicine, University of Milan, Milano

Introduction/Objectives: CRC with microsatellite-instability (MSI) have a better outcome than their chromosome unstable counterpart. However, the molecular basis for the prognostic advantage of MSI cancers has not been clearly established. In particular, it is not known whether a correlation exists between the metastatic potential of MSI tumors and the specific mismatch repair (MMR) defects determining genetic instability.

Aims & methods: We investigated specific molecular features of MSI CRC for possible interaction with prognosis. One hundred and nine MSI CRC were typed for primary MMR defect and for secondary loss of MMR proteins. Frameshifts at 7 target genes, mutations in the RAS-pathway, and methylation at hMLH1/p16 promoters, were searched. The interplay of molecular findings with clinico-pathological features and patient survival was analysed.

Results: Two of 3 hMSH6-deficient cancers had metastasis at diagnosis ($p < 0.001$ vs. hMLH1/MSH2-deficient CRC). No further association was seen between primary MMR defect and tumor stage or outcome. Secondary loss of both hMSH3 and hMSH6 was documented in each hMSH2-deficient cancer ($n=22$). Of 84 hMLH1-deficient CRC, 31 (36.9%) had hMSH3 and 11 (13.1%) had hMSH6 loss ($p < 0.001$). Bi-allelic frameshifts at mononucleotide repeats accounted for most (81%) hMSH3 losses in hMLH1-deficient CRC. The number of mutated target genes was higher in hMSH3-negative tumors (3.94 ± 1.56 vs. 2.79 ± 1.75 ; $p < 0.001$). Thirty of 56 (53.6%) tumors expressing hMSH3, but only 10 of 43 (18.9%) with hMSH3 loss ($p < 0.001$), had nodal involvement at pathology. hMSH3 loss was an independent predictor of N0 at pathology ($p < 0.001$) and of better disease-free survival after resection of stage II/III CRC ($p=0.03$). No other molecular feature was independently associated with tumor stage or survival.

Conclusion: MSI CRC lacking hMSH3 expression have a lower rate of nodal involvement at diagnosis and a better outcome after radical resection. hMSH3 loss is caused by protein degradation in hMSH2-deficient tumors, or by stochastic occurrence of bi-allelic frameshift mutations at hMSH3 in hMLH1-deficient CRC. Studies are needed to establish whether and how the more severe mutator phenotype contributes to the reduced tumor invasiveness of hMSH3-negative tumors.

MS-STATUS PREDICTS METASTASIS AT DIAGNOSIS AND PATIENTS' SURVIVAL IN SYNCHRONOUS COLORECTAL CANCER

Lucia Fini¹, Gabriele Delconte¹, Gianluca Basso², Alessandro Repici¹, Massimo Roncalli^{3,4}, Paolo Bianchi², Alberto Malesci^{1,4}, Luigi Laghi^{1,2}

¹Department of Gastroenterology, IRCCS Istituto Clinico Humanitas, Rozzano (MI)

²Laboratory of Molecular Gastroenterology, IRCCS Istituto Clinico Humanitas, Rozzano (MI)

³Department of Pathology, IRCCS Istituto Clinico Humanitas, Rozzano (MI)

⁴Department of Translational Medicine, University of Milan, Milano



ABSTRACT

17

Introduction/Objectives: Presence of Synchronous Colorectal Cancer (S-CRCs) is included in the Bethesda Criteria panel addressing the assessment of microsatellite instability (MSI), a mutator phenotype of CRC with better long term prognosis. In contrast with such association between S-CRCs and MSI, available data suggest that S-CRCs have a poorer outcome compared to their solitary counterpart. Additionally, S-CRCs as a naturally occurring experiment allow to compare clonal changes within paired tumors to see whether field effects account for their development.

Aims & methods: In a large consecutive and mono-institutional series of 1000 CRCs characterized for MS-status, we aimed to assess the frequency of S-CRCs, their clinico-pathological features, molecular alterations, and patients' (pts) prognosis. We performed a retrospective analysis of clinico-pathological characteristics, and post-surgical survival (disease specific survival, DSS) of 1000 monocentric patients with CRC [102 (10,2%) MSI-CRC, 30 (3,3%) being HNPCC]. S-CRCs pairs were also characterized for MS-status, BRAFV600E and KRAScod12 mutations.

Results: A total of 90 S-CRCs occurred in 43 (4.3%) patients (4 having 3 S-CRCs). S-CRCs were more frequent in pts with MSI (10/102, 9,8 %) than in those with MSS (33/ 898, 3.67%; OR=2.84; IC=1.36-5.96; p=0.004) CRC, and HNPCC (3 hMSH2-, 2 hMLH1-, and 1 MSH6-deficient) accounted for the excess rate of S-CRCs with MSI. Overall, pts with SCRCs had a shorter survival than pts with solitary ones (p=0.01), due to the worse DSS of pts with MSS S-CRCs (p=0.006 vs solitary MSS CRC pts, and p<0.001 vs pts with any MSI CRC). Accordingly, MSS S-CRCs had a higher rate of stage IV at diagnosis (15/33, 45.5%) than MSS solitary (230/865, 26.6%; p= 0.01), or MSI (9/102; 8.8%; p=<0.001) CRCs. In S-CRCs, MS-status was concordant in all 6 HNPCC pairs. However, discordance in S-CRCs pairs was found for the mutually exclusive BRAFV600E and KRAScod12 mutations, irrespectively of MS-status.

Conclusion: The frequency of S-CRCs was higher than that of HNPCC, to which S-CRCs were indeed associated. MSS S-CRCs were a cancer subtype marked by a poor prognosis and a high rate of distant organ metastasis. These findings suggest that MSS-SCRCs have an increased metastatic potential as compared to MSS solitary cancers, and to MSI CRC (both solitary and synchronous). In keeping with the Bethesda Criteria, a field effect for MS-status was always detectable only in HNPCC in our series.



METILAZIONE DEL PROMOTER DI MLH1 E MUTAZIONE DEL GENE BRAF NEL CARCINOMA COLORETTALE CON DEFICIT DEL MISMATCH REPAIR

Giovanni Lanza, Linda Ulazzi, Iva Maestri, Cristina Zampini, Eros Magri, Fernanda Mora, Daniela Nardo, Roberta Gafà

Dipartimento di Medicina Sperimentale e Diagnostica, Università di Ferrara; Anatomia Patologica, Azienda Ospedaliero - Universitaria di Ferrara

ABSTRACT

18

Obiettivo: Studi recenti hanno evidenziato che l'analisi della metilazione del promoter di MLH1 e della mutazione del gene BRAF possono essere utilizzate per differenziare i carcinomi coloretali MSI-H MLH1-negativi ereditari (sindrome di Lynch) da quelli sporadici.

Scopo dello studio è stato valutare la mutazione di BRAF e la metilazione del promoter di MLH1 in una ampia casistica di carcinomi coloretali con deficit del DNA mismatch repair (MMR).

Materiali e metodi: Lo stato del MMR è stato determinato prospettivamente mediante analisi immunostochimica della espressione delle proteine MLH1, MSH2, MSH6 e PMS2 e analisi della instabilità dei microsatelliti (MSI) in 1978 carcinomi coloretali consecutivi asportati chirurgicamente dal gennaio 2004 al dicembre 2009. La MSI è stata valutata mediante PCR fluorescente utilizzando i cinque primer del panel di Bethesda (BAT25, BAT26, D2S123, D5S346, D17S250) e il BAT40. Nei tumori con deficit del MMR (MMR-D) sono state valutate la metilazione del promoter di MLH1 mediante methylation specific PCR e la mutazione V600E del gene BRAF con sequenziamento diretto.

Risultati: 290 (17,2%) carcinomi coloretali sono stati classificati come MMR-D (perdita di espressione di una o più proteine e/o MSI-H). La maggioranza dei tumori MMR-D ha evidenziato perdita di espressione della proteina MLH1 (237, 81,7%) associata a perdita di espressione di PMS2. Metilazione del promoter di MLH1 è stata riscontrata in 191/214 (89,3%) carcinomi MSI-H MLH1-negativi e in 2/46 (4,3%) carcinomi MSI-H MLH1-positivi. Mutazione V600E del gene BRAF è stata osservata in 102/152 (67,1%) carcinomi MSI-H MLH1-negativi e soltanto in 1 (2,8%) dei 36 carcinomi MSI-H MLH1-positivi esaminati. La mutazione di BRAF è stata riscontrata soltanto in tumori che presentavano metilazione del promoter di MLH1.

Conclusioni: I nostri risultati confermano che l'analisi della metilazione del promoter di MLH1 e soprattutto lo studio dello stato mutazionale del gene BRAF possono essere utilizzati per selezionare i pazienti con carcinoma coloretale MSI-H MLH1-negativo di possibile natura ereditaria.

RUOLO DELLA FLUORESCENZA NATIVA DEL PLASMA UMANO NELLA DIAGNOSI DELLE NEOPLASIE COLORETTALI EREDITARIE

Alberto Vannelli, Ambrogio Colombo, Manuela Lualdi, Elisa Sottotetti, Daniele Morelli, Luigi Battaglia, Adalberto Cavalleri, Ermanno Leo

Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori Milano



ABSTRACT

19

Razionale: L'elaborazione di adeguati programmi di sorveglianza per la diagnosi precoce dei tumori ereditari coloretali nei familiari asintomatici a rischio, rientra tra le priorità della diagnosi precoce. L'analisi spettroscopica della fluorescenza delle biomolecole è considerata un metodo promettente per la discriminazione dei tessuti sani da quelli patologici¹. In un nostro precedente studio, abbiamo investigato il ruolo dell'Intensità di Fluorescenza nativa (IF) del plasma umano nella discriminazione di pazienti portatori di neoplasie coloretali dai soggetti sani². Nel presente studio abbiamo analizzato la fluorescenza nativa del plasma di soggetti portatori di cancro coloretale ereditario (HCRC).

Pazienti e Metodo: Lo studio ha coinvolto 30 soggetti portatori di HCRC (62% maschi e 38% femmine; età media 32.5), di cui 27 pazienti con poliposi adenomatosa familiare (FAP), 2 pazienti con sindrome di Lynch e 1 paziente con sindrome di Peutz–Jeghers (PJS). Ad ogni soggetto reclutato è stato prelevato un campione di sangue; e uno spettro completo della frazione plasmatica è stato analizzato con uno spettrofluorimetro.

Risultati: Il picco di fluorescenza nativa tra 615-635 nm, ragionevolmente dovuto alle porfirine endogene, è risultato significativamente diverso tra i soggetti portatori di HCRC (valore mediano 16.16 u.a, valore medio 18.77 ± 4.62 u.a.) e gli individui della popolazione di controllo (valore mediano 13.29 u.a, medio 13.09 ± 2.15 u.a.) con un minimo p level a 623nm ($p < 0.0001$). Il potere diagnostico dell'intensità di fluorescenza a 623nm nella discriminazione tra soggetti sani e portatori di HCRC è stato testato mediante analisi ROC; l'area sottesa dalla curva è risultata pari a 0.75. Considerando una valore di cut-off di 13.38 u.a. sull'intensità di fluorescenza a 623nm abbiamo ottenuto una sensibilità del 92% per HCRC.

Conclusioni: I risultati finora ottenuti indicano che IF è un test economico, non invasivo e con una buona accuratezza diagnostica; l'utilizzo di IF da affiancare alle metodiche già in uso nei programmi di sorveglianza per la diagnosi precoce dei tumori ereditari coloretali, può pertanto rappresentare un valido ausilio.

Riferimenti bibliografici:

1. Crowell E et al: Correlation coefficient mapping in fluorescence spectroscopy: tissue classification for cancer detection. *Analytical Chem* 77, 2303-2310 (2005)
2. Lualdi M et al: Colorectal cancer detection by means of optical fluoroscopy. A study on 494 subjects. *Front Bio E2* 694-700 (2010)



ANALISI GLOBALE ED IDENTIFICAZIONE DI EVENTI DI SPLICING β -CATENINA DIPENDENTI IN LINEE CELLULARI DI CANCRO DEL COLON

Alessandro Stella^{1,2}, Patrizia Lastella¹, Daria Loconte¹, Claudia Gaspar², Andreas Kremer³, Riccardo Fodde²

¹Sezione di Genetica Medica Dip.to di Biomedicina dell'Età Evolutiva Università degli Studi "Aldo Moro" Bari

²Dept. Of Experimental Pathology Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands

³Dept. of Bioinformatics, Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands

ABSTRACT

20

Obiettivo: La β -catenina ha un ruolo fondamentale nel Wnt-pathway. L'attivazione anomala di questo pathway è cruciale nella tumorigenesi coloretta- le. Lo stesso pathway è importante in diverse altre funzioni biologiche quali l'omeostasi ed il rimodellamento tissutale. In assenza di APC, la β -catenina trasloca nel nucleo dove attiva fattori di trascrizione della famiglia TCF/LEF che a loro volta inducono l'espressione di diversi geni con azione pro-proliferativa o anti-apoptica come c-myc e la ciclina D1 promuovendo così la proliferazione cellulare. Di recente è stato dimostrato che la β -catenina oltre ad attivare la trascrizione di geni bersaglio è anche capace di modulare il processo di maturazione dell'RNA messaggero anche se non è chiaro se questo avvenga con un meccanismo diretto o indiretto. Obiettivo del nostro lavoro è stato quello di ottenere un'analisi globale del trascrittoma alternativo in quattro linee cellulari di cancro colo rettale.

Materiali e metodi: Abbiamo generato 4 differenti linee cellulari stabilizzate di carcinoma del colon (DLD1,HCT116, LS174T, SW480)in cui abbiamo definito le condizioni di silenziamento ottimale della β -catenina. L'RNA estratto da queste linee cellulari prima e dopo knock-down della β -catenina è stato ibridato su chips Affymetrix (Human Exon 1.0ST microarray) che è in grado di identificare variazioni di espressione sia di intere unità trascrizionali che di singoli esoni. I CEL files generati dagli esperimenti di ibridazione sono stati analizzati con i softwares Partek GS[®] e FIRMA.

Risultati: Abbiamo ottenuto un profilo globale di espressione con 318 putativi eventi di splicing che apparivano regolati in modo differenziale con un FDR di 0.05. Di tutti questi 318 eventi sono stati analizzati i plots generati da Partek GS[®] per identificare gli i putativi esoni con splicing differenziale dipendente da β -catenina. Dieci splicing events sono in corso di validazione mentre per uno di questi candidati (Rac1b) la validazione è già stata ottenuta. Inoltre, il profilo globale di espressione ha individuato 413 unità trascrizionali con espressione differenziale significativamente dipendente da β -catenina e FC <-1.5 o maggiore di 1.5. I dati più significativi saranno presentati.

Conclusioni: L'analisi globale dei trascritti e degli esoni che nell'uomo mostra- no espressione differenziale dipendente da β -catenina si è rivelata estremamente utile nell'identificazione di possibili marker di progressione tumorale e putativi bersagli di terapia farmaco-genetica.

Lavoro eseguito con contributo della Fondazione Cassa di Risparmio di Puglia Progetto "Identificazione di eventi di splicing associati ai tumori del colon retto" ad AS.

DELEZIONE DI TACSTD1 E METILAZIONE DI MSH2 NELLA SINDROME DI LYNCH: 2 NUOVI CASI DA UNA CASISTICA ITALIANA

Alessandra Viel¹, Elisa Pin¹, Michele Quaia¹, Marco Agostini², Mara Fornasari³, Vincenzo Canzonieri⁴, Emanuele D. Urso², Salvatore Pucciarelli², Donato Nitti², Isabella Mammi², Chiara Pastrello¹

¹Oncologia Sperimentale, Centro di Riferimento Oncologico-IRCCS, Aviano PN

²Clinica Chirurgica II, Università di Padova, Padova

³Gastroenterologia, Centro di Riferimento Oncologico-IRCCS, Aviano PN

⁴Anatomia Patologica, Centro di Riferimento Oncologico-IRCCS, Aviano PN

Obiettivo: Il gene TACSTD1, noto anche come EPCAM e situato circa 15kb a monte di MSH2, è stato recentemente identificato come nuovo responsabile di alcuni casi di Sindrome di Lynch. Lo screening mutazionale della nostra casistica con la tecnica MLPA ha evidenziato in 2 probandi la presenza di una ampia delezione a monte del gene MSH2. E' stata quindi intrapresa un'indagine per verificare il possibile coinvolgimento di TACSTD1 in questi casi ed esplorare il meccanismo di tumorigenesi.

Materiali e metodi: Il pattern MLPA anomalo è stata rilevato in una donna con tumori multipli del colon-retto (36 e 52 anni) appartenente ad una famiglia con criteri di Amsterdam I (A-AV114) e in un maschio con tumore del colon a 37 anni, famiglia sospetta Lynch (A-PD31). La mutazione costituzionale è stata caratterizzata mediante 2 diversi test MLPA e con retrotrascrizione, amplificazione e sequenziamento dei trascritti. Sui tumori sono state fatte indagini di MSI, LOH, metilazione del DNA e immunoistochimica delle proteine MMR.

Risultati: Si è accertato che questa anomalia cosegrega con la malattia in entrambe le famiglie. Tutti i tumori analizzati manifestavano MSI e in un caso si è potuto verificare un pattern immunoistochimico anomalo per MSH2, con assenza di espressione nucleare ma debole reattività citoplasmatica. Il DNA tumorale presentava inoltre LOH con perdita dell'allele normale. I test MLPA hanno rivelato che in entrambe le famiglie la delezione genomica rimuove le sequenze distali del gene TACSTD1, corrispondenti ad almeno gli ultimi 2 esoni localizzati a -18kb e -16kb, senza tuttavia estendersi al promotore di MSH2. L'analisi dei trascritti prodotti a livello di mucosa intestinale di una paziente ha dimostrato che la delezione causa la produzione di trascritti di fusione in cui l'esone 5 del gene TACSTD1 è connesso all'esone 2 di MSH2, direttamente o con interposizione di sequenze Alu non codificanti. Infine, abbiamo verificato che il DNA tumorale del medesimo caso presentava una metilazione parziale del promotore di MSH2. Tale metilazione non era invece rilevabile nel DNA estratto da sangue.

Conclusioni: Con questo studio abbiamo identificato i primi 2 pazienti italiani con Sindrome di Lynch attribuibili a mutazione del gene TACSTD1. La caratterizzazione molecolare ha evidenziato caratteristiche simili a quelle dei pochi casi finora descritti in letteratura, confermando che la rimozione delle sequenze terminali di TACSTD1 origina trascritti fusi e causa il probabile silenziamento di MSH2 mediante metilazione del suo promotore. Sono ora in corso analisi per determinare l'esatta localizzazione dei breakpoint delle delezioni a livello di DNA genomico costituzionale.

ABSTRACT

21





ABSTRACT

22

DIFFERENTE CORRELAZIONE DELLA LUNGHEZZA TELOMERICA CON L'ETA' IN PORTATORI DI MUTAZIONE NEI GENI MSH2 E MLH1

Cristina Bozzao¹, Patrizia Lastella¹, Maurizio Ponz de Leon², Monica Pedroni², Carmela Di Gregorio³, Francesco D. D'Ovidio⁴, Nicoletta Resta¹, Fernando Prete⁵, Ginevra Guanti¹ e Alessandro Stella¹

¹Sezione di Genetica Medica, Dipartimento Di Biologia dell'Età Evolutiva, Università di Bari "Aldo Moro", Bari

²Dipartimento di Medicine e Specialità Mediche - Medicina I Università di Modena e Reggio Emilia, Modena

³Dipartimento ad attività integrata di Laboratori, Anatomia Patologica e Medicina Legale, Sezione di Anatomia Patologica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Policlinico di Modena, Modena

⁴Dipartimento di Scienze Statistiche, Università di Bari, Bari

⁵U.O.C. Chirurgia Ospedaliera "C. Righetti" Azienda Ospedaliero-Universitaria Policlinico Bari, Bari

Obiettivo: La Sindrome di Lynch (HNPCC) è una malattia autosomica dominante causata da mutazioni germinali nei geni del DNA mismatch repair (MMR) e rappresenta la causa più comune di familiarità per i tumori del colon-retto (5% di tutti i CRC). Mutazioni nei geni hMLH1 e hMSH2 rappresentano il 90% di tutte le mutazioni identificate nelle famiglie HNPCC. L'età media alla prima diagnosi di tumore è di 45 anni ma è presente un'ampia variabilità, sia interche intra-familiare, probabilmente influenzata da loci genetici modificatori, differenti stili di vita, esposizione a fattori ambientali e anticipazione genetica. Il fenomeno dell'anticipazione genetica, caratterizzato da una progressiva diminuzione dell'età di onset del tumore in generazioni successive, è stato documentato di recente in questa sindrome anche se il meccanismo biologico responsabile non è ancora stato identificato. L'accorciamento dei telomeri è un evento comune nella tumorigenesi ed è stato osservato in associazione all'anticipazione in altre sindromi da predisposizione tumorale. Abbiamo quindi deciso di valutare la lunghezza telomerica (TL) in portatori di mutazione nei geni MLH1 ed MSH2.

Materiali e metodi: Lo studio è stato condotto su 50 controlli e 74 portatori di mutazione in MLH1 ed MSH2, di cui 31 portatori asintomatici e 43 pazienti affetti. Il DNA genomico è stato estratto da sangue periferico e la lunghezza dei telomeri (TL) è stata misurata mediante real-time PCR.

Risultati: Analizzando i valori della lunghezza telomerica rispetto all'età non sono emerse differenze nella media dei valori di TL fra i diversi gruppi analizzati e, come atteso, la lunghezza media dei telomeri diminuisce con l'età sia nei controlli che nei portatori sintomatici e asintomatici. Considerando invece i soli portatori di mutazione nel gene MSH2, questi mostrano una più pronunciata diminuzione nella lunghezza dei telomeri con l'età rispetto ai controlli. Al contrario, i portatori di mutazione in MLH1 mostrano una minore diminuzione della lunghezza dei telomeri con l'avanzamento dell'età sia rispetto ai controlli sia rispetto ai portatori di mutazione in MSH2.

Conclusioni: La dinamica dei telomeri risulta essere significativamente differente in portatori di mutazione nei geni MSH2 e MLH1, e ciò potrebbe determinare un effetto opposto sull'età all'insorgenza del tumore. Una possibile spiegazione a queste osservazioni potrebbe risiedere nel diverso contributo fornito dai geni MLH1 ed MSH2 nel bilancio dell'attività di accorciamento e di allungamento dei telomeri. È quindi possibile che sottili meccanismi genespecifici possano essere correlati all'età di onset del cancro e all'anticipazione in pazienti affetti da sindrome di Lynch.

SELEZIONE E SORVEGLIANZA DI 19 FAMIGLIE AFFETTE DA SINDROME DI LYNCH: ESPERIENZA NEL SUD ITALIA

Patrizia Lastella¹, Margherita Patruno¹, Giovanna Forte¹, Alda Montanaro², Carmela Di Gregorio³, Carlo Sabbà⁴, Patrizia Suppressa⁴, Adalgisa Piepoli⁵, Anna Panza⁵, Angelo Andriulli⁵, Nicoletta Resta¹, Alessandro Stella¹

¹UOC Genetica Medica - Università di Bari "Aldo Moro" A.O.U. Policlinico, Bari

²UOC Chirurgia Generale "C. Righetti" Università di Bari "Aldo Moro" A.O.U. Policlinico, Bari

³Dipartimento ad attività integrata di Laboratori, Anatomia Patologica e Medicina Legale, Sezione di Anatomia Patologica, A.O.U. Policlinico di Modena, Modena

⁴UOC Geriatria e Gerontologia Università di Bari "Aldo Moro" A.O.U. Policlinico, Bari

⁵Unità di Ricerca di Gastroenterologia, IRCCS Osp. Casa Sollievo della Sofferenza, San Giovanni Rotondo



ABSTRACT

23

Obiettivo: in questo studio ci si è proposto di stabilire se un approccio basato sulla consulenza genetica indirizzata ad ogni paziente con CRC diagnosticato a ≤ 50 anni sull'analisi MSI ed IHC e sull'analisi dei geni MMR permettesse di individuare nella nostra regione pazienti affetti da HNPCC con sufficiente sensibilità e specificità. Si è inoltre valutato l'efficacia di un accurato protocollo di sorveglianza nel ridurre il rischio di secondi tumori in pazienti già sintomatici e prevenire il rischio di una prima neoplasia in pazienti asintomatici. Sono stati arruolati 29 probandi con diagnosi di CRC provenienti dalla Puglia che hanno richiesto consulenza genetica presso la nostra UO nel periodo 2006-2009. Sono state raccolte informazioni dettagliate sulla storia familiare relativa ad almeno tre generazioni consecutive e, in particolare, numero e tipi di tumore, l'età alla diagnosi e al decesso. 15 pazienti rispettavano i criteri di Amsterdam II (AC+), mentre i restanti 14 sono stati arruolati sulla base dell'età alla diagnosi (≤ 50 anni).

Materiali e metodi: Di ogni paziente è stato raccolto un campione di sangue e biopsia tumorale. L'MSI è stata condotta mediante pentaplex-PCR e analisi PAGE. 19 casi sono stati classificati come MSI-H (15 AC+/4 AC-). L'analisi mutazionale è stata condotta mediante DHPLC e MLPA. Per 3 mutazioni, è stato valutata la presenza di un effetto fondatore, utilizzando un pannello di 8 loci microsatelliti. Analisi di RT-PCR e Real Time sono state effettuate per la mutazione c.1558+1G>T di MLH1.

Risultati: l'analisi mutazionale è risultata conclusiva in tutti i 19 casi con MSI-H (15 in MLH1 e 4 in MSH2). 4 mutazioni in MLH1 e 2 in MSH2 non erano riportate in letteratura. La consulenza genetica post-test è stata effettuata per tutti i 19 probandi e per le rispettive famiglie, e l'analisi molecolare estesa a 183 familiari di primo grado. 85 soggetti sono risultati portatori di mutazione (52%). 80/85 hanno accettato di sottoporsi ad un protocollo accurato di sorveglianza strumentale. Lesioni tumorali sono state identificate in 8 individui. Alla prima sorveglianza sono stati diagnosticati 5 CRC, 1 Cr duodenale ed 1 Cr endometriale, in 7 soggetti asintomatici. In uno di questi 8 pazienti, con perdita di peso e vomito, la gastroscopia ha identificato un Cr dello stomaco in stadio avanzato. La colonscopia ha identificato 27 lesioni pretumorali (in 15 carriers) di cui 3 adenomi ad elevato grado di displasia.

Conclusioni: la raccolta di dettagliate informazioni cliniche familiari, durante la consulenza genetica, resta il punto di partenza per formulare il sospetto di Sindrome di Lynch in presenza di un paziente con tumore dello spettro HNPCC diagnosticato in giovane età. Tuttavia, l'IHC e l'MSI rappresentano in ogni caso un importante supporto per la conferma della diagnosi. Il protocollo di sorveglianza consigliato ai portatori di mutazione, ha permesso di identificare tumori in stadio molto precoce.



MICRORNAS EXPRESSION PROFILE IN COLORECTAL CANCER PATIENTS AND CLINICO-PATHOLOGICAL CORRELATION

Ada Piepoli¹, Anna Panza¹, Massimiliano Copetti², Tiziana Latiano³, Lucia Lombardi³, Francesca Tavano⁴, Orazio Palumbo⁵, Massimo Carella⁵, Annamaria Gentile¹, Nicola Mastrodonato⁴, Fabio Pellegrini², Pierluigi Di Sebastiano⁴, Evaristo Maiello³ and Angelo Andriulli¹

¹Department and Laboratory of Gastroenterology

²Unit of Biostatistics

³Department of Oncology

⁴Department of Surgery

⁵Medical Genetic Laboratory

IRCCS "Casa Sollievo della Sofferenza", San Giovanni Rotondo (FG)

ABSTRACT

24

Background and aim: A group of small non-coding sequences of RNAs, defined as microRNAs (miRNAs) play a key role in the regulation of gene expression during crucial cell processes, such as cell differentiation, cell cycle progression, stress response and apoptosis. Some miRNAs might play a role in early tumor development acting on cell proliferation and apoptosis. The aim of this study was to identify altered miRNAs in colorectal cancer (CRC) patients by using an expression profile approach and to correlate these data with clinico-pathological information.

Method: miRNAs expression levels in colorectal tumours and adjacent non-neoplastic tissues from 19 CRC patients were evaluated by using GeneChip miRNA Array (Affymetrix). Normalization of miRNA array datasets were performed by Robust Multi-array Average (RMA) and a random forest procedure for tissue classification analysis was followed, using "R" statistical software. The variable importance, measured with the mean decrease accuracy (MDA), allowed us to select the best predictive miRNAs with significant altered expression pattern in cancer tissue. The validation of miRNAs was performed in 7 CRC samples analysing colon carcinomas matched to normal tissues by means quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction analysis (qPCR).

Results: 30 candidate miRNAs showing a significantly altered expression pattern in cancers were selected. The most predictive miRNAs were: hsa-miR-1246, hsa-miR-378, hsa-miR-21, hsa-miR-17, hsa-miR-30c, hsa-miR-139-5p, hsa-miR-31, hsa-miR-10b, hsa-miR-143, hsa-miR-28-5p, hsa-miR-106a, hsa-miR-30a, hsa-miR-155-star, hsa-miR-486-5p, hsa-miR-140-3p, hsa-miR-199a, hsa-miR-29a, hsa-miR-195, hsa-miR-149, hsa-miR-19b, hsa-miR-145, hsa-miR-708, hsa-miR-151-5p, hsa-miR-23a .

For miRNAs validation assay, by using qPCR, 11 miRNAs were selected among those highlighted as significantly deregulated in expression array. Comparing the expression of these three miRNAs in the colon cancer tissue, we have observed high level of hsa-miR-21 ($p < .0001$) in patients with age > 50 and high grade of disease (Dukes C) with metastasis or lymph node whereas lower expression of hsa-miR-143 and hsa-miR-199a ($p = 0.0451$ and 0.2753 , respectively) in patients with age < 50 years regardless of degree disease. In particular, when evaluating the miRNAs expression according to the location of tumour (in colon right versus colon left) we found a significant down-regulation of hsa-miR-143 in patients with tumor located in colon left (colon descendent, sigma and rectum).

Conclusion: Our results suggest that the high-throughput approach allowed us to identify several novel changes in the expression in miRNAs in colorectal cancer and the deregulation of hsa-miR143 expression may be a risk factor for tumors development in colon left.

TRASCritti ALTERNATIVI NEI TUMORI DEL COLON-RETTO: IDENTIFICAZIONE MEDIANTE DNA MICROARRAYS

Orazio Palumbo¹, Ada Piepoli², E. Picardi³, Anna Panza², Graziano Pesole³, Massimo Carella¹, Angelo Andriulli⁴

¹Laboratorio di Genetica Medica, IRCCS Casa Sollievo della Sofferenza, San Giovanni Rotondo (FG)

²Laboratorio di Gastroenterologia, IRCCS Casa Sollievo della Sofferenza, San Giovanni Rotondo (FG)

³Dip. di Biochimica e Biologia Molecolare 'E. Quagliariello', Università degli Studi di Bari, Bari

⁴U.O. di Gastroenterologia, IRCCS Casa Sollievo della Sofferenza, San Giovanni Rotondo (FG)



ABSTRACT

25

Introduzione: Lo splicing alternativo (AS) è un meccanismo di regolazione dell'espressione genica che va ad aggiungersi a quelli che operano a livello trascrizionale, traduzionale e post-traduzionale. L'attività fisiologica dei prodotti delle varianti di splicing rispetto alla proteina originale può essere uguale, opposta, o completamente differente e non correlata. È stato stimato che il 95% di tutti i geni umani presentano almeno una variante di AS e negli ultimi anni è diventato evidente che la deregolazione dello splicing alternativo caratterizza la progressione tumorale.

Scopo: È stato sviluppato un nuovo approccio per l'identificazione delle varianti di splicing cancro-specifiche che combina i dati di Exon array con il database "Alternative Splicing Prediction" (ASPIC db).

Materiali e metodi: L'espressione degli esoni noti e di quelli con splicing alternativo è stata valutata su RNA totale, estratto dal tessuto tumorale e dalla relativa controparte normale, di 14 pazienti con cancro colon-retto (CRC), mediante Affymetrix GeneChip Human Exon 1.0 ST Array. I dati ottenuti sono stati analizzati statisticamente utilizzando il software "Partek Genomic Suite" che utilizza per la normalizzazione il "robust multiarray average" (RMA), l'analisi della varianza (ANOVA) e la correzione multi test.

Risultati: Una lista di geni con un significativo evento di splicing alternativo (p -value <0.01) e con un False Discovery Rate di 0.05 è stata inserita nel database ASPIC per localizzare gli eventi di splicing alternativo; solo gli eventi predetti anche in ASPIC sono stati analizzati nello studio. Abbiamo così identificato 480 significativi eventi di AS e di questi 17 sono stati considerati per la validazione mediante RT-PCR. Conclusioni: In quattro geni candidati, che mostravano una chiara differenza tra il fold change dell'esone "skippato" e quello successivo, è stata confermata la presenza dell'isoforma tumorale.



ESPRESSIONE ALLELICA DEL GENE MYH IN PAZIENTI CON POLIPOSI, APC-NEGATIVI

Maria Cristina Curia^{1,2}, Sabrina De Iure^{1,2}, Serena Veschi^{2,4}, Giandomenico Palca³, Renato Mariani-Costantini^{1,2}, Pasquale Battista^{2,4}, Alessandro Cama^{1,2}, Gitana Aceto^{2,4}

*1*Dipartimento di Oncologia e Medicina Sperimentale

*2*Centro Studi sull'Invecchiamento (CeSi), Fondazione dell'Università "G.d'Annunzio"

*3*Dipartimento di Scienze Biomediche

*4*Dipartimento di Scienze del Movimento Umano

Università "G.d'Annunzio", Chieti-Pescara

Razionale: I soggetti portatori di mutazioni bialleliche e monoalleliche nei geni del sistema riparativo base excision repair (BER) sono soggetti ad un aumento del rischio di contrarre tumori gastrointestinali. Recenti lavori hanno dimostrato che un'alterata espressione allelica germinale può rappresentare un utile marcatore di predisposizione genetica al cancro o ad altre patologie. La metodica della primer extension non fluorescente rilevata mediante DHPLC, precedentemente sviluppata nel nostro laboratorio (Aceto et al. 2009), permette di valutare l'espressione allelica relativa e quindi di individuare possibili alterazioni nell'espressione genica.

Obiettivo: Scopo del nostro studio è di indagare se alterazioni nell'espressione del gene MYH possano contribuire all'insorgenza del cancro coloretale (poliposico) in pazienti FAP e AFAP privi di mutazioni nel gene APC.

Pazienti e metodi: In questo studio l'espressione allelica relativa di MYH viene valutata su cDNA ottenuto da linfociti di sangue periferico di 20 di pazienti affetti da poliposi del colon. Tali pazienti appartenenti a famiglie italiane non correlate sono già risultati negativi per mutazioni patogenetiche di APC.

Il cDNA da sangue periferico di 145 donatori sani reclutati presso il Centro Trasfusionale dell'Ospedale Clinicizzato SS. Annunziata di Chieti è utilizzato come controllo d'espressione.

La primer extension permette di verificare l'entità dei trascritti germinali del gene MYH: la quantizzazione delle altezze dei picchi corrispondenti ai due alleli e il calcolo del rapporto di espressione allelica, dopo normalizzazione con il gDNA medio di tutti gli individui di controllo eterozigoti, ci fornisce una stima dell'espressione allelica del gene MYH nei pazienti rispetto alla serie di individui di controllo.

Risultati: Abbiamo sviluppato un primo saggio di primer extension per valutare i trascritti germinali del gene MYH utilizzando la variante c.972G>C (p.His324Gln), frequente nella popolazione generale. Essa rappresenta, quindi, un ottimo mezzo per valutare la variabilità nell'espressione relativa degli alleli di MYH. Infatti, dei 20 pazienti in analisi 7 risultano eterozigoti per tale variante.

Per quanto concerne i controlli tipizzati 48/145 risultano essere eterozigoti per la variante c.972G>C di MYH. Il metodo della primer extension è molto riproducibile mostrando un ottimo coefficiente di variazione sia nei pazienti che nei controlli.

Inoltre, mutazioni germinali patogenetiche in MYH risultano presenti in almeno 5 dei 20 pazienti in studio (3 in forma biallelica e 2 in forma monoallelica). Nei pazienti portatori di mutazione biallelica o monoallelica un eventuale sbilancio d'espressione potrebbe contribuire alla grande variabilità fenotipica dei tumori MYH-correlati.

LA MUTAZIONE C.34G>T DEL GENE KRAS COME MARCATORE PRECOCE DELLE POLIPOSIS ASSOCIATE AL GENE MUTYH (MAP)

Tiziana Venesio¹, Antonella Balsamo¹, Francesca Rovetto¹, Marianna Cerni¹, Carmela Di Gregorio² e Mauro Risio¹

¹Anatomia Patologica, Istituto per la Ricerca e la Cura del Cancro – IRCC, Candiolo (Torino)

²Anatomia Patologica, Policlinico di Modena, Modena



ABSTRACT

27

Introduzione e scopo: La carcinogenesi guidata dal gene MUTYH è caratterizzata da poliposi eterogenee associate spesso ad una rapida progressione. In queste lesioni la mutazione somatica più frequentemente identificata è la sostituzione c.34G>T sul gene KRAS.

Lo scopo del lavoro è quello di chiarire se la mutazione c.34G>T possa essere utilizzata precocemente negli adenomi come marcatore molecolare specifico di poliposi associata a MUTYH (MAP) e contribuire a determinarne il fenotipo.

Materiali e metodi: La casistica esaminata comprendeva 40 polipi MAP e 30 adenomi FAP, ottenuti rispettivamente da 11 pazienti portatori di diverse mutazioni costituzionali del gene MUTYH e da 14 pazienti con alterazioni germinali differenti del gene APC. Tutto il materiale è stato ottenuto da lesioni fissate in paraffina. Alcune di queste lesioni sono state sottoposte a microdissezione al laser (16 MAP e 14 FAP) per separare le diverse componenti morfologiche. Come gruppo di controllo sono stati utilizzati 30 polipi sporadici. Dopo estrazione del DNA dalle lesioni in toto e dalle componenti microdissestate, i campioni sono stati caratterizzati per la presenza di mutazioni sui geni KRAS e BRAF. A tale scopo, dopo l'analisi di sequenziamento, le lesioni mutate sono state quantizzate con il pirosequenziamento.

Risultati: Nei polipi MAP sono state identificate 12 mutazioni sul gene KRAS (32% dei casi esaminati) e 1 mutazione sul gene BRAF (4%), mentre negli adenomi FAP abbiamo evidenziate 5 mutazioni su KRAS (20%) e 1 mutazione su BRAF (6%). Nei pazienti MAP le mutazioni di KRAS coinvolgevano sia il codone 12 (58%) che il codone 13 (42%), tuttavia le sostituzioni del codone 12 erano esclusivamente dovute alla mutazione c.34G>T. Nel caso dei pazienti FAP, nonostante le mutazioni coinvolgessero solo il codone 12, non è stata identificata alcuna sostituzione c.34G>T. Nei pazienti MAP i dati ottenuti con il pirosequencing indicano che la mutazione c.34G>T è presente nei polipi già nella componente normale o adenomatosa di basso grado e risulta poco rappresentata nelle componenti iperplastica e serrata. Diversamente, negli adenomi FAP le mutazioni di KRAS sono similmente rappresentate nelle diverse componenti. I risultati preliminari riguardanti il gene BRAF indicano che i livelli dell'allele mutato nelle lesioni "in toto" sono inferiori a quanto osservato per KRAS.

Conclusioni: I nostri dati indicano che la mutazione c.34G>T può essere utilizzata come marcatore specifico delle poliposi MAP già nelle fasi iniziali della progressione di queste lesioni. L'analisi con pirosequenziamento delle lesioni microdissestate costituisce un valido strumento per la caratterizzazione delle carcinogenesi guidata dai geni MUTYH e da APC.

COMUNICAZIONI ORALI

19 NOVEMBRE 2010

14.30-16.00

TUMORI DELLA MAMMELLA: ASPETTI BIOMOLECOLARI

Moderatori: A. Viel - C. Di Gregorio



- 28** A STUDY OF PATHOLOGICAL CHARACTERISTICS IN BRCA-OVARIAN CANCER AND IN A HIGH RISK GROUP
Grazia Artioli et al. (Mirano, VE)
- 29** TRASMISSIONE DI MUTAZIONI E VARIANTI POLIMORFICHE BRCA CORRELATE NELLE FAMIGLIE CON TUMORE EREDITARIO DELLA MAMMELLA
Katia Danza et al. (Bari)
- 30** ANALISI DELLE ALTERAZIONI DI EGFR, HER2 E PIK3CA NEL CARCINOMA MAMMARIO MASCHILE
Piera Rizzolo et al. (Roma)
- 31** BREAST CANCER AND THE ROLE OF LOW PENETRANCE ALLELES: A FOCUS ON ATM GENE
Laura La Paglia et al. (Palermo)
- 32** NOVEL SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHIC VARIANT ASSOCIATED TO BRCA1 HEREDITARY BREAST CANCER IDENTIFIED BY DMET PLATFORM
Maria Teresa Di Martino et al. (Catanzaro)
- 33** TEST FUNZIONALE EX VIVO DI SPLICING PER LA DIAGNOSTICA MOLECOLARE DEL CARCINOMA DEL SENO E DELL'OVAIO: VALUTAZIONE DELL'EFFETTO DELLE VARIANTI DI SIGNIFICATO SCONOSCIUTO NEI GENI BRCA1 E BRCA2
Daniela Di Giacomo et al. (L'Aquila)
- 34** CASE REPORT: PRESENZA DI SIMULTANEE ALTERAZIONI IN BRCA1 E BRCA2 IN UN CASO DI TUMORE MAMMARIO EREDO-FAMILIARE
Brunella Pilato et al. (Bari)
- 35** DOUBLE HETEROZYGOSIS FOR HMLH1 AND BRCA1 IN A YOUNG WOMAN
Monica Pedroni et al. (Modena)



A STUDY OF PATHOLOGICAL CHARACTERISTICS IN BRCA-OVARIAN CANCER AND IN A HIGH RISK GROUP

Grazia Artioli¹, Lucia Borgato², Jacopo Wabersich³, Alessandro Cappetta², Maurizia Dalla Palma², Maria Ornella Nicoletto²

¹U.O.C. Onco-ematologia, Mirano (Ve), ULSS13

²Istituto Oncologico Veneto, Oncologia 1, Padova

³U.O.C. Ginecologia ed Ostetricia, Mirano (Ve), ULSS13

ABSTRACT

28

Estimated risk to develop an ovarian cancer in lifetime in women harbouring a BRCA1/BRCA2 mutations is about 30-40% for BRCA1 and 15-25% for BRCA2. We studied a total of 90 patients affected by epithelial ovarian cancer. 50 were tested positive for a deleterious mutation in BRCA 1 and /or 2 gene (36 were BRCA1 and 14 BRCA2) and 40 patients were selected as control group (high risk patients).

Median age at diagnosis was 51 years old for inherited ovarian cancer and 54 years old for non carriers group. Among BRCA mutation carriers 10 out of 36 who carried BRCA1 mutations were diagnosed before age 45 years, whereas no women who carried BRCA2 mutations were diagnosed at age <45 years. Seven ovarian cancer out of 40 in the high risk group were diagnosed before 45 years. Eight women with BRCA1 /BRCA2 and 7 high risk women had a previous breast cancer diagnosed almost five years before ovarian cancer, only 1 patient had first ovarian cancer and then breast cancer and she is still alive. Histological features of ovarian cancer were found to be similar in both groups: 39 (78%) were serous ovarian cancer, 7 (14%) endometrioid and 4 (8%) anaplastic in the BRCA1/BRCA2 carriers group while 36 (90%) were found to be serous ovarian cancer, 2(5%) endometrioid, 1 (2.5%) clear cells and 1 (2.5%) anaplastic in the no carriers group. Advanced stages of disease at the time of diagnosis (stage III-IV) was found to be 74 % for patients carrying a deleterious mutation and 52.5% for no carriers group. The two groups showed similar characteristics concerning age at diagnosis, histological type and stage. Tumor grade as G3 was 76% in BRCA 1 and BRCA 2 group and 32.5% then in no carriers group (Chi square test p 0.0256). Grade 1 and grade 2 were 24% in BRCA 1 and BRCA2 group and 67,5% in no carriers group (Chi square test p 0.0133).

Data abstracted from charts were collected according to the WHO (World Health Organization) and the stage by TNM classification. All patients were treated by the best debulking surgery possible for the stage of disease, followed by chemotherapy. Literature show that inactivation of the BRCA pathway can give rise to cells sensitive to DNA cross-linking agents such as cisplatin. In our study 37/50 were platinum sensitive patients in the BRCA group, except for three patients treated with adriamycin and cyclophosphamide. Our data describing BRCA ovarian cancer features respect to a high risk cancer group, reflect what literature showed so far: a more aggressive pattern of tumor and a more sensitivity to DDP-based chemotherapy.

TRASMISSIONE DI MUTAZIONI E VARIANTI POLIMORFICHE BRCA CORRELATE NELLE FAMIGLIE CON TUMORE EREDITARIO DELLA MAMMELLA

Katia Danza, Brunella Pilato, Rosamaria Pinto, Rosanna Lacalamita, Rossana Lambo, Giuseppina Iannelli, Angelo Paradiso, Stefania Tommasi

Istituto Tumori "Giovanni Paolo II", Bari



ABSTRACT

29

Obiettivo: Mutazioni germinali di BRCA1 e BRCA2 sono legate all'eredità del carcinoma mammario conferendo ai pazienti un maggior rischio di insorgenza del carcinoma mammario ed ovarico rispetto alla popolazione generale. Un crescente interesse è stato mostrato per i polimorfismi, ossia varianti genetiche presenti con una frequenza maggiore dell'1% nella popolazione. Obiettivo del presente lavoro è quello di valutare se, come per le mutazioni patologiche, anche la trasmissibilità nell'ambito di una famiglia dei polimorfismi in BRCA1 e BRCA2 possa essere associata al tumore eredo-familiare della mammella e/o possa correlare a caratteristiche cliniche o patologiche della neoplasia. Il nostro studio analizza la trasmissione verticale dei polimorfismi e l'analisi della loro frequenza all'interno delle singole famiglie. Tale analisi è stata condotta nelle famiglie di soggetti con mutazioni patologiche in BRCA e nelle famiglie di soggetti BRCAX (non portatori di alcuna mutazione patologica nei geni in studio). In particolare, sono state prese in esame le varianti polimorfiche che, in precedenti analisi in silico hanno mostrato una maggiore associazione con la patologia.

Materiali e metodi: Lo studio è stato condotto su 30 famiglie, per un totale di 97 casi (30 probandi e 67 familiari) sia sani che malati, risultati eleggibili al Programma di Consulenza dell'Istituto Tumori "G. Paolo II" di Bari ed analizzati per lo screening delle mutazioni e dei polimorfismi in BRCA1 e BRCA2. In particolare, la ricerca è stata ampliata anche ai familiari quando mutazioni o varianti polimorfiche sono state osservate nel probando. Le informazioni relative alla storia familiare ed i dati clinico-anamnestici sono stati utilizzati per la costruzione degli alberi genealogici.

Risultati: Dei 30 probandi arruolati nel presente studio, solo 16 sono risultati portatori di mutazioni nei due geni ad alta suscettibilità: 10 di essi hanno riportato mutazioni nel gene BRCA1, mentre 6 nel gene BRCA2. I restanti 14 probandi erano BRCAX. L'analisi di trasmissione delle varianti polimorfiche è stata osservata sempre in eterozigosi, fatta eccezione per i polimorfismi 871Leu e 372His, presenti in omozigosi. La frequenza di trasmissione dei polimorfismi è risultata comparabile tra familiari di soggetti mutati in BRCA e soggetti BRCAX, tranne che per lo SNP 1183Arg BRCA1 particolarmente frequente nelle famiglie con mutazione ($P = 0.004$). L'analisi dei polimorfismi ha rivelato inoltre una significativa correlazione di specifici aplotipi allo stato mutazionale di BRCA: in particolare, l'aplotipo BRCA2 289His-991Asp-IVS14+53 C>T è stato osservato più frequentemente nei familiari dei probandi BRCAX.

Conclusioni: In conclusione, il presente studio indaga sulla modalità di trasmissione dei polimorfismi e delle varianti introniche dei geni BRCA nel tumore ereditario della mammella, ponendo le basi per un loro potenziale utilizzo come markers per la classificazione di tale neoplasia.



ANALISI DELLE ALTERAZIONI DI EGFR, HER2 E PIK3CA NEL CARCINOMA MAMMARIO MASCHILE

Piera Rizzolo¹, Valentina Silvestri¹, Anna Sara Navazio¹, Mario Falchetti¹, Ines Zanna², Simonetta Bianchi³, Domenico Palli², Laura Ottini¹

¹Dipartimento di Medicina Molecolare, "Sapienza" Università di Roma

²Unità di Epidemiologia Molecolare e Nutrizionale, ISPO, Firenze

³Dipartimento di Patologia Umana e Oncologia, Università di Firenze

ABSTRACT

30

Obiettivo: Le caratteristiche biologiche e molecolari del carcinoma mammario maschile (CMM) sono ancora largamente sconosciute poiché esso rappresenta una patologia rara e ancora poco indagata, soprattutto se paragonata alla controparte femminile. Il CMM è frequentemente di tipo duttale, ER+, PR+ e HER2- ed è considerato biologicamente simile al carcinoma mammario (CM) che insorge in donne in post-menopausa.

EGFR, HER2 e PIK3CA mediano differenti vie di trasduzione del segnale coinvolte nella proliferazione e sopravvivenza cellulare. Essi giocano un ruolo rilevante nel CM femminile rappresentando importanti fattori prognostici e possibili targets terapeutici. Attualmente non è noto il ruolo di EGFR, HER2 e PIK3CA nel CMM. Considerando che la caratterizzazione di nuovi biomarkers nel CMM potrebbe avere importanti risvolti non solo nel comprendere i meccanismi patogenetici alla base del CMM, ma anche nella gestione clinica dei pazienti affetti da CMM, lo scopo di questo studio è stato quello di valutare il ruolo delle alterazioni somatiche di EGFR, HER2 e PIK3CA in una ampia serie di casi di CMM.

Materiali e metodi: Alterazioni a carico di EGFR, HER2 e PIK3CA sono state valutate come presenza di mutazioni e amplificazioni geniche, rispettivamente attraverso sequenziamento e Real-Time PCR quantitativa, e come espressione proteica, attraverso analisi immunohistochimica. L'analisi è stata condotta su una serie di 102 casi di CMM tutti caratterizzati per mutazioni di BRCA1 e BRCA2 e per i principali marcatori biomolecolari (ER, PR e MIB1).

Risultati: PIK3CA è risultato mutato nel 4% dei casi (4/102) e amplificato nell'8% (6/74). Tutti i tumori mutati per PIK3CA sono risultati ER/PR+, in accordo con quanto osservato per il CM nelle donne. È emersa inoltre un'associazione statisticamente significativa tra l'amplificazione di PIK3CA e l'espressione di HER2 ($p=0.04$) e MIB1 ($p=0.04$), suggerendo che PIK3CA potrebbe avere un ruolo nella progressione tumorale del CMM.

EGFR è risultato amplificato con una frequenza del 8.8% (5/57) e HER2 over-espresso nel 27.5% (25/91) dei casi di CMM. Non sono state osservate mutazioni patogenetiche a carico di EGFR e HER2. L'amplificazione di EGFR è risultata associata con assenza di espressione di ER ($p=0.04$) e con l'espressione di HER2 ($p=0.018$) e MIB1 ($p=0.05$). L'over-espressione di HER2 è risultata associata a mancanza di espressione di PR ($p=0.03$), ad espressione di MIB1 ($p=0.048$), ad alto grado istologico (G3) ($p=0.001$) e a mutazioni di BRCA2 ($p=0.01$). Questi dati suggeriscono che le alterazioni di EGFR e HER2 potrebbero essere associate ad un fenotipo aggressivo nel CMM.

Conclusioni: I nostri risultati indicano che EGFR, HER2 e PIK3CA giocano un ruolo nel CMM a livelli paragonabili a quelli osservati nel CM femminile e che la presenza di alterazioni di EGFR, HER2 e PIK3CA permette di identificare un sottogruppo di casi di CMM con specifiche caratteristiche patologiche e biologiche suscettibili di terapie mirate.

BREAST CANCER AND THE ROLE OF LOW PENETRANCE ALLELES: A FOCUS ON ATM GENE

Laura La Paglia^{1,2}, Valentina Calò¹, Loredana Bruno¹, Naomi Margarese¹, Florinda Di Piazza¹, Sergio Rizzo¹, Giuseppe Bronte¹, Viviana Bazan¹, Dominique Stoppa-Lyonnet^{2,3,4} and Antonio Russo¹

¹Regional Reference Center for the Biomolecular Characterization and Genetic Screening of Hereditary Tumors, Department of Oncology, University of Palermo, Palermo, Italy

²Institut Curie-Hôpital, Service de Génétique, Paris, F-75248 France

³Unité INSERM U830, Paris, F-75248 France

⁴Université Paris Descartes, F-75270 France



ABSTRACT

31

Background: Many epidemiological studies have evaluated the association between different low penetrance genes and breast cancer risk. However, published data are still inconclusive. The study focused on the search of a possible link between ATM gene and breast cancer in a series of patients negatively tested for BRCA1 and BRCA2 mutations. Moreover as this gene is reported to be related with susceptibility to haematological malignancies we wanted to search the role of this gene and a possible link between haematological malignancies and BC.

Methods: A consecutive series of 86 patients of the Sicilian population selected by genetic counselling for hereditary breast and ovarian cancer were screened for BRCA1 and BRCA2 mutations by automated direct sequencing (DS). Sixty-eight of these patients had a negative test for BRCA1/2, and were successively screened for ATM gene by DS. Moreover we estimated the frequency of heterozygote ATM mutation carriers in a series of 122 BC French women with a family history of both BC and haematological malignancy and negatively tested for a BRCA1/2 mutation. To perform the genetic screening, a new high throughput method, EMMA (Enhanced Mismatch Mutation Analysis) was applied.

Results: 2/68 (2.9%) sicilian BC patients, regardless their family history of haematological diseases, presented a mutation in ATM gene. Interestingly, the percentage of ATM mutations in French BC patients with a family history of both BC and haematological malignancy was 6.56% (95% CI: 2.16-10.95), a higher frequency compared to that observed in the general population (0.3-0.6%).

Conclusions: Although a trend towards an increased frequency of ATM carriers in breast cancer families with haematological diseases was observed, it was not significantly different from that observed in a population of familial BC women not selected for haematological malignancy. The frequency of ATM carriers was 2.90%. Larger studies are needed to evaluate the possible effect on breast cancer risk of ATM polymorphisms and mutations.



NOVEL SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHIC VARIANT ASSOCIATED TO BRCA1 HEREDITARY BREAST CANCER IDENTIFIED BY DMET PLATFORM

Maria Teresa Di Martino^{1,4}, Mariamena Arbitrio², Francesco Baudi⁴, Caterina Viscomi^{1,4}, Iole Cucinotto^{1,4}, Pietro Hiram Guzzi³, Pierangelo Veltri³, Mario Cannataro³, Pierosandro Tagliaferri¹, Pierfrancesco Tassone⁴

¹Medical Oncology Unit and ⁴Referral Center for Innovative Treatments in Medical Oncology, "Campus Salvatore Venuta", "Magna Graecia" University and "Tommaso Campanella" Cancer Center, Catanzaro

²Institute of Neurological Science-National Council of Research-UOS of Pharmacology-Catanzaro

³Department of Experimental and Clinical Medicine and Magna Graecia University Catanzaro

ABSTRACT

32

Obiettivo: Inherited mutations in high-penetrance cancer susceptibility genes, such as BRCA1 and BRCA2, have a causative role in the pathogenesis of hereditary breast cancer (HBC). The incidence of breast cancer (BC) overall has a wide variation in different populations with higher rate for white women in the United States and lower for African and Asian women. The risk seems strongly modulated from lifestyle factors. Several classes of environmental chemicals have been implicated in the development of BC, most of these chemicals require metabolic activation to exert a carcinogenetic effect. On these bases, we performed a pharmacogenomic DMET microarray profiling to identify variants in ADME enzymes correlated to biotransformation of carcinogens in a series of BRCA1-related BC patients and in a control group of sporadic breast cancer (SBC).

Materiali e metodi: Fourteen HBC and fourteen SBC patients were enrolled in our case-control study. DNA was extracted from peripheral blood and 1 µg of dsDNA was genotyped by drug-metabolizing enzyme and transporter (DMET) genotyping platform (Affymetrix, Inc., Santa Clara, CA, USA), which tests for 1936 genetic variations in 225 drug disposition genes. Genotyping profiles generated by DMET Console software (Affymetrix, Inc., Santa Clara, CA, USA) were analyzed by Graphpad Statistic software and the genotype association was calculated by Fisher's exact test (two tailed).

Risultati: The frequency distribution of genotypes revealed statistically significant association with BRCA1 setting ($P < 0.05$) of seven SNPs mapping in 6 genes. The rs10002894 and rs6830685 SNPs mapping in ADH6 gene, have the homozygous genotype C/C and the heterozygous genotype C/T in 9 of the 14 HBC patients, whereas only one SBC patient has the C/T genotype ($P = 0.0044$). Other 5 variants showing statistical correlation with BRCA1 HBC including rs1041983 ($P = 0.0124$), rs279942 ($P = 0.0183$), rs11807 ($P = 0.0329$), rs4646904 ($P = 0.0461$) and rs4715333 ($P = 0.0461$).

Conclusioni: Our results demonstrate a statistical correlation between BRCA1-related tumor onset and seven genetic polymorphisms in six genes, including ADH6, NAT2, SLC10A2, GSTM5, CYP4F3 and GSTA1. All these genes play a role in detoxification of a variety of endogenous and exogenous electrophilic compounds, and are also involved in the metabolism of drugs and environmental toxins. We conclude that functional changes in genes involved in carcinogenic activity might play a relevant role also in the onset of BRCA1-related tumors. The DMET microarray platform appears therefore a novel tool for identification of genetic changes correlated to inherited cancer.

TEST FUNZIONALE EX VIVO DI SPLICING PER LA DIAGNOSTICA MOLECOLARE DEL CARCINOMA DEL SENO E DELL'OVAIO: VALUTAZIONE DELL'EFFETTO DELLE VARIANTI DI SIGNIFICATO SCONOSCIUTO NEI GENI BRCA1 E BRCA2

Daniela Di Giacomo¹, Pascaline Gaildrat², Sophie Krieger³, Agnès Hardouin³, Mario Tosi², Enrico Ricevuto¹

¹*Oncologia Medica, Dip. di Medicina Sperimentale, Università degli Studi dell'Aquila, L'Aquila*

²*Inserm U614, Faculty of Medicine, University of Rouen, Department of Genetics and Institute for Biomedical Research, Rouen University Hospital, Rouen, France*

³*Institut F. Baclesse, Caen, France*

ABSTRACT

33

Obiettivo: Esiste una quota di famiglie a rischio per tumore del seno e dell'ovaio che risulta essere negativa sia a mutazioni puntiformi che a riarrangiamenti cromosomici dei geni BRCA. In queste famiglie si riscontra molto frequentemente la presenza di varianti di significato biologico sconosciuto (VUS) che potrebbero avere un effetto sullo splicing del pre-mRNA. Il nostro gruppo di ricerca integrato con il Dipartimento di Genetica Medica della Facoltà di Medicina e Farmacia di Rouen si propone di studiare, attraverso l'uso di un test funzionale ex vivo, l'effetto delle VUS nei geni BRCA1 e BRCA2.

Materiali e metodi: Per lo studio dell'impatto delle VUS sullo splicing è utilizzato un software di predizioni bio-informatiche chiamato ALAMUT (Interactive Biosoftware, <http://www.interactive-biosoftware.com>) che si avvale di un server di dati che vengono regolarmente aggiornati. Il test ex vivo di splicing si basa sull'amplificazione mediante PCR del DNA genomico del paziente utilizzando primers selezionati a ~150 bp dall'inizio e dalla fine dell'esone e contenenti specifici siti di restrizione. L'amplicone digerito, sia quello contenente la sequenza wild-type che quello contenente la mutazione, viene inserito tra i due esoni del minigene pCAS2 dopo clonaggio molecolare, e le costruzioni wild-type e mutante sono isolate e transfettate in parallelo in cellule HeLa. Gli effetti dello splicing vengono analizzati attraverso RT-PCR e successiva sequenza diretta.

Risultati: Varianti esoniche causano difetti a livello dello splicing in quanto possono modificare i siti di splicing o crearne di nuovi, o perché possono alterare elementi esonici di regolazione (ESE, ESS). Attualmente la difficoltà maggiore è l'interpretazione di difetti parziali di splicing che risultano dall'alterazione di elementi potenziali ESE o ESS. Presenteremo dei dati relativi al test ex vivo e ai risultati della RT-PCR condotta sull'RNA dei pazienti, in relazione ai dati clinici e familiari.

Conclusioni: Il test funzionale ex vivo di splicing, basato sull'utilizzo del minigene pCAS2, rappresenta una metodica sensibile e specifica oltre che mostrarsi una valida alternativa agli studi effettuati direttamente sull'RNA del paziente che molto spesso risulta essere non disponibile.



CASE REPORT: PRESENZA DI SIMULTANEE ALTERAZIONI IN BRCA1 E BRCA2 IN UN CASO DI TUMORE MAMMARIO EREDO-FAMILIARE

Brunella Pilato, Katia Danza, Simona De Summa, Daniela Petriella, Rossana Lambo, Angelo Paradiso, Stefania Tommasi

Istituto Tumori "Giovanni Paolo II", Bari



ABSTRACT

34

Obiettivo: La presenza di mutazioni germinali nei geni BRCA1 e BRCA2 predispone al carcinoma mammario eredo-familiare; negli ultimi tempi un ruolo determinante sembrano rivestire anche i polimorfismi e le varianti introniche. Oltre le varianti già individuate e dal significato certo (patologiche e non) numerose unclassified variants (UV) ossia varianti dal significato sconosciuto sono oggetto di complessi studi. Si è calcolato che l'80% di pazienti con storia familiare di tumore della mammella presenti almeno un polimorfismo in BRCA, di contro, la probabilità di riscontrare la presenza di mutazioni patologiche in BRCA1 e in BRCA2 in uno stesso soggetto, è molto bassa. Pochi sono i casi di doppia eterozigosi (DH) nei due geni ad alta suscettibilità descritti in letteratura, e tra questi alcuni correlati all'etnia Ashkenazi Jewish. Il presente lavoro riporta i dati relativi allo studio di un caso di carcinoma mammario con storia familiare e doppia eterozigosi in BRCA1 e BRCA2. Per la prima volta la mutazione BRCA2 NT_6024delTA viene descritta in associazione alla mutazione BRCA1 NT_5382insC in un caso italiano di doppia eterozigosi.

Materiali e metodi: Il caso riportato è relativo ad una probanda ed ai suoi familiari arruolati nel Programma di Consulenza dell'Istituto Tumori "G. Paolo II" di Bari. La probanda, classificata ad alto rischio (> 10%) di presentare mutazioni in BRCA, è stata sottoposta a screening molecolare dei 2 geni tramite dHPLC e sequenziamento diretto. Le mutazioni patologiche diagnosticate sono state in seguito ricercate nei familiari attraverso medesime tecniche di analisi. Le informazioni clinico-patologiche e di storia familiare ottenute sono state utilizzate per la costruzione del relativo albero genealogico.

Risultati: La probanda, affetta da tumore della mammella oltre che da tumori multipli in altre sedi (ovario e metastasi epatiche), è stata l'unica tra i familiari presi in esame a riportare la presenza di mutazioni sia in BRCA1 che in BRCA2. Le due mutazioni sono risultate ereditate rispettivamente dalla linea materna (BRCA1 NT_5382insC) e dalla linea paterna (BRCA2 NT_6024delTA). Gli studi di screening e di analisi dell'albero genealogico hanno mostrato la trasmissione della mutazione BRCA2 NT_6024delTA solo alla sorella sana. I due fratelli, arruolati nel medesimo studio, non hanno mostrato alcuna mutazione nei geni BRCA.

Conclusioni: Il presente lavoro descrive un nuovo caso italiano di doppia eterozigosi nei geni BRCA confermando una probabile correlazione tra tali mutazioni patologiche ed etnia.

DOUBLE HETEROZYGOSIS FOR hMLH1 AND BRCA1 IN A YOUNG WOMAN

Monica Pedroni¹, Carmela Di Gregorio², Luca Bonetti Reggiani², Laura Botticelli², Laura Cortesi³, Valentina Oddi¹, Claudio Priore Oliva⁴, Maria Luisa Simone⁴, Massimo Federico³, Veronica Medici³, Giuseppe Viale⁵ and Maurizio Ponz de Leon¹

¹Dip. di Medicine e Specialità Mediche - Medicina I, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena

²Dip. ad attività integrata di Laboratori, Anatomia Patologica e Medicina Legale, Sezione di Anatomia Patologica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Policlinico di Modena, Modena

³Programma di Epidemiologia e prevenzione Oncologica, Dip. di Oncologia ed Ematologia, Università di Modena e Reggio Emilia

⁴Dip. di Scienze Bio-Mediche, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena

⁵Divisione di Anatomia Patologica, IEO - Facoltà Medicina, Università degli Studi di Milano

Background and Aim: Constitutional mutations in BRCA1 and BRCA2 genes are responsible for a large proportion of hereditary breast and ovarian cancers. Carriers of mutations in Mismatch Repair genes predispose to Lynch Syndrome, characterized by early malignancies of the large bowel and others epithelial tumours, including endometrial and urological cancers. We describe a case showing early onset unilateral breast cancer at 35 years, who subsequently developed endometrial, ovarian cancer and renal clear carcinoma at age 39. Moreover, the patient was affected by an infiltrating carcinoma of the controlateral breast at age 46.

Results: We found in this woman a heterozygous state for a BRCA1 mutation (c.300T>G). The extended genealogic tree showed a suspect history of breast cancer in the paternal branch and a strong positive history of colorectal cancer in the maternal branch. Consequently, endometrial cancer was investigated for Microsatellite Instability (MSI) and expression of Mismatch Repairs proteins. An elevated MSI and altered expression of MLH1 protein were detected. The further sequencing of the hMLH1 gene revealed the mutation c.1489dupC, at exon 13. The same mutation was found in the mother of the patient. To investigate whether the others tumours were associated with Lynch Syndrome, immunohistochemistry and MSI were carried out. All tumours, including breast cancer, showed no expression of MLH1 protein and positivity for Microsatellite Instability. Loss of the wild type hMLH1 allele was detected in the breast cancer, suggesting that Mismatch repair defect contributed to the development of the breast cancer phenotype.

Conclusion: We describe a proband – from two families, one with BRCA1 and the other with hMLH1 mutations – with multiple tumors of various organs. Molecular data suggest that inactivation of both genes contribute to the development of breast cancer.



ABSTRACT

35

19 NOVEMBRE 2010

16.00-17.45



NUOVE STRATEGIE NEI TUMORI EREDITARI

Moderatori: P. Tassone - P. Radice

- TR13** **TERAPIE MIRATE PER I TUMORI EREDITARI MEDIANTE L'UTILIZZO DI PARP-INIBITORI: UN NUOVO APPROCCIO BIOLOGICO**
Pier Franco Conte (Modena)
- TR14** **STRATEGIE INDIVIDUALIZZATE PER IL TRATTAMENTO DEI TUMORI EREDITARI DELLA MAMMELLA**
Pierosandro Tagliaferri (Catanzaro)
- TR15** **APPROCCI INNOVATIVI NELLA FARMACOPREVENZIONE DEI TUMORI EREDITARI DELLA MAMMELLA**
Bernardo Bonanni (Milano)
- TR16** **NUOVE TERAPIE NEL CARCINOMA MIDOLLARE TIROIDEO**
Massimo Santoro (Napoli)
- TR17** **CLASSIFICAZIONE E NUOVI APPROCCI NEI TUMORI NEUROENDOCRINI**
Guido Rindi (Roma)

17.45



LETTURA

Moderatore: G. Romeo

- L2** **EVALUATION AND MANAGEMENT OF HIGH RISK WOMEN**
Claudine Isaacs (Washington, USA)

Legenda: **L** lettura **TR** tavola rotonda



TERAPIE MIRATE PER I TUMORI EREDITARI MEDIANTE L'UTILIZZO DI PARP INIBITORI: UN NUOVO APPROCCIO BIOLOGICO

PierFranco Conte, Elena Barbieri

Dipartimento di Oncologia, Ematologia e Malattie dell'Apparato Respiratorio, Università di Modena e Reggio Emilia



ABSTRACT

TR13

L'introduzione e lo sviluppo in campo oncologico di agenti a bersaglio molecolare, in grado di agire selettivamente su determinate vie biologiche, ha ampliato le possibilità di trattamento in numerosi tipi di neoplasie.

Recentemente, l'inibizione dell'enzima PARP (poli-ADP-ribosio polimerasi) attraverso agenti in grado di interferire con i meccanismi di riparazione del DNA, sta emergendo come una nuova promettente strategia.

L'enzima PARP è un'enzima nucleare che segnala i danni al DNA, promuovendo la riparazione dei danni che avvengono a carico della singola elica attraverso l'excision base repair pathway. Le proteine BRCA 1 e 2 regolano la riparazione dei danni alla doppia elica del DNA attraverso il meccanismo della ricombinazione omologa, che richiede quindi il funzionamento della via di BRCA. Le cellule dei pazienti con mutazioni germinali hanno un difetto nella ricombinazione omologa a causa della perdita di entrambi gli alleli di BRCA: una perdita a livello germinale e la seconda derivante da una mutazione somatica.

In caso di difetto nella via di riparazione tramite la ricombinazione omologa, l'inibizione di una seconda via di riparazione, come avviene nel caso di utilizzo di inibitori di PARP, ha come esito un evento letale.

Nelle pazienti affette da carcinoma mammario od ovarico con mutazioni di BRCA 1/2, l'utilizzo di inibitori di PARP ha permesso di ottenere circa un 40% di risposte obiettive.

L'attività dell'inibitore di PARP olaparib è stata sperimentata nelle pazienti BRCA 1/2 mutate, con carcinoma mammario metastatico, refrattario alla chemioterapia. In uno studio di fase II a braccio singolo, si è ottenuto un overall response rate del 38% con olaparib somministrato per via orale alla dose di 400 mg due volte al giorno, con un profilo di tossicità accettabile.

In una recente analisi presentata all'ASCO del 2010, non sono state osservate risposte obiettive con olaparib in 23 pazienti con carcinoma mammario triplo negativo, di cui 8 portatrici di BRCA mutato. L'inibitore di PARP velaparib, in combinazione con temozolamide, è stato valutato in 41 pazienti con carcinoma mammario metastatico; l'attività è stata limitata alle 8 pazienti portatrici di mutazione di BRCA, con un beneficio clinico del 62.5%.

In uno studio di fase II in pazienti BRCA 1/2 mutato, con carcinoma dell'ovaio metastatico già pretrattato, l'inibitore di PARP olaparib ha permesso di ottenere un 33% di risposte obiettive, con una durata media della risposta superiore ai 9 mesi. In uno studio di fase I in pazienti con carcinoma ovarico BRCA1/2 mutato le pazienti trattate con olaparib hanno ottenuto un beneficio clinico del 46%.

Attualmente sono numerosi gli inibitori di PARP in via di sviluppo e sperimentazione clinica.

STRATEGIE INDIVIDUALIZZATE PER IL TRATTAMENTO DEI TUMORI EREDITARI DELLA MAMMELLA

Pierosandro Tagliaferri

Dip. di Medicina Sperimentale e Clinica, Università Magna Græcia di Catanzaro



ABSTRACT

TR14

Nuove evidenze sperimentali hanno definito le basi molecolari dei processi cancro-genetici alla base delle neoplasie mammarie insorgenti in un contesto di ereditarietà BRCA1 e BRCA2 correlata. Tali studi hanno permesso di definire nuove potenzialità terapeutiche per tali neoplasie sulla base di lesioni molecolari quali alterazioni nei meccanismi di riparo del DNA bicatenario. Le evidenze sperimentali in ambito preclinico di un incremento nella sensibilità al cisplatino e agli inibitori di PARP hanno trovato conferma in studi clinici e offrono la base di un nuovo paradigma per il trattamento delle neoplasie umane: la scelta del trattamento sulla base dello specifico processo cancro-genetico. Appare ora di interesse primario l'identificazione di tumori che pur in assenza di alterazioni nella linea germinale possano condividere con i tumori BRCA1 e BRCA2 correlati marcatori molecolari di sensibilità al cisplatino e agli inibitori di PARP. La recente evidenza sperimentale della deregolazione del pathway di Notch nei tumori BRCA1 correlati appare indicare nuovi potenziali agenti terapeutici in tali neoplasie come gli inibitori di gamma-secretasi. La possibilità di trattamenti individualizzati per le neoplasie BRCA1/2 correlate in fase localmente avanzata o metastatica crea un nuovo scenario per le strategie di testing e counselling genetico.



APPROCCI INNOVATIVI NELLA FARMACOPREVENZIONE DEI TUMORI EREDITARI DELLA MAMMELLA

Bernardo Bonanni

Istituto Europeo di Oncologia – Divisione di Prevenzione e Genetica Oncologica



ABSTRACT

TR15

La gestione di soggetti ad alto rischio di tumore è un'area complessa dell'oncologia clinica, divisibile in tre settori principali: valutazione del rischio, sorveglianza, misure di riduzione del rischio o di prevenzione. Le misure di prevenzione sono sempre molto personalizzate e includono cambiamenti dello stile di vita, prevenzione farmacologica e profilassi chirurgica spesso in combinazione. La farmaco prevenzione ha già dimostrato la sua efficacia per alcune neoplasie, soprattutto con SERMs e inibitori aromatasi per i tumori endocrino responsivi. Questi e molti altri composti (TK-inibitori, statine, FANS, retinoidi, rexinoidi, PARP-inibitori) sono in valutazione per prevenire anche tumori ereditari.

Molti studi dimostrano il ruolo dei retinoidi nel regolare la crescita, la differenziazione e l'apoptosi cellulare. L'induzione dell'apoptosi è una caratteristica peculiare della fenretinide (4-idrossifenilretinamide), il retinoide più studiato in prevenzione mammaria, per la capacità di accumulo selettivo nel tessuto mammario e la bassa tossicità. La fenretinide è efficace nell'inibire la crescita delle cellule di tessuto mammario e ovarico con mutazione BRCA1, BRCA2. I dati del follow-up di uno studio randomizzato di fase III con obiettivo la riduzione di recidive di tumore mammario, indicano che la fenretinide è in grado di ridurre globalmente le recidive del 38% nelle donne in premenopausa, effetto che si mantiene almeno per 10 anni dalla interruzione del trattamento. Un andamento simile si osserva nel tumore ovarico. Pertanto è plausibile che le giovani donne ad alto rischio per entrambe le patologie perché portatrici di mutazioni BRCA1, BRCA2 possono essere le candidate ideali per ulteriori studi con questo retinoide.

L'Istituto Europeo di Oncologia ha promosso uno studio multicentrico (18 centri), randomizzato, di fase III, placebo controllato con fenretinide in giovane donne sane portatrici di mutazione patogenetica germinale BRCA1, BRCA2. Saranno selezionate 758 donne dai 25 ai 44 anni trattate o con fenretinide 200mg/die o con placebo per 5 anni e successivo follow-up di altri 10 anni. L'obiettivo primario dello studio è di valutare l'efficacia della fenretinide nel ridurre l'incidenza di tumore mammario. Gli obiettivi secondari sono l'incidenza di tumore ovarico o tumori in altri distretti corporei.

NUOVE TERAPIE NEL CARCINOMA MIDOLLARE TIROIDEO

Massimo Santoro, Donata Vitagliano, Valentina De Falco, Anna Tamburrino, Francesca Carlomagno

Dip. di Biologia e Patologia Cellulare e Molecolare, Università "Federico II" di Napoli



ABSTRACT

TR16

Oncoproteine con funzione chinasica sono spesso mutate in tumori e quindi promettenti bersagli per nuove terapie anti-tumorali a bersaglio mirato. Mutazioni puntiformi del recettore tirosino-chinasi RET sono presenti praticamente in tutti i carcinomi midollari della tiroide familiari (ereditati nell'ambito delle sindromi da neoplasie endocrine multiple di tipo 2) e nel 50% dei carcinomi midollari sporadici. Le mutazioni piu' comuni consistono nella sostituzione con differenti amminoacidi di cisteine localizzate nel dominio extracellulare di RET oppure nella sostituzione della metionina 918 nel dominio chinasi con un residuo di treonina. Queste mutazioni attivano la funzione chinasica ed il potenziale oncogeno di RET. Dunque, RET e' un promettente bersaglio terapeutico per carcinomi midollari della tiroide. Abbiamo identificato due composti ATP-competitivi (vandetanib e sorafenib) in grado di inibire l'attivita' di RET con una IC50 di circa 100 nM. Entrambi sono in studi clinici di Fase II e III in pazienti con carcinoma midollare tiroideo localmente avanzato o metastatico. Questi approcci seppure promettenti non sono comunque esenti da problemi, quali lo sviluppo di mutazioni che causino resistenza della chinasi oppure l'attivazione di circuiti regolatori che ripristinano la trasduzione del segnale anche in presenza di una chinasi costantemente inibita. Dati *in vitro* suggeriscono che alcune mutazioni di RET quali quelle a carico della valina 804 oppure la tirosina 806 causano resistenza al vandetanib. Inoltre, la sovra-stimolazione del recettore EGFR e' in grado *in vitro* di compensare l'inibizione di RET e sostenere la proliferazione di cellule di carcinoma midollare tiroideo anche in presenza di inibitori di RET.



CLASSIFICATION AND NEW APPROACHES IN NEUROENDOCRINE NEOPLASMS

Guido Rindi

Institute of Anatomic Pathology, U.C.S.C. Policlinico A. Gemelli, Rome



ABSTRACT

TR 17

Neuroendocrine tumors (NETs) are a variety of neoplastic lesions distributed in most organs and apparatus first recognized as “carcinoids” in the gastroenteropancreatic (GEP) tract. NETs are classified according to the current World Health Organization (WHO) criteria. Three classes are identified as WHO class 1, well-differentiated endocrine tumor (WDET); WHO class 2, well-differentiated endocrine carcinoma (WDEC) and WHO class 3, poorly differentiated endocrine carcinoma (PDEC). WHO class 1 is further sub-divided into class 1a benign behavior and 1b uncertain behavior. The WHO three classes division proved an effective predictor of survival, while the 1a/1b subdivision is of limited prognostic value. The European Neuroendocrine Tumor Society (ENETS) defined grading and TNM/Staging classifications. The ENETS grading defines three classes (G1-G3) according to both mitotic count and Ki67 index. The ENETS TNM identifies different T values according to size, wall or nearby organs invasion with variable definitions according to site. A common staging system has been defined as follows: stage I tumors with limited growth, stage II larger or more invasive tumors, in absence of metastases, stage III tumors invading the surrounding structures or with loco-regional metastases and stage IV implying distant metastases. This classification system is meant for clinical use and has been recently embraced by the American joint Cancer Committee (AJCC) and, as for TNM only, the International Union Against Cancer (UICC). Current oncology guidelines for GEP NETs are largely based on NET proliferation fraction and stage, in some instances according to WHO 2000 classification, to define specific therapeutic options.

EVALUATION AND MANAGEMENT OF HIGH RISK WOMEN

Claudine Isaacs

Lombardi Comprehensive Cancer Center, Georgetown University, Washington, DC, USA



ABSTRACT

2

Approximately 5-10% of all newly diagnosed breast cancers in Western nations are attributable primarily to inherited mutations in the BRCA1 and BRCA2 (BRCA1/2) genes. Identifying individuals at increased risk for carrying a BRCA1/ BRCA2 mutation has significant public health implications. Current risk assessment models incorporate family history of breast or ovarian cancer, age at diagnosis, ethnicity and more recently cancer phenotype. Women with a BRCA1 or BRCA2 mutation face significantly elevated risks of early onset breast and ovarian cancer. Additionally BRCA1/2 carriers with breast cancer have a significantly elevated risk of contralateral breast cancer. Breast cancer risk management for mutation carriers includes breast cancer screening with annual mammography and breast magnetic resonance imaging (MRI) beginning at age 25 years, and consideration of risk reducing measures such as chemoprevention or bilateral mastectomies. Newly diagnosed breast cancer patients may take advantage of rapid genetic counseling and testing to inform surgical decisions if they test positive for a BRCA1/2 mutation. Given the lack of effective screening, ovarian cancer risk management consists primarily of risk reducing bilateral salpingo-oophorectomy when childbearing is completed. Additionally, recent studies suggest that BRCA associated cancers may be particularly responsive to certain systemic therapies. BRCA-negative women (ie those with strong family histories of breast cancer but no family history of other BRCA-associated cancer) should follow the same management recommendations for breast cancer risk as BRCA1/2 mutations, however recent studies suggest that these women do not face elevated risk for ovarian cancer. In this session we will review the current risk assessment tools, as well as the management options for high risk women with known mutations and those who are mutation negative.

