

NETWORK NAZIONALE ITALIANO TUMORI EREDO-FAMIGLIARI (InTEF)

Paolo Radice (a), Liliana Varesco (b), Franca Podo (c), Margherita Bignami (d)

(a) *Struttura semplice Suscettibilità genetica al Cancro, Fondazione IRCCS Istituto Nazionale Tumori, Milano*

(b) *Struttura semplice Centro Tumori Ereditari, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova*

(c) *Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(d) *Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Riassunto del Progetto

Viene stimato che circa il 5-10% di tutti i tumori siano riconducibili ad una predisposizione di tipo ereditario, che conferisce un aumentato rischio di cancro. Per questa ragione, tali neoplasie vengono definite, seppure impropriamente, con il termine di ‘tumori eredo-famigliari’ (TEF). In una frazione di casi tale predisposizione è dovuta alla presenza di mutazioni costitutive in geni specifici noti, che possono essere identificate mediante analisi molecolari (test genetici). Gli individui con predisposizione ereditaria al cancro costituiscono un particolare sottogruppo di soggetti che necessitano di specifici programmi di sorveglianza, prevenzione e cura.

Obiettivo principale del progetto è quello di creare una rete italiana di centri che si occupano di TEF, denominata ‘Italian Network TEF’ (InTEF), che abbia come finalità:

- favorire l’integrazione delle attività di ricerca ed assistenziali dei centri che in Italia si occupano della tematica in oggetto, attraverso la realizzazione di strumenti informativi condivisi per la implementazione delle attività inerenti la consulenza genetica oncologica (CGO), la diagnostica molecolare (test genetici) ed i programmi di prevenzione primaria e secondaria;
- realizzare uno strumento operativo da mettere a disposizione dei Servizi Sanitari Nazionale e Regionali (SSN e SSR) per orientare le strutture sanitarie nella gestione dei soggetti con patologie neoplastiche a probabile o sospetta origine ereditaria e dei loro collaterali;
- promuovere la partecipazione dei centri partecipanti a consorzi collaborativi internazionali con particolare riferimento a quelli su scala europea;
- favorire la partecipazione dei membri aderenti ad InTEF al progetto di realizzazione di una banca italiana di campioni di materiale biologico in linea con la le linee guida di TRANSFOG.

Con riferimento ai programmi di sorveglianza mediante *imaging*, particolare attenzione verrà inoltre dedicata all’integrazione di una rete di centri con documentata esperienza nello *screening* senologico con mammografia, ecografia e risonanza magnetica a contrasto dinamico nelle donne ad alto rischio ereditario di tumore mammario.

Obiettivi secondari sono rappresentati da:

- il censimento della situazione operativa dei centri italiani che si occupano di TEF, con particolare riferimento a quelli del colon-retto e della mammella/ovaio, in ambito assistenziale e di ricerca;
- la produzione di documenti di riferimento per la stesura di *Standard Operating Procedures* (SOP);

- il collegamento con altre reti di ACC;
- il sostegno ad alcuni progetti di ricerca clinica su base nazionale.

Il progetto è suddiviso in due *workpackages* (WP), corrispondenti a due ambiti distinti di interesse (ricerca ed assistenza) e si articola su quattro aree di coordinamento relative ai seguenti settori: 1) consulenza genetica oncologica (CGO); 2) test genetici; 3) saggi funzionali; 4) programmi di sorveglianza.

Il WP1 riguarderà la ricognizione delle necessità in termini di strumenti operativi a supporto dei progetti di ricerca (di base, traslazionale e clinica) nell'ambito dei TEF e sarà finalizzato alla realizzazione di risorse condivise che consentano ai ricercatori italiani di promuovere questo tipo di studi e di parteciparvi attivamente.

Il WP2 verterà sull'analisi delle problematiche connesse con i TEF in un'ottica puramente assistenziale e sarà finalizzato alla realizzazione di strumenti informativi che consentano ai responsabili di servizi sanitari di programmare e realizzare azioni volte all'introduzione dei nuovi approcci diagnostici secondo elevati standard di qualità e sulla base dell'analisi delle priorità e delle risorse.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Di seguito vengono descritte le principali attività in cui il progetto si è articolato nel corso del terzo anno di attuazione:

– Area Consulenza Genetica Oncologica (CGO)

L'indagine conoscitiva (INTEFquery1) promossa nel 2008-2009 per individuare e confrontare le attività sui TEF presenti presso le strutture di Genetica Clinica e di Oncologia Medica italiane ha permesso la creazione di una prima versione della mappa italiana di Rete dei centri di CGO consultabile per regione sul sito del progetto (<http://www.iss.it/itef/chis/index.php?lang=1&tipo=2&area=1>), nell'area liberamente accessibile ed utilizzabile quindi come strumento operativo conoscitivo. Tra i risultati di quest'indagine di particolare interesse sono i dati relativi alle modalità di accesso ai test genetici diagnostici/sul probando: nella maggior parte delle strutture l'accesso è strettamente vincolato alla presenza di una probabilità di mutazione superiore ad un dato valore soglia, è sottoposto alla valutazione indipendente del laboratorio e dipende dalla disponibilità di un affetto vivente. Allo scopo di approfondire questi aspetti, nel 2009 è stato preso come modello il tumore ereditario mammella/ovaio e si è promosso nell'ambito della Rete uno studio di confronto del valore predittivo di diversi strumenti di valutazione della probabilità di mutazione dei geni BRCA (BOADICEA, BRCAPRO, criteri tabellari). Sulla base della manifestazione d'interesse per l'iniziativa da parte di 28 centri di Consulenza Genetica Oncologica (CGO), si è proceduto alla stesura di un protocollo che è stato discusso collegialmente in due distinte riunioni. È quindi partita una fase preliminare di raccolta dati volta ad individuare problemi relativi all'uso dei modelli BOADICEA e BRCAPRO secondo le modalità condivise. Successivamente alla verifica dei problemi riportati da alcuni partecipanti, la versione finale del protocollo è stata redatta e resa disponibile sul sito del progetto nella sezione "Iniziative di Rete" (<http://www.iss.it/itef/rete/index.php?lang=1&tipo=29&anno=2010>).

Al 31/11/2009 sono pervenuti i dati di 14 centri per un totale di 849 casi di cui 683 eleggibili nello studio; ulteriori 4 centri hanno chiesto di prolungare al 31/12/2010 la scadenza della raccolta dati per poter partecipare allo studio.

Indagine conoscitiva sui laboratori che effettuano test per la ricerca di mutazioni nei geni di predisposizione al cancro.

È stata portata a termine la prima analisi conoscitiva dei laboratori che in Italia offrono test genetici nelle forme di predisposizione ereditaria al cancro (INTEFquerylab1). In totale, 43 laboratori hanno compilato e ri-inviato il questionario, con una *compliance* di circa il 51%. È stata osservata una notevole disomogeneità per quanto riguarda: a) la distribuzione dei laboratori, con la maggior parte dei centri localizzata nell'Italia settentrionale e centrale (rispettivamente 20 e 17, a fronte di solo 6 laboratori nelle regioni meridionali ed insulari); b) il numero di prestazioni erogate per test sia sui probandi (*range* 2-483; media 62) che sui collaterali (*range* 2-230, media 35) e c) la tipologia dei test eseguiti, con solo il 38% dei laboratori che esegue test su ≥ 6 geni, contro il 31%, che analizza non più di 2 geni.

È in corso di elaborazione il questionario per la seconda analisi conoscitiva, finalizzata alla raccolta delle informazioni sulle modalità operative e sulla struttura organizzativa dei laboratori.

– *Attività del sito web*

Le funzioni del sito web inTEF (<http://www.iss.it/itef>), inizialmente dedicato principalmente alla descrizione del *network* ed arricchito dalla pubblicazione di contenuti nelle aree dedicate ai saggi funzionali (riguardanti le mutazioni nel gene *MUTYH*), e CGO (linee-guida e referenze relative ai centri di riferimento della rete) sono state implementate mediante la creazione di un nuovo campo “Iniziative di rete” nel quale vengono rese pubbliche e disponibili per i partecipanti al network proposte ed attività avviate dai singoli centri ma di interesse comune. Questa modifica è stata apportata per soddisfare la necessità ormai sentita dai rappresentanti dei centri partecipanti al network di rendere il sito web operativo nel favorire le interazioni all'interno di inTEF.

Sono state infine raccolte ulteriori informazioni relative a varianti del gene *MUTYH* rese disponibili da alcune delle UO inTEF, attualmente in corso di inserimento nel *database online* relativo alle varianti italiane del gene raggiungibile dal sito ACC-inTEF. Il *database* è stato realizzato sulla struttura del *Leiden Open Variation Database* (LOVD) sviluppato e mantenuto al *Leiden University Medical Center* e contenente le informazioni già disponibili in letteratura e di pubblico accesso sulle mutazioni *MUTYH* a livello internazionale. Al momento inteso come una versione limitata all'ambito inTEF, il *database* contiene circa 180 varianti italiane ma sarà accessibile per l'inserimento di ulteriori varianti e la loro consultazione alle UO che partecipano al *database* stesso e ad altri centri esterni, quando autorizzati.

– *Sorveglianza di donne ad alto rischio genetico-familiare di tumore mammario*

Questo studio nazionale, di tipo osservazionale, prospettico e non randomizzato, coordinato presso l'ISS, è basato sull'uso integrato di consulenza genetica, visita senologica, mammografia, ecografia mammaria e imaging RM a contrasto dinamico (MRI), per la diagnosi precoce del carcinoma mammario in donne ad alto rischio genetico-familiare.

Obiettivi: a) armonizzare criteri di arruolamento per lo screening delle donne a rischio, percorsi diagnostici e metodi di raccolta, analisi statistica e valutazione dei dati, in base a protocolli concordati a livello nazionale; b) proporre un piano di prevenzione secondaria

delle donne a rischio di carcinoma mammario ereditario, mediante uso integrato di MRI e tecniche di imaging convenzionale.

Il progetto si basa sulle esperienze e i traguardi del precedente studio multicentrico ISS-HIBCRIT-1 (High Breast Cancer Risk Italian Study, 1998-2008) i cui risultati clinico-radiologici confluiscono nel presente progetto-pilota di sorveglianza (ISSIN-HIBCR, ora ridenominato HIBCRIT-2), garantendo la continuità e il potenziamento della robustezza statistica dell'intero studio italiano in questo campo.

Attività svolte nel presente progetto:

- Realizzazione di una Rete multicentrica nazionale ad oggi comprendente 8 IRCCS Oncologici, altri IRCCS, Aziende Ospedaliere, Policlinici e Istituti Universitari (per un totale di 32 Centri, 31 già autorizzati dal proprio CE);
- Realizzazione in ISS di una infrastruttura informatica dedicata, costituita da:
 - a) un database relazionale per la raccolta centralizzata in ISS dei dati di arruolamento e diagnostica multimodale delle donne reclutate dai centri aderenti alla Rete;
 - b) un repository per la raccolta anonimizzata delle immagini ottenute dagli esami radiologici eseguiti nei round diagnostici annuali;
 - c) un sito web ad accesso riservato ai centri partecipanti e al Ministero della Salute, Direzione Generale della Prevenzione Sanitaria, che rende disponibili tutti i documenti di uso interno alla Rete.
- Studio HIBCRIT-2 (interim report) - Da gennaio 2008 a dicembre 2009 la Rete ha arruolato 662 donne ad alto rischio di tumore mammario ereditario in 23 Centri. Di queste, 69.9% sono state reclutate per mutazione deleteria nei geni BRCA1, BRCA2 o TP53 e 30.1% sulla base della sola storia familiare. Sono stati effettuati 875 round diagnostici (1.43 round/donna-anno), nei quali sono stati sinora diagnosticati 29 casi di tumore (24 screen-detected e 5 cancro d'intervallo), con i seguenti valori di sensibilità delle diverse modalità di imaging: mammografia 54.2%; ecografia 39.3%; MRI 75.0%; mammografia ed ecografia 54.2%; mammografia e MRI 83.3%; ecografia e MRI 75.0%. I restanti indici di performance diagnostica saranno calcolabili quando sarà concluso, per tutti i centri, lo schema minimo di indagine multimodale (2 round + almeno 1 anno di follow-up).

Un rilevante aspetto dello studio HIBCRIT nel suo complesso (HIBCRIT1+HIBCRIT2), tuttora in corso di approfondimento, riguarda lo stato recettoriale per estrogeno (ER) e progesterone (PgR) e l'amplificazione di ErbB2/HER2 dei tumori invasivi diagnosticati nelle diverse classi di rischio. Dei 43 casi di tumori invasivi, 20/43 erano di tipo ER<10%, PgR<10% e HER2 0/1⁺. Il monitoraggio della storia clinica di queste pazienti, anche a confronto con i dati degli studi condotti in altri Paesi, rappresenterà una base rilevante per la definizione di protocolli di sorveglianza ottimizzati per fasce di rischio e di età.

- *Collegamento con altre reti collaborative nazionali ed internazionali.*

Il consorzio nazionale CONSIT TEAM (CONSORZIO Italiano per lo STUDIO dei Tumori Ereditari Alla Mammella), è stato allargato ad ulteriori due centri per totale di 10. Nel corso del 2010 sono stati raccolti 1364 campioni di DNA costitutivo di donne con mutazioni germinali nei geni *BRCA1* e *BRCA2*. Questi campioni sono stati inviati al *Cancer Genomic Laboratories* dell'Università Laval (Quebec, Canada) per le analisi di genotipizzazione previste nella decima fase analitica del CIMBA (*Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2*), che prevede la verifica dell'effetto di modificazione del rischio di cancro mammario nelle donne BRCA-positive di 25 varianti

polimorfe candidate. Gli stessi DNA sono inoltre stati inviati alla *Mayo Clinic* (Rochester, USA) ed al *Gemone Quebec* (Montreal, Canada) per l'esecuzione delle analisi previste nell'ambito del progetto iCOGS, in cui verrà analizzato, su un totale di 150.000 soggetti raccolti da vari consorzi internazionali, il ruolo nel rischio mammario, ovarico e prostatico di 200.000 varianti alleliche.

Inoltre è stato costituito il gruppo collaborativo CONSAMM (Consortio per lo studio degli alleli MMR e dei loro modificatori), per favorire la partecipazione dei centri italiani agli studi internazionali sul carcinoma ereditario del colon-retto, ed in particolare lo studio MOMA (*Modifiers Of Mmr Alleles*), coordinato da Malcolm Dunlop (Università di Edimburgo) e lo studio IMRC (*International Mismatch Repair Consortium*), per l'analisi della penetranza delle mutazioni associate alla Sindrome di Lynch e la caratterizzazione dei fattori in grado di modificare tale penetranza. Attualmente, 18 centri hanno aderito al gruppo collaborativo e si sta procedendo alla raccolta dei campioni biologici e delle relative informazioni clinico-patologiche.

Infine, nell'ottica di sviluppare strumenti operativi per la condivisione di risorse e materiale finalizzata al sostegno di progetti di ricerca nel settore dei tumori ereditari, tra le attività di rete previste per il prossimo anno verrà valutata la possibilità di realizzare dei collegamenti con le reti nazionali ed internazionali delle biobanche, per lo sviluppo di procedure per la tracciabilità dei campioni biologici dei soggetti con predisposizione ereditaria al cancro.

Articolazione del progetto

L'articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione del Network nazionale italiano Tumori Eredo- Familiari (inTEF)

Proponente (<i>Coodinatori della rete</i>)	Ente di appartenenza dell'Unità Operativa	Responsabile scientifico dell'Unità Operativa
INT (<i>Paolo Radice</i>) ISTGE (<i>Liliana Varesco</i>) ISS (<i>Franca Podo</i>) ISS (<i>Margherita Bignami</i>)	INT	Paolo Radice
	ISTGE	Liliana Varesco
	IEO	Bernardo Bonanni
	Humanitas	Alberto Malesci
	HSR	Maurizio Ferrari
	S. Matteo	Ombretta Luinetti
	IOV	Marco Montagna
	CRO	Alessandra Viel
	IOR	Luca Sangiorgi
	IRE	Vittoria Stigliano
	Pascale	Stefano Greggi
	ITB	Francesco Schittulli
	ISS	Margherita Bignami
	ISS	Franca Podo

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Antoniou AC, Beesley J, McGuffog L, Sinilnikova OM, Healey S, *et al.* Common breast cancer susceptibility alleles and the risk of breast cancer for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: implications for risk prediction. *Cancer Res* 2010;70:9742-54.
2. Antoniou AC, Wang X, Fredericksen ZS, McGuffog L, *et al.* A locus on 19p13 modifies risk of breast cancer in BRCA1 mutation carriers and is associated with hormone receptor-negative breast cancer in the general population. *Nat Genet* 2010;42:885-92.
3. Casorelli I, Pannellini T, De Luca G, Degan P, *et al.* The Mutyh base excision repair gene influences the inflammatory response in a mouse model of ulcerative colitis. *PLoS One* 2010;5:e12070.
4. Catucci I, Verderio P, Pizzamiglio S, Manoukian S, *et al.* The CASP8 rs3834129 polymorphism and breast cancer risk in BRCA1 mutation carriers. *Breast Cancer Res Treat* 2010, Jul 22 (online prima della stampa)
5. D'Agostino VG, *et al.* Functional analysis of MUTYH mutated proteins associated with familial adenomatous polyposis. *DNA Repair (Amst)* 2010;9:700-7.
6. Pastrello C, *et al.* Integrated analysis of unclassified variants in mismatch repair genes. *Genet Med* (in corso di stampa).
7. Podo F, Buydens LMC, Degani H, *et al.* Triple-negative breast cancer: Present challenges and new perspectives. *Mol Oncol* 2010;4:209-29.
8. Podo F, Santoro F, Sardanelli F. Lo studio nazionale multicentrico sull'alto rischio. *Attualità in Senologia* 2010;60:61-2.
9. Podo F, Sardanelli F. ACS Guideline for breast cancer screening with MRI: clarifications on the Italian Study. *CA Cancer J Clin* E-letter 21 June 2007.
10. Ramus S, *et al.* Genetic Variation at 9p22.2 and Ovarian Cancer Risk for BRCA1 and BRCA2 Mutation carriers. *JNCI* (in corso di stampa).
11. Sardanelli F, Carbonaro LA, Santoro F, Podo F. Sorveglianza RM nelle donne ad alto rischio di carcinoma mammario. In: A Ragozzino, ed., *Imaging RM nella Donna*, Idelson-Gnocchi, Napoli, 2010, pp 47-72.
12. Sardanelli F, Giuseppetti GM, Canavese G, *et al.* Indications for breast magnetic resonance imaging. Consensus document "Attualità in Senologia", Florence 2007. *Radiol Med* 2008;113:1085-95.
13. Sardanelli F, Podo F, D'Agnolo G, *et al.* Multicenter comparative modality surveillance of women at genetic-familial high risk of breast cancer using contrast-enhanced MR imaging, mammography, ultrasound, and clinical breast examination. Interim results. *Radiology* 2007;242:698-715.
14. Sardanelli F, Podo F, Santoro F, *et al.* Multicenter surveillance of women at high genetic breast cancer risk using mammography, ultrasonography, and contrast-enhanced magnetic resonance imaging (HIBCRIT-1 study). Final results. *Invest Radiol* 2011;46:94-105.
15. Sardanelli F, Podo F. Breast MR imaging in women at high-risk of breast cancer. Is something changing in early breast cancer detection? *European Radiology* 2007;17:873-887.
16. Sardanelli F, Podo F. Management of an inherited predisposition to breast cancer. *NEJM* 2007;357:1663.