



**Prevenzione primaria**

**Rischio genetico**

**Innovazione in campo diagnostico e terapeutico**

**Maggio 2006**



## CAPITOLO 2

# ALTO RISCHIO ED INDAGINE GENETICA: REALIZZAZIONE DELLA RETE TOSCANA PER I TUMORI EREDITARI

Coordinatore: Generoso Bevilacqua  
*Anatomia Patologica e Diagnostica Molecolare ed Ultrastrutturale,*  
*Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana*

Hanno collaborato alla stesura e revisione:

<b>Cognome e Nome</b>	<b>Specialità</b>	<b>Ente di Appartenenza</b>
Angiolini Catia	Oncologia	ASL 10 Firenze
Bagnoli Alessandra	Igiene e Sanità Pubblica	ASL 7 Siena
Bellino Leonardo	MMG	ASL 10 Firenze
Brandi Maria Luisa	Endocrinologia	AOUC Firenze
Caligo Maria Adelaide	Genetica	AOU Pisa
Falchetti Alberto	Endocrinologia	AOUC Firenze
Falcone Alfredo	Oncologia	ASL 6 Livorno
Gasperoni Silvia	Oncologia	AOUC Firenze
Genuardi Maurizio	Genetica	AOUC Firenze
Giordano Antonio	Anatomia Patologica	Università degli Studi di Siena
Leoncini Lorenzo	Anatomia Patologica	AOU Siena
Liberatore Concetta	Oncologia	ASL 7 Siena
Lopane Paolo	Oncologia	ASL 6 Livorno
Messerini Luca	Anatomia Patologica	AOUC Firenze
Orrico Alfredo	Genetica	AOU Siena
Palli Domenico	Epidemiologia	CSPO Firenze
Renieri Alessandra	Genetica	AOU Siena
Ricci Sergio	Oncologia	AOU Pisa
Sorrentino Vincenzo	Genetica	AOU Siena
Tonelli Francesco	Chirurgia	AOUC Firenze
Torricelli Francesca	Genetica	AOUC Firenze
Valanzano Rosa	Chirurgia	AOUC Firenze
Zanna Ines	Epidemiologia	CSPO Firenze

AOUC = Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi - Firenze; AOU Pisa = Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana; AOU Siena = Azienda Ospedaliero-Universitaria Senese; ASL = Azienda Sanitaria Locale; CSPO = Centro per lo Studio e la Prevenzione Oncologica - Firenze; MMG = Medico di Medicina Generale

## 2.1 INTRODUZIONE

Il rischio di sviluppare un tumore viene conferito da due diversi tipi di fattori, *genetici* e *non genetici*. I primi consistono in alterazioni patogene dei geni (mutazioni), che sono costituzionali, vengono ereditate da uno dei genitori e sono responsabili di forme ereditarie di predisposizione a tumori in quanto svolgono un ruolo diretto e rilevante nella patogenesi della malattia. Esistono, poi, specifici polimorfismi genetici costituzionali, capaci di modulare il rischio individuale di neoplasia in quanto implicati nella cosiddetta patogenesi multifattoriale; questi possono agire attraverso diversi meccanismi, ad esempio conferendo una diversa capacità di metabolizzare sostanze cancerogene o di riparare i danni da queste provocati al DNA. Per quanto riguarda i fattori *non genetici*, di particolare interesse sono le infezioni, sia da virus oncogeni, quali l'HPV (human papilloma virus, agente eziologico del cancro del collo dell'utero) e l'HHV8/KSHV nei soggetti immunodepressi, sia da batteri, quali l'*Helicobacter pylori* in alcuni tipi di cancro gastrico.

I fattori genetici svolgono un ruolo preminente nel conferimento di un maggior rischio individuale; in particolare, la trasmissione ereditaria di mutazioni patogene viene ormai riconosciuta come momento eziopatogenetico di grande rilievo per tutti i tipi di neoplasia.

I tumori con una particolare incidenza all'interno di una famiglia vengono chiamati "eredo-familiari"; *familiare* indica un qualsiasi evento, ereditario o no, che si presenta con particolare frequenza nell'ambiente di una famiglia; *ereditario* sottolinea la natura genetica (mutazione) di un evento *familiare*, tale da essere trasmessa lungo le generazioni. I tumori familiari possono essere ereditari (forse in larga parte) oppure secondari a stili di vita (ad esempio obesità, come fattore di rischio di cancro mammario) o a condizioni ambientali (vita in prossimità di fattori cancerogeni, come radiazioni naturali o altro). Le alterazioni genetiche alla base dei tumori ereditari sono note solo in parte.

I tumori ereditari hanno alcuni caratteri che li diversificano dai tumori sporadici, in conseguenza delle loro specifiche caratteristiche molecolari:

- insorgono più precocemente, con un anticipo anche di 20 o più anni rispetto alle equivalenti forme sporadiche;
- sono spesso bilaterali, quando coinvolgono organi pari;
- sono spesso multipli, costituendo delle sindromi caratterizzate dalla comparsa, in genere non contemporanea, di tumori di diversi organi o apparati, come mammella e ovaio.

Queste loro specificità fanno sì che possano sfuggire ai comuni programmi di screening oncologico, disegnati per specifici gruppi di età e per un solo tipo di neoplasia.

Lo studio genetico di una famiglia, basato su un'attenta ricostruzione dell'albero genealogico corredato di tutti gli eventi patologici, consente di stabilire se si è in presenza di una patologia eredo-familiare. Inoltre, lo studio molecolare del patrimonio genetico di un paziente può consentire di individuare le mutazioni patogene oggi note. La ricerca della specifica mutazione nei soggetti sani appartenenti a una famiglia ad alto rischio in cui sia stata identificata una mutazione germinale consente di: a) individuare le persone ad alto rischio, in quanto hanno ereditato la mutazione; b) individuare le persone che mantengono il rischio della popolazione generale, in quanto non hanno ereditato la mutazione. I soggetti sani a rischio eredo-familiare possono essere avviati a specifici programmi di sorveglianza al fine di una diagnosi precoce o a protocolli di profilassi, medica o chirurgica. Le opportunità di azione in termini di diagnosi e di terapia differenziano la maggior parte delle situazioni di rischio genetico di neoplasia da quelle, per esempio, di rischio genetico di malattie degenerative del sistema nervoso, quali la malattia di Huntington, che hanno prognosi infausta e sono incurabili.

Sulla base delle attuali possibilità di intervento diagnostico e terapeutico, il Piano Sanitario della Regione Toscana (PSR) per il triennio 2005-2007 prevede fra gli obiettivi: "sviluppare la ricerca nel settore del rischio oncologico su base genetica, sia in termini di sviluppo ed implementazione di metodiche di identificazione dei soggetti ad elevato rischio e conseguente sorveglianza clinica, sia mediante l'eventuale allestimento di un Registro Regionale delle famiglie con queste caratteristiche".

In considerazione delle indicazioni del PSR, l'ITT, Istituto Toscano Tumori, ha istituito un apposito Gruppo di Lavoro, "Alto Rischio ed Indagine Genetica", al fine di giungere alla realizzazione della Rete Toscana per i Tumori Ereditari. Il risultato del lavoro svolto è il Programma RiGe, Rischio Genetico, che viene illustrato in dettaglio nel paragrafo 2.3 di questo capitolo.

## 2.2 I TUMORI EREDITARI

La maggior parte delle neoplasie è di tipo *sporadico*, in quanto si verifica in modo casuale nella popolazione generale. D'altra parte, una più piccola percentuale è di tipo *ereditario*, in quanto il meccanismo eziologico che ne è alla base consiste in mutazioni di geni specifici, trasmesse per via germinale da una generazione a quella successiva. I soggetti che ereditano la mutazione hanno probabilità elevate, in alcuni casi il 100%, di sviluppare tumori nel corso della loro vita. Oltre a questi individui ad alto rischio, ne esistono altri ugualmente predisposti allo sviluppo di neoplasie, ma con un rischio inferiore, anche se comunque aumentato rispetto alla popolazione generale. In questo caso sono coinvolti uno o più geni definiti a *bassa penetranza*.

Le forme sporadiche e quelle ereditarie di un certo tipo di neoplasia sono istologicamente indistinguibili. Solo in alcuni casi sono presenti dei marcatori fenotipici della predisposizione neoplastica, come i polipi multipli del colon nella poliposi adenomatosa familiare o come l'iperplasia delle cellule C nella sindrome MEN 2. Di conseguenza, solitamente l'identificazione delle neoplasie ereditarie si basa solo sulla presenza di un'aggregazione familiare.

Alcuni elementi suggeriscono un'eziologia ereditaria, quali: a) la comparsa di una neoplasia in età giovanile, la presenza di tumori multipli o bilaterali; b) un quadro di aggregazione familiare compatibile con una segregazione di tipo mendeliano; c) una particolare combinazione di tipi di tumori, come il carcinoma della mammella e dell'ovaio. In ogni caso, il riscontro di un'aggregazione familiare per neoplasie non è necessariamente indice di una base ereditaria. La prova definitiva consiste soltanto nella dimostrazione di una stessa mutazione germinale negli individui affetti appartenenti alla stessa famiglia.

Nella maggior parte dei tumori la predisposizione viene ereditata come carattere mendeliano autosomico dominante. Alcune forme sono ereditate, invece, come carattere autosomico recessivo; un esempio è dato dalle neoplasie legate ad alcuni difetti nei sistemi della riparazione del DNA (*DNA repair*), quali lo *Xeroderma pigmentosum*, l'atassia-teleangectasia e la poliposi familiare del colon associata al gene MYH.

La percentuale dei casi di tumore attribuibile ai geni di suscettibilità è ancora incerta a causa di difficoltà metodologiche (stima delle frequenze geniche, stima delle penetranze età-specifiche, stima della sensibilità dei metodi di screening molecolare, etc.), ma è ragionevole ritenere che circa il 5% di tutti i casi (~ 3-10%) insorga in individui con una specifica predisposizione genetica.

### 2.2.1 I tumori ereditari della mammella e dell'ovaio

In Italia, come nella maggior parte dei paesi industrializzati, il tumore della mammella è la neoplasia a più alta incidenza nel sesso femminile. Vengono riscontrati ogni anno circa 25.000-30.000 nuovi casi e 10.000 decessi.

La familiarità è considerata un importante fattore di rischio. Diversi studi epidemiologici, infatti, hanno dimostrato un aumentato rischio di tumore mammario nei congiunti di donne affette rispetto alla popolazione generale. Tale rischio è tanto più elevato quanto più precoce è l'età di insorgenza della malattia e aumenta ulteriormente nel caso di più parenti affette. Sono state descritte famiglie nelle quali la predisposizione allo sviluppo di neoplasia appare limitata al cancro della mammella e famiglie nelle quali l'aumentato rischio riguarda anche altri tipi di tumori, in particolare il carcinoma ovarico.

In Italia l'incidenza per anno di carcinoma ovarico è pari a 5.280 nuovi casi, con 3.260 decessi. Nella popolazione generale il rischio di neoplasia ovarica nel corso della vita è pari allo 0,7%. Tale rischio aumenta fino al 5% se la donna ha un familiare di primo grado affetto e fino al 7% se ne ha due o più. La dimostrazione che il tumore ovarico si presenta nella famiglia con trasmissione autosomica dominante innalza il rischio al 40%.

Sono state identificate diverse sindromi di carcinoma familiare della mammella e/o dell'ovaio, tra cui le principali sono: a) il carcinoma mammario familiare a insorgenza precoce (*early onset breast cancer*), in cui la mammella è unica sede di neoplasia; b) il carcinoma ereditario dell'ovaio (*hereditary ovarian carcinoma*); c) il carcinoma ereditario della mammella e dell'ovaio (*hereditary breast and ovarian cancer*).

I geni principalmente responsabili delle forme familiari di queste neoplasie sono BRCA1 (*BRCA1*) e BRCA2 (*BRCA2*). BRCA1 sembra essere coinvolto nel 45% delle famiglie con casi multipli di tumore mammario e fino al 90% delle famiglie con tumore sia della mammella che dell'ovaio. Le mutazioni di BRCA2 sono presenti in circa il 35% delle famiglie con casi multipli di tumori della mammella e sono associate a famiglie con tumore della mammella maschile, della prostata e del pancreas.

Studi iniziali su famiglie con casi multipli di tumore avevano suggerito che il rischio cumulativo di tumore mammario nei portatori di mutazione in BRCA1 fosse di circa il 70-80% e che il rischio cumulativo per il tumore dell'ovaio fosse del 40-60%. Allo stesso modo, le prime stime effettuate per i portatori di mutazione in BRCA2 calcolavano un rischio cumulativo nell'ordine dell'80% per il tumore della mammella e del 27% per il tumore ovarico. Studi più recenti, basati su analisi molecolari di casi incidenti, hanno fornito stime più basse. Ad esempio, un'analisi combinata di 18 studi ha valutato il rischio cumulativo di tumore della mammella all'età di 70 anni in circa il 64% negli individui BRCA1 e del 39% in quelli BRCA2.

Il carcinoma della mammella è di frequente riscontro anche in altre sindromi neoplastiche ereditarie quali la sindrome di Lynch di tipo II o la sindrome di Li-Fraumeni, dovute rispettivamente a mutazioni germinali dei geni della riparazione delle basi male appaiate (*mismatch repair*) e del gene p53. Complessivamente questi casi ammontano a meno dell'1% di tutti i casi di carcinoma della mammella.

### 2.2.2 Il carcinoma coloretale ereditario

Il cancro del colon-retto è il quarto tipo di tumore più frequente nel mondo occidentale ed è la seconda più comune causa di morte per neoplasia.

Ogni anno ne vengono diagnosticati 130.000 nuovi casi e si hanno 56.000 decessi per questa patologia. Circa l'80% dei casi è costituito da forme sporadiche, mentre il restante 20% dei pazienti ha forme di suscettibilità ereditaria. All'interno di questo gruppo sono state identificate svariate sindromi e diversi dei rispettivi geni sono stati clonati.

### 2.2.3 La poliposi adenomatosa familiare (FAP - familial adenomatous polyposis)

La FAP è una sindrome rara, nella quale si verifica solo l'1% circa dei tumori del colon, caratterizzata dalla presenza nel colon-retto di centinaia di polipi. Circa il 100% degli individui con FAP sviluppa un tumore in età giovanile. Talora i polipi si formano anche nel tratto gastrointestinale superiore. Gli individui con FAP hanno un rischio aumentato di sviluppare anche epatoblastomi nell'infanzia, medulloblastomi e carcinomi papillari della tiroide. Inoltre, si possono riscontrare osteomi della mandibola, ipertrofia congenita dell'epitelio pigmentato della retina (CHRPE), cisti epidermoidi prevalentemente del cuoio capelluto e denti sovranumerari. I tumori desmoidi che compaiono nel 5-10% dei casi di FAP sono causa frequente di mortalità.

FAP è una sindrome autosomica dominante, causata dalle mutazioni nel gene APC (adenomatous polyposis coli), localizzato sul cromosoma 5q21. Il gene APC codifica per una proteina di 2.843 aminoacidi implicata nei processi di adesione cellulare e di trasduzione del segnale. La frequenza dei portatori di forme tronche del gene, e quindi patogene, è stata stimata 1:10.000. Le mutazioni sono disperse lungo tutta la sequenza codificante, ma quasi tutte portano a una proteina tronca.

Il gene APC è mutato anche nelle forme sporadiche del tumore e risulta un evento precoce nella carcinogenesi colon rettale. Vi è una rilevante correlazione tra posizione della mutazione e fenotipo clinico della malattia; ad esempio, una forma attenuata è associata a mutazioni dell'estremità 5' del gene, la comparsa del fenotipo CHRPE alle mutazioni dei codoni 542-1309. Talvolta la stessa mutazione può dare origine a fenotipi diversi nella stessa famiglia.

### 2.2.4 La sindrome del carcinoma ereditario del colon non associato a poliposi (HNPCC - hereditary non polyposis colon cancer)

La sindrome HNPCC, detta anche sindrome di Lynch, tipo I e tipo II, è la più comune forma di tumore ereditario del colon-retto. Tipiche della sindrome sono l'età di insorgenza giovanile e l'associazione con altre forme di tumore, ad esempio dell'endometrio, del tratto urinario e del sistema biliare. HNPCC ha un'incidenza di 1:1000 - 1:5.000 nella popolazione generale e 1 - 6:100 in individui con cancro del colon-retto e ha un rischio dell'80% di sviluppare un tumore del colon e del 60% di sviluppare un tumore dell'endometrio. Gli individui portatori hanno anche un rischio aumentato di sviluppare altri tipi di tumore, ad esempio quello ovarico (12%) o dello stomaco (13%).

HNPCC è una malattia autosomica dominante, causata da mutazioni nei geni del "mismatch repair" (MMR), MLH1, MSH2, MSH6 e PMS2. Il sistema del MMR identifica e ripara in maniera strand-specifica errori che risultano dall'attività della DNA polimerasi durante la replicazione. Sequenze formate dalla ripetizione in tandem di mono-di-tri nucleotidi sono portate al fenomeno dello scivolamento durante la replicazione. Il meccanismo della riparazione riconosce la base mal appaiata, vi si lega e la escinde, consentendo la risintesi della sequenza corretta. La perdita di funzione del meccanismo del MMR ha come conseguenze l'accumulo di piccole delezioni e inserzioni e di mutazioni puntiformi. Le sequenze microsatelliti sono le più sensibili a un funzionamento difettoso del MMR, e in effetti i tumori dei soggetti HNPCC sono interessati dal fenomeno dell'instabilità microsatellitare.

Il 90% delle mutazioni è localizzata nei geni MLH1 e MSH2. Non sono state osservate forti correlazioni genotipo-fenotipo, ma le mutazioni di MSH2 sono più spesso associate con manifestazioni extraintestinali.

### 2.2.5 La sindrome di Von Hippel Lindau

La sindrome di Von Hippel Lindau è una sindrome ereditaria autosomica dominante con tumori benigni dei vasi sanguigni, particolarmente nell'occhio (angiomi retinici), e con emoangioblastomi del cervelletto. Altre caratteristiche includono il carcinoma del rene, il feocromocitoma e cisti renali, pancreatiche e dell'epididimo. Il gene responsabile della sindrome è posizionato sul braccio corto del cromosoma 3 e codifica per una proteina relativamente piccola.

### 2.2.6 La neurofibromatosi di tipo 1 (NF1)

Le principali manifestazioni della NF1 sono cutanee: macchie "café au lait" e neurofibromi, rispettivamente nella prima e seconda decade di vita. Nel 15% dei casi può insorgere un glioma ottico. Meningiomi e schwannomi

vestibolari, così come feocromocitomi, neurofibromi spinali e rabdomiosarcomi sono alquanto rari. La trasformazione maligna dei neurofibromi si verifica in circa il 10% dei pazienti.

Il gene della NF1 è localizzato sul cromosoma 17 e codifica una proteina di 2.839 aminoacidi. La ricerca di mutazioni germinali è resa particolarmente difficoltosa dall'assenza di hot spots mutazionali. Il 10% delle mutazioni è rappresentato da grosse delezioni, identificabili mediante MLPA/FISH.

### 2.2.7 La neurofibromatosi di tipo 2 (NF2)

La NF2 è una malattia autosomica dominante caratterizzata dallo sviluppo di schwannomi vestibolari bilaterali (neuromi acustici) nella seconda e nella terza decade. Solo da pochi anni questa sindrome è stata formalmente separata dalla NF1. Sebbene molto meno comune rispetto a quella di tipo I, la NF2 ha molte più probabilità di dare manifestazioni cliniche. Infatti, tutti i portatori della mutazione genica sviluppano un tumore prima dei 55 anni di età. Sebbene molti di questi tumori siano benigni, il 6% evolve in gliomi maligni ed ependimomi.

Il gene della NF1 è localizzato sul cromosoma 22 e codifica una proteina di 595 residui. Le mutazioni che danno origine a proteine tronche sono associate a un decorso grave della malattia, con tumori multipli e bassa età di insorgenza, mentre quelle che danno origine a proteine molto simili a quelli normali (mutazioni missenso) o ad assenza di proteina (grandi delezioni) portano a manifestazioni cliniche più lievi.

### 2.2.8 La sindrome di Li-Fraumeni (LFS)

La LFS è stata definita per la prima volta dopo l'osservazione di aggregazione familiare di alcuni tipi di cancro: tumori della mammella a insorgenza precoce, sarcomi dei tessuti molli, tumori cerebrali, tumori adrenocorticali e leucemie. I criteri per individuare la classica LFS sono i seguenti: insorgenza di un sarcoma osseo o dei tessuti molli prima dei 45 anni; insorgenza di altri tumori nei parenti di primo grado del probando, prima dei 45 anni; un sarcoma insorto a qualsiasi età. Tuttavia, un certo numero di famiglie non risulta conforme a questi criteri classici.

I geni responsabili sono TP53 e hCHK2. TP53, spesso descritto come il gene più frequentemente mutato nei tumori sporadici umani, è collocato sul cromosoma 17p13 e ha 11 esoni, che codificano una fosfoproteina nucleare di 53KDa. Mutazioni germinali estremamente penetranti associate con la malattia sono state riportate lungo tutto il gene, ma la maggioranza di esse sono localizzate fra l'esone 5 e l'esone 8.

### 2.2.9 Il melanoma familiare

I soggetti con questa sindrome autosomica dominante hanno un rischio di melanoma che è circa 75 volte superiore rispetto a quello della popolazione generale; inoltre hanno anche un rischio molto elevato di neoplasia pancreatiche. L'età media alla diagnosi è di circa 34 anni, molto più bassa, quindi, rispetto alla popolazione generale (54 anni). Raramente è possibile riscontrare la presenza di astrocitomi. Le neoplasie benigne associate sono generalmente rappresentate da nevi displastici.

Un importante gene di suscettibilità al melanoma è p16, noto anche come CDKN2A o INK4A o MTS1, responsabile di circa il 40% di questi casi ereditari. Altri geni, come CDK4 e p14ARF, svolgono un ruolo in meno dell'1% dei casi.

### 2.2.10 La sindrome delle neoplasie endocrine multiple (MEN - multiple endocrine neoplasia)

Le sindromi MEN sono un gruppo di malattie ereditarie che danno luogo a iperplasie, adenomi e carcinomi in diverse ghiandole endocrine.

La MEN1 è caratterizzata da iperplasie e adenomi delle paratiroidi, adenomi dell'ipofisi e tumori endocrini del pancreas. Questi ultimi, funzionanti o non funzionanti, compaiono più tardivamente rispetto alle altre forme di patologia, anche se con circa dieci anni di anticipo rispetto alle forme sporadiche, e possono mostrare un comportamento maligno, con metastasi linfonodali ed epatiche. Il gastrinoma insorge più spesso nella mucosa duodenale. Il gene responsabile è collocato sul braccio lungo del cromosoma 11 e codifica una proteina di 610 residui.

La MEN2a, o sindrome di Sipple, è una malattia autosomica dominante, con alta penetranza e con espressività variabile. La condizione è identificata dalla presenza di carcinoma midollare della tiroide, feocromocitoma e, più di rado, iperplasia delle paratiroidi. Il gene responsabile è RET, localizzato sul cromosoma 10 e interessato da mutazioni attivanti. Mutazioni in questo gene sono la causa anche della MEN2b, con carcinoma midollare della tiroide, feocromocitomi e neuromi o ganglioneuromi.

Le forme ereditarie di carcinoma midollare della tiroide rappresentano circa il 30% della malattia e spesso sono bilaterali e preceduti da iperplasia delle cellule C.

## 2.3 IL PROGETTO RIGE: LA RETE TOSCANA PER I TUMORI EREDITARI

### 2.3.1 Generalità

Il Programma RiGe è dedicato a fornire informazioni, consulenza genetica e un adeguato percorso di sorveglianza clinica a quegli individui con una significativa storia familiare di cancro.

La consulenza genetica è un processo costituito da più fasi, attraverso il quale, partendo dalla formulazione di una diagnosi o di un sospetto di sindrome da predisposizione ereditaria allo sviluppo di tumori, informazioni genetiche e cliniche vengono comunicate a un individuo. Per le malattie a insorgenza nell'età adulta, come i tumori della mammella e dell'ovaio, le informazioni genetiche consistono nel fornire stime del rischio di comparsa della malattia in individui sani e nella loro progenie. Tali stime sono spesso basate sui risultati di test molecolari. Quando applicati su individui sani appartenenti a famiglie con forme di predisposizione ereditaria a neoplasie, tali test vengono chiamati "predittivi". È opportuno sottolineare che i test predittivi hanno un certo grado di incertezza, dovuto all'eterogeneità genetica e fenotipica della malattia, alla penetranza incompleta, all'età di insorgenza molto variabile.

Test genetico e consulenza non sono sinonimi; l'esame molecolare, infatti, viene proposto sulla base dei risultati della consulenza. Inoltre, prima del test molecolare devono essere discusse le implicazioni cliniche, sociali e psicologiche. Il processo di consulenza comprende aspetti diversi: a) determinazione del rischio empirico di cancro, basato sull'analisi del pedigree e del rischio genetico se è disponibile il test molecolare; b) informazione sui protocolli di sorveglianza e azione educativa rivolta all'acquisizione di comportamenti igienico-sanitari mirati alla riduzione del rischio; c) adeguato supporto psicologico, indirizzato a rendere di facile comprensione il problema della predisposizione ereditaria allo sviluppo di malattie neoplastiche e il concetto di rischio di sviluppare una patologia in relazione all'età e all'anamnesi del soggetto.

Fornire stime di rischio corrette è fondamentale nel processo di consulenza genetica oncologica. La percezione del rischio, infatti, influisce sensibilmente sulle decisioni individuali riguardo i protocolli di prevenzione e di sorveglianza. Quando un test molecolare per il particolare gene di suscettibilità non è disponibile, si usano metodi empirici basati sulla storia familiare e su altre variabili personali; se invece viene rilevata, mediante il test, la presenza di una mutazione germinale, il rischio di sviluppare il tumore per i portatori viene calcolato usando i metodi dell'epidemiologia genetica.

### 2.3.2 Strutture

Il coordinamento del programma ha sede presso l'Istituto Toscano Tumori (ITT). A livello periferico è prevista l'organizzazione di un Ambulatorio Oncologico per i Tumori Eredo-Familiari (AOTE), che ha sede presso il Dipartimento Oncologico di ciascuna Azienda USL. Presso il Dipartimento Oncologico di ogni Azienda Ospedaliero-Universitaria (AOU), o presso strutture altamente specializzate come il CSPO di Firenze, ha sede il Centro per i Tumori Eredo familiari (CTE) che svolge, oltre alle funzioni operativo-cliniche dell'AOTE, anche funzioni di coordinamento per l'intera Area Vasta (AV) di competenza.

### 2.3.3 Organizzazione degli AOTE e CTE

Nelle Aziende USL il compito dell'AOTE, di cui è responsabile un Oncologo, sarà di effettuare una prima valutazione sul rischio genetico; i casi identificati ad alto rischio verranno avviati al CTE della rispettiva AV.

Presso i CTE hanno sede l'Ambulatorio di Consulenza Genetica Oncologica e i Gruppi Multidisciplinari per tipo di patologia neoplastica. Inoltre, presso l'AOU sarà presente il registro di AV per i Tumori Eredo-Familiari.

La responsabilità del CTE è affidata ad un Genetista Medico coadiuvato da un Oncologo.

Il personale in organico al servizio comprende una serie di figure professionali competenti su tutti gli aspetti della problematica: specificatamente negli AOTE, specialisti in Oncologia e Psicologi, e presso il CTE dell'AOU anche specialisti in Genetica Medica. È necessaria la presenza di personale infermieristico formato "ad hoc" sul modello dei "genetic nurse" anglosassoni. Inoltre, è necessario un adeguato numero di personale di segreteria.

### 2.3.4 Percorso

Il cittadino viene informato della problematica relativa alla trasmissione eredo-familiare delle neoplasie sia dal proprio Medico di Medicina Generale (MMG), che da Medici Specialisti del Settore Oncologico (MSO).

Il MMG o il MSO valuta l'opportunità di riferire il cittadino all'AOTE di competenza territoriale, anche sulla base dei risultati derivanti dalla compilazione di un mini-questionario a scelte multiple sulla storia familiare di

cancro, che tutti possono riempire agevolmente; sulla base delle caselle riempite, l'opuscolo avverte se è consigliabile procedere alla valutazione del rischio genetico di cancro e dove rivolgersi. La finalità del questionario è essenzialmente quella di individuare i soggetti che non hanno una suscettibilità genetica allo sviluppo di neoplasie; al contempo permette di selezionare quelli per i quali è opportuno proseguire nelle indagini. Il cittadino può rivolgersi all'AOTE per telefono o per e-mail, per chiedere informazioni e per prenotare un incontro al fine di iniziare il processo di consulenza. Il personale dell'AOTE coinvolto in questa prima fase è l'Infermiere Specializzato.

#### 2.3.4.1 Incontro preliminare

Durante il primo incontro, l'AOTE valuta le motivazioni che hanno portato alla richiesta di consulenza e avvia le procedure sotto precisate. In particolare, spiega il significato della consulenza e delle sue ricadute cliniche, fornisce un questionario dettagliato per raccogliere le informazioni utili per la costruzione dell'albero genealogico corredato dalla storia clinica dei vari componenti della famiglia (il questionario è disponibile anche sul sito web di RiGe e può essere inviato per e-mail), fornisce le istruzioni necessarie per la compilazione del questionario. A quest'ultimo sarà allegato un consenso informato che autorizzi il trattamento dei dati. A questo incontro partecipano lo Specialista Oncologo, l'Infermiere Specializzato e lo Psicologo. Successivamente il cittadino invia il questionario compilato all'AOTE di competenza, che provvede a spedirlo al CTE dell'AOU.

I dati contenuti nel questionario vengono analizzati, verificati e archiviati in un apposito data base presso il CTE dell'AOU da un operatore dedicato all'inserimento e alla manipolazione dei dati. Tale database viene costruito mediante appositi software in grado di costruire gli alberi genealogici e di gestire i dati di ogni individuo appartenente alla famiglia (Progeny, Cyrillic, etc.). I dati possono poi essere facilmente esportabili verso altre applicazioni, quali software di analisi di dati. Si produce la stampa grafica dell'albero genealogico e il Genetista Medico definisce il rischio genetico di neoplasia dell'interessato.

Il calcolo del rischio può essere effettuato anche con l'ausilio di software che implementano al loro interno modelli matematici atti allo scopo, come ad esempio BRCAPro, incluso nel software CaGene, che calcola la probabilità di mutazione nei geni BRCA1 e BRCA2 a partire dalla storia familiare di 1° e 2° grado di soggetti con familiarità per tumore mammario ed ovarico.

#### 2.3.4.2 Consulenza genetica pre-test

Successivamente, il CTE di competenza territoriale invita l'interessato a un nuovo incontro, durante il quale l'informazione sull'albero genealogico dei consultandi e sui casi di cancro viene verificata ed ampliata; in questa occasione potranno essere riempiti dei questionari per la raccolta di ulteriori informazioni relative alle abitudini di vita ed esposizioni ambientali (stile di vita, alimentazione, attività professionale), schede cliniche e valutazioni psicologiche. Tali informazioni vengono raccolte nel database, dove viene inserita anche l'ulteriore documentazione dei tumori riferiti, eventualmente richiedendo ad altri ospedali le cartelle cliniche dei parenti affetti e provvedendo, se possibile, all'incrocio dei dati anagrafici riferiti con quelli di archivi elettronici esistenti (Registri Tumori, Registri Comunali).

Durante questo incontro, il Genetista Medico comunica all'interessato l'entità del rischio. In questa occasione, nel caso in cui le caratteristiche cliniche e la storia familiare indichino una probabile sindrome "ereditaria", viene anche offerta la possibilità dell'esame molecolare dei geni noti, insieme alla spiegazione del suo significato. Nel caso, viene individuato il soggetto sul quale effettuare l'esame e viene effettuato il prelievo di sangue. L'esame viene eseguito presso il Laboratorio di Genetica Molecolare di riferimento dell'AOU.

A questo incontro partecipano il Genetista Medico, lo Specialista Oncologo, lo Psicologo. Il Genetista Medico proviene dal CTE dell'AOU qualora l'incontro di cui al punto precedente avvenga presso un CTE di AV privo di questa figura professionale. In questa fase risulta fondamentale il processo del consenso informato.

#### 2.3.4.3 Consenso informato

È essenziale ottenere un consenso informato prima di sottoporre al test genetico i pazienti e i loro familiari. Per questo è necessario spiegare che il risultato del test potrebbe non essere completamente informativo, che la conoscenza di un maggior rischio consente di beneficiare di una serie di servizi indirizzati alla diagnosi precoce e che esistono attualmente dei limiti rispetto alla prevenzione e alla diagnosi precoce.

In questa fase occorre in particolar modo evidenziare i potenziali benefici e rischi del test. I primi includono l'identificazione delle cause dell'insorgenza precoce di tumore e della presenza di tumori multipli nella famiglia e l'accurata valutazione del rischio di tumore per l'individuo e la famiglia. Queste informazioni saranno utilizzate per pianificare un adeguato percorso di sorveglianza e prevenzione.

D'altra parte, il processo di consulenza genetica può generare stress nell'individuo nel momento in cui venga prospettata la possibilità di una sindrome ereditaria e che a conferma di questa possibilità venga offerto il test

genetico. Se l'esecuzione di tale test coinvolge altri membri della famiglia, una decisione a favore o contro questa esecuzione può comportare cambiamenti nella dinamica familiare, soprattutto se esistono differenti punti di vista sull'argomento. Occorre tener conto poi che un risultato indeterminato o non informativo del test può causare confusione o un falso senso di sicurezza nel paziente, riducendo l'adesione ai programmi di sorveglianza.

Una delle maggiori limitazioni del test molecolare è data dal fatto che un risultato negativo non esclude la possibilità di una condizione ereditaria. Infatti, diversi geni possono essere implicati in particolari sindromi ereditarie e solo pochi possono essere testati clinicamente. Inoltre, a causa di limitazioni tecniche, non tutte le mutazioni nei geni di interesse sono rilevabili. In aggiunta esiste il problema delle varianti geniche di incerto significato clinico.

#### 2.3.4.4 Il test molecolare

Il test molecolare viene condotto inizialmente sul membro affetto della famiglia con la maggior probabilità di aver sviluppato il tumore a causa di una mutazione genetica costituzionale (in base all'età o allo sviluppo di tumori multipli) e che sia disponibile per l'analisi. Si possono presentare varie situazioni:

- a) *viene identificata la mutazione*: si procederà all'offerta dell'analisi molecolare di tutti i membri della famiglia. I soggetti mutati, ma non affetti, vengono invitati a seguire uno specifico programma di sorveglianza;
- b) *non viene identificata la mutazione*: in alcuni casi può essere indicato procedere all'analisi molecolare di almeno un altro membro affetto della famiglia. Se anche in quest'ultimo caso non viene identificata la mutazione può essere presa in considerazione l'analisi indiretta di linkage, se la famiglia è sufficientemente grande e potenzialmente informativa.

Nel caso non fosse disponibile nella famiglia nessun affetto, a ciascuno dei soggetti sani si attribuirà una probabilità di essere portatore del gene mutato in base alle caratteristiche dell'albero genealogico, seguendo il modello di penetranza e la stima dell'eterogeneità adeguati. Se il soggetto sano risulta ad alto rischio di essere portatore di mutazione si potrà procedere ugualmente al test molecolare.

Gli approcci metodologici variano a seconda del gene coinvolto e dei meccanismi di mutazione a carico di questo. In generale, il sequenziamento diretto e il dHPLC sono le metodiche d'elezione per l'analisi di mutazioni puntiformi. Poiché in alcuni geni sono stati identificati altri tipi di mutazioni, in particolari riarrangiamenti genomici, potranno essere condotte analisi mirate a identificare tali riarrangiamenti (per es. con la tecnica MPLA o con altre metodiche semiquantitative in grado di identificare delezioni/duplicazioni di porzioni consistenti di un gene).

#### 2.3.4.5 Valutazione clinica, incluso esame obiettivo

La valutazione clinica, incluso l'esame obiettivo, viene effettuata se opportuna.

#### 2.3.4.6 Consulenza genetica post-test

Dopo l'eventuale esecuzione dell'esame molecolare, il CTE di competenza invita l'interessato a un nuovo incontro, durante il quale viene comunicato il risultato dell'esame e il suo significato. Vengono analizzati e discussi i risvolti psicologici che emergono dall'esito del risultato del test molecolare. Sulla base dello stato dell'interessato, se già affetto da neoplasia o sano, viene proposto il percorso clinico di sorveglianza e le eventuali misure di profilassi. A questo incontro partecipano il Genetista Medico, lo Specialista Oncologo e lo Psicologo.

#### 2.3.4.7 Supporto psicologico

Un notevole numero di risvolti psicologici può originare come risultato del test genetico. I consulenti genetici devono essere consapevoli di questi risvolti. Durante il processo di consulenza, l'esperienza e la percezione dei pazienti del "problema" tumore, la sua prognosi e le opzioni di trattamento devono essere accuratamente valutate dal personale del CTE. In particolare devono essere esplorate le possibili reazioni ai differenti tipi di risultato del test.

- a) *Possibili reazioni a un risultato positivo*. I pazienti possono essere depressi quando apprendono di essere portatori di una mutazione in un gene di suscettibilità. Questo perché a un individuo per altri versi sano viene predetto di avere un alto rischio di sviluppare tumore e viene anche ad apprendere che non ci sono interventi medici atti a correggere questo difetto. I pazienti si possono sentire in colpa anche di aver avuto dei figli, ai quali possono aver trasmesso la mutazione. D'altra parte, molti pazienti che hanno vissuto con il peso di una forte storia familiare di tumore per anni possono provare un senso di sollievo e un senso di chiusura quando ricevono un risultato positivo al test. Alcuni avvertono che un'incertezza è stata rimossa e che adesso saranno capaci di focalizzarsi sulle misure di sorveglianza e prevenzione. L'identificazione della mutazione che causa

la storia di tumore personale o familiare dell'individuo può portare a un senso di potenza, perché il paziente in quel momento si sente sotto controllo.

- b) *Possibili reazioni a un risultato negativo.* Nel contesto di una famiglia con mutazione identificata, un risultato negativo al test costituisce un vero negativo. Questo risultato sta a significare che l'individuo ha un rischio di tumore uguale a quello della popolazione generale, a dispetto della forte storia familiare di tumore. Quindi l'individuo non verrà sottoposto a quei programmi di sorveglianza ai quali i membri della sua famiglia che portano la mutazione sono sottoposti. La più comune reazione è rappresentata da un senso di sollievo. Paradossalmente, alcuni soggetti avvertono un senso di colpa nell'apprendere che sono "sfuggiti" alla sorte e che non hanno ereditato il "gene cattivo". Alcuni avvertono ancora ansietà a dispetto del fatto che sono a rischio normale di tumore, e spesso sono riluttanti nel ridurre la sorveglianza.
- c) *Possibili reazioni a un risultato non informativo.* Il fallimento nell'identificare la mutazione in un caso indice e l'identificazione di una mutazione di incerto significato sono le principali limitazioni del test genetico. Entrambi i risultati sono non informativi. Questo può generare frustrazione o disappunto, perché il risultato del test non può essere di alcun aiuto. Un risultato come questo può causare confusione nel paziente, o ancora peggio, dare un falso senso di sicurezza. È comunque molto importante quindi insistere con il paziente che non si tratta di un vero risultato negativo, ma di un risultato non informativo. Un risultato non determinato conduce l'individuo a uno stato di ansietà circa il rischio di tumore e la sua gestione.

### 2.3.5 Risvolti etici, legali e sociali

Un certo numero di problemi etici, legali o sociali può scaturire in relazione alla consulenza genetica o dopo il test molecolare. La consulenza genetica per le sindromi tumorali ereditarie deve essere quindi ristretta a personale medico adeguatamente addestrato (medici o consulenti genetici), capace di far ben comprendere questi aspetti durante la consulenza pre-test in modo che il paziente possa prendere una decisione riguardo l'esame molecolare, anche tenendo conto di questi risvolti. È importante enfatizzare che il test genetico è molto più complesso rispetto ai normali test diagnostici. Questo perché, mentre i normali test diagnostici coinvolgono solo l'individuo interessato, il test genetico può avere implicazioni anche sugli altri membri della famiglia.

### 2.3.6 Il percorso di sorveglianza

Il percorso di sorveglianza e il programma di profilassi vengono affidati al Gruppo Multidisciplinare del Dipartimento Oncologico di competenza che dovrà operare secondo protocolli definiti in ambito regionale.

Presso l'AOTE di ciascuna Azienda USL viene gestito l'ambulatorio dedicato al follow-up dei pazienti e delle loro famiglie: a ogni individuo mutato o ad alto rischio familiare di malattia viene proposto un percorso personalizzato in base all'età ed alla anamnesi personale. I soggetti che si sono sottoposti al test possono rientrare in una delle seguenti tre categorie: a) portatore di mutazione; b) non portatore di mutazione appartenente a famiglie con mutazione identificata; c) non portatore di mutazione appartenente a famiglie con mutazione non identificata.

*Nel primo caso*, per ciascuna specifica tipologia tumorale vengono proposti adeguati protocolli di sorveglianza clinica e strumentale ed eventualmente consigliate strategie di chemioprevenzione e misure di chirurgia profilattica. Per esempio il celecoxib riduce i polipi adenomatosi nella FAP mentre la colectomia preventiva totale riduce il rischio di cancro coloretale sempre nella stessa patologia. Nei portatori di mutazione in BRCA1 e BRCA2 il rischio di tumore alla mammella e all'ovaio viene drasticamente ridotto dalla mastectomia e ovariectomia profilattica rispettivamente. L'offerta di protocolli di sorveglianza deve comunque essere in accordo con linee guida e raccomandazioni nazionali e internazionali o con programmi di ricerca approvati dai competenti organismi locali. Vantaggi, svantaggi e limiti dei mezzi di prevenzione (inclusi interventi di chirurgia profilattica) e diagnosi precoce devono essere chiaramente messi in evidenza. Allo stesso modo, la natura sperimentale di eventuali programmi di sorveglianza/prevenzione disponibili deve essere chiaramente comunicata, distinguendo i percorsi e le modalità di partecipazione rispetto alle opzioni cliniche ordinariamente contemplate, inclusa la sottoscrizione di un consenso informato.

*Nel secondo caso* non viene proposto nessuno screening specifico, avendo l'individuo un rischio uguale a quello della popolazione generale.

*Nel terzo caso* la persona rimane ad alto rischio e saranno consigliati protocolli opportuni.

Per i soggetti non eleggibili al test molecolare (moderato rischio) o che, pur essendo ad alto rischio, rifiutano di eseguire il test molecolare, viene proposto comunque un adeguato percorso di sorveglianza clinica e strumentale. Il servizio mantiene una continuità del rapporto con l'utente attraverso visite ambulatoriali periodiche per un aggiornamento dei dati clinici, anche in relazione alle possibili innovazioni tecnologiche in ambito molecolare.

### 2.3.7 Informazione e formazione

Il Gruppo di coordinamento regionale dell'ITT cura la redazione dei documenti necessari allo svolgimento del servizio. Tali documenti risulteranno utili sia per informare il cittadino (opuscolo informativo/miniquestionario) che per aiutarlo in una più rigorosa ricostruzione della storia familiare (questionario per la ricostruzione dell'albero genealogico). Altri documenti prodotti, quali i percorsi di sorveglianza e profilassi e il consenso informato, forniranno linee guida agli specialisti del programma.

Il Gruppo di coordinamento regionale dell'ITT propone indirizzi formativi per il personale coinvolto: Genetisti Medici, Infermieri Specializzati, Medici Specialisti nel Settore Oncologico e Psicologi. In particolare, tutto il personale coinvolto deve ricevere un'adeguata preparazione al rapporto con il cittadino interessato, con particolare attenzione ai risvolti psicologici.

### 2.3.8 Il Registro per i Tumori Eredo-Familiari (ReTE)

L'organizzazione del Registro, che sarà gestito in collaborazione con i tre registri di AV, è affidata al CSPO, sede del Registro Regionale dei Tumori, coordinato dall'ITT.

Parte integrante di ReTE sarà anche il Registro del *Consorzio Italiano per i Tumori Ereditari della Mammella e dell'Ovaio*, che ha sede presso l'AOU Pisana.

Nel Registro verrà archiviata l'informazione sulla storia personale e familiare di cancro di ogni individuo. Il database in cui viene archiviata tale informazione costituisce l'archivio centrale che consente di mantenere l'integrità referenziale di tutti i database del Programma.

La verifica dell'eventuale già avvenuta segnalazione di un dato individuo è quindi automatica; tale verifica, da attuare anche mediante l'incrocio dei dati con gli eventuali Registri Tumori esistenti, è compito del Registro.

I dati presenti nel registro possono essere utilizzati per studi di epidemiologia genetica su larga scala che forniscono preziose informazioni per la valutazione del rischio di malattia dei soggetti con tumori eredo-familiari. Sono essenziali per lo sviluppo e il mantenimento del registro le seguenti procedure:

- a) *incrocio informazioni demografiche*: l'incrocio con i dati dei registri comunali (verifica della residenza, certificati di morte) verrà attuato periodicamente;
- b) *inserimento dati molecolari*: l'inserimento dei risultati dei test genetici e molecolari nel database del Servizio non pone particolari problemi informatici e viene attuato appena le analisi vengono rese disponibili dal Settore Molecolare di tutte e tre le AV;
- c) *inserimento dati del follow-up clinico*: i soggetti reclutati a specifici programmi di follow-up clinico verranno richiamati a scadenze prefissate dal Settore Genetico e verrà loro chiesto di portare la documentazione medica relativa a esami e interventi eventualmente eseguiti nel corso del tempo. Tale documentazione verrà archiviata e inserita nel database relazionale. Questo viene quindi a costruirsi nel tempo come un database dinamico in fase di continuo aggiornamento;
- d) *confidenzialità dei dati*: i dati inseriti nel database del Servizio, a norma del comma 1 art. 17 D.L. n. 135 dell'11 maggio 1999, in quanto configurano un "registro di patologia", non sono soggetti alle restrizioni di cui alla Legge 675/96 sulla confidenzialità dei dati e tutto il personale addetto alla rilevazione e all'elaborazione dei dati stessi è soggetto al vincolo del segreto professionale. Le misure attuate per salvaguardare la confidenzialità nella registrazione dei casi di cancro mirano ad assicurare: l'anonimato delle informazioni elaborate; la migliore qualità possibile dei dati; il miglior uso possibile dei dati per la ricerca scientifica. Il Servizio tutela il rispetto della privacy di ogni paziente sia nella fase di raccolta, sia nella fase di codifica e archiviazione dei dati. In generale, l'utilizzazione a fini di studio e di ricerca dei dati del Servizio è autorizzata dalla Direzione, dopo aver esaminato il protocollo dello studio e sotto il vincolo della riservatezza e del segreto professionale.

## 2.4 BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

1. Billings PR, Kohn MA, de Cuevas M, et al: *Discrimination as a consequence of genetic testing*. Am J Hum Genet 1992; 50: 476-82.
2. Bonadona V, Saltel P, Desseigne F, et al: *Cancer patients who experienced diagnostic genetic testing for cancer susceptibility: reactions and behavior after the disclosure of a positive test result*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2002; 11: 97-104.
3. Botkin JR, Smith KR, Croyle RT, et al: *Genetic testing for a BRCA1 mutation: prophylactic surgery and screening behavior in women 2 years post testing*. Am J Med Genet 2003; 118A: 201-209.
4. Carter CL, Hailey BJ: *Psychological issues in genetic testing for breast cancer*. Women Health 1999; 28: 73-91.
5. Evans G: *Inherited predisposition to cancer*. In: *Nature cancer handbook*. Nature Publishing Group, 2002; 36-48.
6. Grann VR, Jacobson JS, Thomason D, et al: *Effect of prevention strategies on survival and quality-adjusted survival of women with BRCA1/2 mutations: an updated decision analysis*. J Clin Oncol 2002; 20: 2520-9.

7. Lerman C, Marshall J, Audrain J, Gomez-Caminero A: *Genetic testing for colon cancer susceptibility: anticipated reactions of patients and challenges to providers*. Int J Cancer 1996; 69: 58-61.
8. Lindor NM, Greene MH and the Mayo Familial Cancer Program: *The concise handbook of family cancer syndromes*. J Natl Cancer Inst 1998; 90: 14.
9. Lynch HT, Lemon SJ, Durham C, et al: *A descriptive study of BRCA1 testing and reactions to disclosure of test results*. Cancer 1997; 79: 2219-28.
10. Lynch HT, Smyrk T, Lynch J, Lanspa S, McGinn T, Cavalieri RJ: *Genetic counselling in an extended attenuated familial adenomatous polyposis kindred*. Am J Gastroenterol 1996; 91: 455-9.
11. Rebbeck TR, Lynch HT, Neuhausen SL, et al: *Prophylactic oophorectomy in carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations*. N Engl J Med 2002; 346: 1616-22.
12. Stanley AJ, Gaff CL, Aittomaki AK, et al: *Value of predictive genetic testing in management of hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC)*. Med J Aust 2000; 172: 313-6.
13. Syngal S, Fox EA, Li C, et al: *Interpretation of genetic test results for hereditary nonpolyposis colorectal cancer: implications for clinical predisposition testing*. JAMA 1999; 282: 247-53.
14. Syngal S, Weeks JC, Schrag D, et al: *Benefits of colonoscopic surveillance and prophylactic colectomy in patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer mutations*. Ann Intern Med 1998; 129: 787-96.

La bibliografia completa è disponibile sul sito ITT.

