

# La diagnostica molecolare applicata alla patologia oncologica

S. Martinotti<sup>ab</sup>, S. Ursi<sup>b</sup>, S. Matera<sup>ab</sup>, G. Vitullo<sup>b</sup>, E. Toniato<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Dipartimento di Oncologia e Neuroscienze; <sup>b</sup>Unità Operativa di Patologia Clinica, Ospedale Clinicizzato S.S. Annunziata, Università "G. d'Annunzio", Chieti

## Riassunto

I tumori, derivando dall'epitelio normale, sono caratterizzati dalla crescita anomala di cellule che alterano la loro regolazione omeostatica ed disregolano la loro attività trascrizionale. Da un punto di vista epidemiologico, tutti i carcinomi sono entità distinte indipendentemente dall'organo da cui derivano e mostrano un grado di incidenza clinica variabile tra individui ed individui con differenti *rate* di mortalità estremamente dipendente dal *grading* biologico del tumore stesso. Questa osservazione suggerisce che il processo di trasformazione neoplastica può avere diverse cause correlate. Nel 90% dei casi ogni tumore è preceduto da uno stato di displasia tessutale che trasforma una lesione benigna in una lesione cancerizzabile con conseguente rischio a breve di neoplasia e grado variabile di aggressività. Ad esempio i polipi nel tratto gastroenterico sono un classico esempio di lesione benigna che può sfociare nella tumorigenicità. Ovviamente da un punto di vista morfologico, così come è evidente nel colon, ogni neoplasia può avere una origine poliposica o marcatamente non poliposica (flat adenocarcinoma). Tuttavia l'etiopa-

togenesi del cancro ha elementi multifattoriali che si intrecciano a una comune base genetica. La base genetica della trasformazione neoplastica è stato sempre un corollario di difficile accettazione, sicuramente difficile da delineare come causa o "concausa" di neoplasia; tuttavia è evidente che la genetica coinvolge nei tumori il criterio di predisposizione biologica alla malattia e di riordinamento funzionale del genoma della cellula tumorale. Ovviamente lo stato genetico di un tumore o di una cellula trasformata può essere controllato con molti approcci molecolari diversi; l'insieme delle mutazioni che si accumulano in un menoma tumorale sono il segno dello sganciamento dell'omeostasi cellulare dalla stabilità genomica e l'insorgenza di un livello di vulnerabilità strutturale del DNA che è causa e nello stesso tempo limite del controllo biologico sul nuovo sistema tumorale. Tale vulnerabilità estesa nel menoma altera l'ordine dei geni umani e la loro integrità durante la progressione del ciclo cellulare influenzando l'ordine dell'organo all'interno del quale le cellule tumorali proliferano e invadono.

## Summary

### The molecular diagnosis applied to clinical oncology

Tumors deriving from normal epithelium are characterized by the anomalous growth of cells which disregulate their homeostatic program and expand their transcriptional activity. From an epidemiological point of view, all carcinomas are distinguished depending on stage and organ origin since all tumors show variable incidence and are correlated with different mortality on affected individuals. This assumption suggests that the process of neoplastic transformation can have correlated causes, but not completely identical, and different biological characteristics.

In 90% of the cases each tumor is preceded by a "so called" benign lesion, whose removal involves a clean reduction of the risk of neoplasia. The polyps in the gastro-

enteric tract, for example, are not anything else other than leaning mass of fabric inside the colon. If they have a wide base of plant they are defined sessile, otherwise they may proliferate inside the colon mucosa giving a peduncular shape that may transform into adenocarcinoma. The genetic basis of neoplastic transformation has always been a canonical remark of genome rearrangement inside the nuclear cell. The clear hallmark of neoplastic cells, that can be monitored with many different molecular approaches, is a widespread vulnerability in the tumoral genome that structurally reassembles the order of human genes and plunge mutations across the genome during progression on the cell cycle.

*Key-words:* tumors, predictive medicine, tumor suppressor genes.

## Genetica molecolare dei tumori

Il cancro è una malattia genetica in quanto esso può insorgere a causa di specifiche lesioni di geni che si accumulano progressivamente in una cellula, causandone un'espansione clonale che viene ad acquisire proprietà di crescita e di invasività sempre più deviate rispetto alla controparte normale. Le principali categorie di geni associati al cancro sono state denominate: *oncogeni*, la cui attivazione porta a una crescita cellulare incontrollata; *geni oncosoppressori*, la cui inattivazione porta alla mancanza di "freni" della crescita cellulare; e *geni della riparazione* del DNA, la cui inattività porta all'accumulo di mutazioni che possono interessare geni delle due precedenti classi<sup>1-5</sup>. In circa il 5-10% di tutti i tumori, l'alterazione genetica (che quasi sempre interessa un gene oncosoppressore o della riparazione del DNA) viene trasmessa alla prole. In questi casi si parla di tumori ereditari e un individuo che è portatore nel suo DNA costitutivo di tale mutazione avrà un maggior rischio di sviluppare un tumore rispetto alla popolazione generale. Questa situazione di ereditarietà del rischio e non della malattia è ciò che distingue il cancro, nella sua manifestazione ereditaria, dalle altre patologie ereditarie classiche in cui vige la diretta relazione "un gene/una malattia"<sup>6-8</sup>. È anche una caratteristica della medicina predittiva, che ha come soggetto non un paziente portatore di una patologia conclamata ma un individuo "malato di rischio". Va comunque sottolineato che non sempre chi è portatore di un'alterazione genetica di questo tipo sviluppa un tumore: la penetranza, cioè la frequenza di comparsa effettiva del fenotipo tumorale in una popolazione a rischio, è infatti controllata sia da fattori genetici trasmissibili che da fattori esterni in parte controllabili, e ciò ha una rilevanza importantissima nella prevenzione dell'insorgenza di alcuni tumori ereditari<sup>9,10</sup>.

Negli ultimi anni la cosiddetta "medicina predittiva" ha assunto sempre più importanza nel controllo della malattia tumorale. Ciò è stato reso possibile dai progressi della biologia molecolare che hanno evidenziato come la crescita cellulare incontrollata ed invasiva, principale caratteristica delle diverse patologie comunemente indicate con il nome di "cancro", sia sostanzialmente causata dall'accumulo di alterazioni nei geni all'interno delle cellule stesse.

In campo oncologico la medicina predittiva segue essenzialmente due direzioni:

- la prima è quella di individuare, tramite analisi del DNA, la presenza di alterazioni genetiche ereditarie (mutazioni costitutive), che predispongono i soggetti portatori di tali mutazioni allo sviluppo di tumori, o conferiscono loro un rischio di cancro superiore a quello medio della popolazione. Per questo motivo i tumori che insorgono in questi soggetti vengono solitamente definiti, seppure in maniera impropria, come "tumori ereditari";
- la seconda consiste nell'individuare marcatori genici tumorali che identificano specifici sottotipi tumorali o sono in grado di predire quale sarà l'andamento della malattia o la risposta ad una determinata terapia. E' possibile ottenere ciò, ad esempio, attraverso l'analisi dei profili di espressione genica, cioè delle diverse specie di RNA che vengono trascritte nelle cellule tumorali oppure analizzando le regioni cromosomiche delete o amplificate nel tessuto tumorale rispetto al tessuto normale.

Secondo un criterio di classificazione largamente accettato, le sindromi genico-oncologiche a predisposizione familiare possono essere suddivise in tre categorie:

- la prima include sindromi associate a geni la cui alterazione determina nel 100% dei casi il carattere patognomonico della malattia; pertanto questi test genetici rappresentano lo standard dell'applicazione diagnostico-clinica;
- la seconda categoria racchiude sindromi a patogenesi più complessa, ma in cui nella maggior parte dei casi l'alterazione di uno o più geni è di chiaro aiuto per la diagnosi di predisposizione e consente un calcolo abbastanza preciso del rischio di contrazione;
- la terza categoria include invece sindromi in cui l'analisi delle lesioni geniche è ancora nella fase di sperimentazione e il cui significato patogenetico è ancora incerto e non del tutto caratterizzato dal punto di vista clinico.

I casi clinici e le sindromi genico-oncologiche più importanti sono la sindrome di predisposizione del tumore dell'ovaio e della mammella, il carcinoma midollare della tiroide, l'HNPCC.

## Tumori a predisposizione familiare dell'ovaio e/o mammella

L'effetto degli estrogeni sulla regolazione genica è un campo di studio molto attivo data la sua importanza in campo oncologico. La rete di regolazione estrogenica costituisce così un esempio paradigmatico per la complessità funzionale del genoma. Nonostante gli enormi progressi tecnologici nell'analisi dell'espressione genica, la domanda concettualmente banale di come sia fatto un gene regolato dall'estrogeno è tuttora di difficile risposta. La difficoltà deriva appunto dalla complessità delle interazioni dei recettori dell'estrogeno con coattivatori e coespressori e con altri fattori di trascrizione e dalle competizioni con altri recettori nucleari per gli stessi cofattori. L'approccio della genomica funzionale in combinazione con altri metodi d'analisi di biologia molecolare classica stanno tuttavia illuminando la strada verso un modello della regolazione genica estrogeno-dipendente. Il tumore della mammella è una malattia molto composta, il cui decorso clinico può andare da una guarigione completa ad una rapida ripresa ed esito infausto. La variabilità clinica riflette la varietà delle alterazioni geniche presenti nei diversi tumori<sup>11,12</sup>. La caratterizzazione molecolare del singolo tumore, con l'utilizzo di metodi di esplorazione globale del genoma, quale per esempio il gene expression profiling con DNA microarrays, si sta rivelando uno strumento importante nella gestione clinica della malattia, perché permette di identificare da un lato le pazienti che necessitano di terapia adiuvante dopo l'intervento, ovvero i casi in cui la malattia è già disseminata, dall'altro quale tipo di terapia possa essere più proficua.

Queste scelte sono state fatte sino ad oggi sulla base di marcatori imperfetti, quali l'invasione linfonodale, l'amplificazione dell'oncogene ERBB2 e lo stato dei recettori degli ormoni steroidei (ER e PgR).

Nel caso di sindromi del cancro della mammella e/o dell'ovaio dobbiamo innanzitutto considerare che circa il 8-15 % di tutti i tumori sporadici mammella/ovaio sono a predisposizione familiare, ovvero esiste una base geni-

ca che influenza l'indice di probabilità della malattia. In particolare due geni, BRCA1 e BRCA2 sono stati individuati come hallmark genetico di predisposizione. BRCA1 e BRCA2 sono geni molto complessi, estesi per un'ampia parte di genomia e caratterizzati da una complessa proteina di più di 1800 aminoacidi. La struttura del polipeptide mima l'organizzazione di un fattore trascrizionale a valenza regolatoria sul DNA con ampie porzioni caratterizzate da protein-protein domain interaction<sup>13,14</sup>. In particolare queste due proteine conservano una regione denominata *Ring domain* nella parte amino-terminale e un *transactivation domain* nella parte carbossiterminale. Numerose sono le interazioni con proteine regolatorie dei meccanismi di riparazione del DNA come ATM, BARD1. Pertanto, si ritiene che la proteina sia necessaria per garantire l'integrità genomica dopo le fasi di duplicazione del DNA, intervenendo in un complesso enzimatico di controllo della riparazione della doppia elica chiamato BASC complex.

Nella sindrome del cancro della mammella o ovaio le persone predisposte nascono con una mutazione eterozigote dei due geni a carattere di dominanza per quanto riguarda il fenotipo di predisposizione tumorale, con aumento notevole della probabilità di insorgenza di malattia.

### Il carcinoma midollare della tiroide a predisposizione familiare

Il carcinoma midollare della tiroide (CMT) origina dalle cellule parafollicolari o cellule C della tiroide e rappresenta circa il 5-10% di tutti i carcinomi tiroidei. Le cellule C migrano durante la vita embrionale dalla cresta neurale alla ghiandola tiroidea, sono localizzate nello strato basale dei follicoli tiroidei e rappresentano l'1% delle cellule tiroidee. Le cellule C sono distribuite in tutta la ghiandola tiroidea ma sono più concentrate nella zona tra il terzo superiore e i due terzi inferiori dei lobi. Si distinguono dalle cellule dell'epitelio follicolare soprattutto per la capacità di secernere la *calcitonina* (CT), un piccolo peptide a singola catena costituito di 32 aminoacidi il cui gene è localizzato sul braccio corto del cromosoma 11. Nel sangue sono presenti varie forme di CT e la concentrazione normale di CT sierica è inferiore a 10 pg/ml. Livelli basali elevati di CT, oltre che nel CMT, si possono riscontrare in alcune condizioni fisiologiche (gravidanza, dopo esercizio fisico intenso, alcoolismo) e patologiche (insufficienza renale cronica, tiroidite cronica autoimmune, nel 15% dei pazienti con tumori neuroendocrini).

Il test di stimolo con pentagastrina è quello più utilizzato nella pratica clinica per stimolare la secrezione di CT e discriminare tra ipercalcitoninemie neoplastiche e non. Occasionalmente pazienti con iperplasia delle cellule C o con microcarcinoma midollare possono presentare valori di CT basali solo lievemente elevati ma che possono aumentare significativamente dopo stimolazione con pentagastrina.

Il CMT nella maggior parte dei casi si manifesta sotto forma sporadica (80%) o ereditaria (20%).

Circa il 4-5% di casi di CMT sporadico sono in realtà di tipo ereditario. Risulta quindi necessario anche nei casi apparentemente sporadici, eseguire lo screening genetico per individuare forme ereditarie erroneamente diagnosticate come sporadiche.

La forma ereditaria del CMT si trasmette con carattere

autosomico dominante a causa di una mutazione germinale del proto-oncogene RET codificante per un recettore tirosin-chinasi. Può manifestarsi clinicamente solo con la presenza di un CMT o nell'ambito di una sindrome endocrina multipla coinvolgente altre ghiandole (MEN 2).

Lo screening genetico permette di identificare i familiari di un soggetto affetto, portatori anch'essi del gene mutato ma inconsapevoli della loro malattia e destinati a sviluppare il carcinoma midollare della tiroide. In questi soggetti è quindi possibile intervenire precocemente con la terapia chirurgica tiroidea profilattica o precoce che consente, rispettivamente, la prevenzione della malattia o la guarigione se già manifesta in forma subclinica. Lo screening deve essere eseguito in tutti i familiari di primo grado di un soggetto affetto.

### Sindrome HNPCC

La sindrome HNPCC (Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer Syndrome, o Lynch Syndrome) è la più comune condizione ereditaria responsabile della suscettibilità a neoplasie del colon-retto e di altri organi. La sindrome, trasmessa con modalità autosomica dominante a penetranza incompleta, rende conto del 5% di tutte le neoplasie del grosso intestino ed è associata ad un aumentato rischio (90% nell'uomo, 70% nella donna) di sviluppare tumori del colon, dell'endometrio, dell'ovaio e altri tumori extra-colici. I parametri clinici che descrivono la sindrome HNPCC sono definiti dalle linee guida di Bethesda (1997; 2003) e dai più stringenti criteri di Amsterdam (1991;1998). La sindrome HNPCC è associata a mutazioni dei geni del Mismatch Repair (MMR), meccanismo multienzimatico deputato al mantenimento della stabilità dell'informazione genetica, che corregge i disappaiamenti di base e le anse di inserzione/delezione che si originano durante la replicazione del DNA. La perdita di funzionalità del MMR determina una diffusa instabilità genetica che predispone all'insorgenza del tumore<sup>15,16</sup>.

I geni del MMR che più frequentemente risultano mutati nelle famiglie HNPCC sono MLH1 (50%) e MSH2 (39%). Circa il 50% delle mutazioni a carico di questi geni sono di tipo missenso, di significato genetico spesso incerto, poiché non generano la sintesi di una proteina tronca ma determinano la sostituzione di un aminoacido con un altro, con caratteristiche chimico-fisiche diverse. Questa sostituzione può provocare un cambiamento nella conformazione della proteina, alterando la sua capacità di interagire con le altre componenti del MMR, determinando quindi la diminuzione o la compromissione della funzionalità dell'intero sistema di riparazione.

Riuscire a prevedere la patogenicità di una mutazione missenso riveste un'importanza clinica notevole, sia per il trattamento del paziente che per l'inserimento dei familiari portatori della mutazione in programmi di screening preventivo.

I parametri clinici e genetici in uso per caratterizzare la patogenicità di queste mutazioni spesso non si rivelano sufficienti per la diagnosi, ma è necessario integrare le informazioni con analisi di tipo biochimico-funzionale.

Scopo di questo studio è sviluppare un sistema di analisi per caratterizzare la patogenicità di mutazioni missenso dei geni MLH1 e MSH2.

## Tumori della mammella

Per quanto riguarda le applicazioni diagnostico-molecolari su DNA tumorale di varia provenienza, possiamo ricordare innanzitutto le applicazioni molecolari su tumori di carattere ematopoietico e su neoplasie solide.

Per prima cosa possiamo commentare:

1. le applicazioni molecolari per l'identificazione clonale dei principali linfomi, quali il Burkitt caratterizzato da traslocazioni cromosomiche che sempre coinvolgono il braccio lungo del cromosoma 8 che trasloca o verso il 14 (75% dei casi), o verso il 2 o 22 nella restante parte dei casi. Il cromosoma 8 si rompe in prossimità o all'interno del locus dell'oncogene c-myc che migrando verso cromosomi eterologhi viene attivato principalmente per effetto degli enhancer dei geni delle immunoglobuline che mappano in posizione 14, 2 o 22 a seconda dei vari isotipi. Il c-myc è un oncogene nucleare che codifica per un fattore trascrizionale necessario per il mantenimento in fase G1-S lungo il ciclo cellulare, è indotto dai fattori del siero, ha valenza proapoptotica in situazione cellulare di ipossia o di deplezione dei fattori serici. La sua disregolazione è pertanto ritenuta un fattore di induzione neoplastica se associato ad altri eventi quali la disregolazione dell'oncogene K-ras o l'infezione da virus erpetici quali l'EBV nelle forme endemiche africane di linfoma di Burkitt;

2. le applicazioni molecolari per la determinazione della clonalità dei linfomi tramite l'amplificazione PCR mediata di porzioni del gene per il T cell Receptor e la caratterizzazione di sottotipi quali il linfoma diffuso. In questo ultimo caso possiamo ricordare il ruolo di BCL-6 che muta e trasloca in numerosi casi di linfomi diffusi rappresentando pertanto un hallmark genetico della malattia. BCL-6 è un repressore trascrizionale che spegne le funzioni proapoptotiche di p53 in quanto è stato dimostrato che si lega al suo promotore e tale fatto sembra essere determinante per la maturazione della struttura genica del linfocita B durante il suo transito nel centro germinativo dei linfonodi. Tuttavia la sua espressione prolungata per effetto di eventi mutazionali o traslocativi provoca induzione neoplastica per effetto della sua funzione antiapoptotica e proliferativa.

Nei tumori solidi numerose sono le applicazioni per l'analisi molecolare. In particolare nel tumore del colon è stata da tempo identificata la sequela di eventi molecolari che portano all'induzione tumorale. Elementi critici sembrano essere, come lesioni primarie, le mutazioni dell'oncogene K-ras, del gene APC, di BRAF e di p53 quale elemento tardivo ma importante soprattutto per gli effetti della metastatizzazione.

Grande valenza diagnostica molecolare rappresenta oggi in corso di chemioterapia, l'analisi dell'oncogene K-ras per determinare il successo o l'insuccesso di una terapia basata sul cetuximab. Il cetuximab è un anticorpo monoclonale che blocca a livello recettoriale il signaling proliferativo che va ad attivare la proteina k-ras. k-ras è un enzima che interviene nella ciclo fosforilativo del GTP e che varia da una conformazione inattiva a una conformazione attiva. Per effetto della mutazione sul gene il k-ras è sempre attivo. Pertanto la terapia con cetuximab sarà inefficace per quei tumori che sono ras mutati in quanto il signaling è indipen-

dente dall'interazione recettoriale.

Utilizzando DNA microarrays, si possono analizzare i tessuti tumorali prelevati durante l'intervento chirurgico, conservati in azoto liquido, relativi a casistiche di cui il decorso clinico e la risposta alle terapie sono noti. In questo modo, dai dati relativi al livello di espressione dell'mRNA di migliaia di geni, viene ricercato l'insieme di geni che segrega con una particolare caratteristica clinica, per esempio la risposta ad una certa terapia, o la comparsa di recidiva a breve termine, etc. Un successivo affinamento di questa analisi può portare all'identificazione di poche decine di geni la cui espressione identifica in modo corretto una caratteristica clinica importante, cosa che permette in prospettiva l'applicazione di questo metodo su larga scala, con tecnologie meno costose e più accurate, quali la RT-PCR.

## Tumori dell'ovaio

Il tumore dell'ovaio si sviluppa soprattutto a livello delle cellule che rivestono la superficie esterna dell'organo. Vista la sua incidenza, ogni anno si registrano 190.000 nuovi casi nel mondo, 61.000 dei quali in Europa. L'obiettivo da raggiungere è quello di chiarire i meccanismi chiave che regolano il movimento cellulare. A tal fine, è stato messo a punto, da alcuni studiosi, un sistema chiamato "modello delle cellule del confine", che impiega cellule del moscerino della frutta (*Drosophila melanogaster*) e che ha permesso di identificare segnali regolatori specifici ai quali le cellule dell'ovaio rispondono.

Le cellule epiteliali migrano con una modalità che ricorda il processo migratorio delle cellule cancerose e questi spostamenti risultano estremamente coordinati, poiché rispondono a segnali extracellulari presenti nel microambiente circostante. Usando un modello sperimentale sono riusciti a identificare tre tipi di segnali:

- alcuni ormoni steroidei stabiliscono quando le cellule devono incominciare a muoversi;
- fattori di crescita (GF) indicano alle cellule la direzione giusta;
- composti chiamati citochine determinano quali cellule acquisiranno la capacità di spostarsi.

Da quanto detto emerge quanto sia importante la consulenza genetica che vuole essere d'aiuto nell'individuazione di situazioni di rischio genetico di tumore della mammella e/o dell'ovaio e nella programmazione delle eventuali misure di prevenzione. Per un corretto utilizzo delle nuove conoscenze genetico-molecolari nell'individuazione di situazioni di rischio genetico e nella programmazione di eventuali misure di prevenzione è necessario un processo a più tappe:

- raccolta della storia personale e familiare di tumore attraverso la compilazione dell'albero genealogico in cui vengono riportati età e stato di salute dei consanguinei conosciuti;
- verifica di alcuni dati clinici mediante recupero delle cartelle mediche per tutti i casi di tumore della famiglia per cui ciò risulti possibile;
- esecuzione del test genetico, nei casi in cui l'informazione da esso ricavabile sia utile per la scelta dei programmi di prevenzione.

Il **tumore della mammella** è frequente nelle popula-

zioni del mondo occidentale. Nella maggior parte dei casi viene diagnosticato in donne con più di 50 anni. In Italia interessa circa 1 donna su 11 entro i 70 anni.

Il **tumore dell'ovaio** è meno frequente. In Italia interessa circa 1 donna su 70 entro i 70 anni. Considerando l'insieme dei casi si possono distinguere:

- il tumore "sporadico": quando non ci sono elementi per sospettare che la malattia in quella persona sia collegata alla presenza di un fattore predisponente. Più dell'80% dei casi di tumore della mammella e dell'ovaio rientra in questa categoria. Oggi si considerano sporadici i tumori diagnosticati in donne che hanno più di 50 anni e senza parenti stretti (genitori, fratelli, figli) con tale malattia;
- il tumore "familiare": quando le persone affette della famiglia sono consanguinei in stretto legame di parentela tra di loro (genitori, fratelli, figli). Circa il 20% delle persone con tumore della mammella hanno un precedente caso in famiglia. Studi epidemiologici hanno dimostrato che avere un parente stretto con questo tumore aumenta di 2-3 volte il rischio di malattia. Ciò può essere dovuto sia alla presenza di un gene predisponente sia alla condivisione di fattori ambientali che, indipendentemente dalla presenza di geni predisponenti, può portare ad un maggior rischio di sviluppare la malattia in famiglia. Comunque, poiché il tumore della mammella è una malattia frequente dopo i 50 anni, la presenza di più casi diagnosticati in tale fascia d'età potrebbe essere dovuta, in alcune famiglie, unicamente al caso;
- il tumore "ereditario": solo una percentuale molto bassa (circa 3 su 100) di tumori della mammella e/o dell'ovaio viene oggi spiegata principalmente dalla presenza di un rischio genetico di natura ereditaria. In questi casi è presente una singola alterazione genetica ereditabile in grado di conferire un alto rischio di tumore anche in giovane età.

Individuare una situazione di rischio genetico significa poter discutere con i soggetti interessati le opzioni di prevenzione che oggi sono disponibili a fronte di una situazione di rischio di malattia aumentato rispetto alla popolazione generale e presente anche in età giovane. Inoltre, in alcuni casi, è possibile riconoscere chi non è geneticamente predisposto pur facendo parte di una famiglia in cui è presente una situazione di alto rischio genetico. Questo è possibile quando il test genetico identifica la mutazione genetica presente nei malati della famiglia.

Esistono tre diversi approcci alla prevenzione di questi tumori:

- a) l'utilizzo "intensivo" delle tecnologie diagnostiche disponibili (l'obiettivo è diagnosticare lesioni di dimensioni molto piccole);
  - b) l'utilizzo della chirurgia profilattica, cioè la rimozione del tessuto in assenza di malattia (l'obiettivo è ridurre il rischio che si sviluppi la malattia eradicando, per quanto possibile, il tessuto da cui essa può svilupparsi);
  - c) l'utilizzo di farmaci in grado di ridurre il rischio di malattia (l'obiettivo è quello di intervenire sui meccanismi molecolari coinvolti nello sviluppo della malattia clinicamente evidente in modo da bloccare/rallentare questi fenomeni).
- Ognuno di questi approcci presenta dei limiti e oggi non

esistono studi, condotti secondo metodi scientifici rigorosi, che ci permettano di dire quale sia il protocollo più efficiente per specifiche situazioni. Per questo la consulenza genetica non è solo un momento di informazione ma anche un punto di aiuto per capire quale percorso di prevenzione può risultare più adatto.

Alla luce di tutte le argomentazioni trattate, la genetica del cancro si pone oggi nella prospettiva di predire l'insorgenza di un tumore e permettere un protocollo clinico di prevenzione della patologia. In questo senso il test genetico è un'arma fondamentale per l'identificazione del fattore rischio. Tuttavia non tutte le sindromi si associano in maniera automatica a mutazioni su un singolo *locus* di facile interpretazione e diagnosi. Già nella sindrome di predisposizione al cancro della mammella e dell'ovaio, il coinvolgimento di vari geni sottintende una non completa penetranza ma la possibilità che altri geni o altre lesioni siano coinvolte nel meccanismo patogenetico della malattia. E' vero altresì che la stessa tecnologia molecolare potrebbe e può già offrire dei protocolli diagnostici più avanzati per lo screening routinario di lesioni su loci genici complessi. L'analisi e l'anamnesi attenta che rispondono a linee guida ormai ben sperimentate sono sicuramente il supporto migliore per una definitiva accettazione del test di predisposizione alla malattia oncologica e per l'utilizzo di tutti quegli screening di monitoraggio fondamentali in un programma di prevenzione.

## Bibliografia

1. Eeles RA, Ponder BAJ, Easton DF, Horwich A. Genetic predisposition to cancer. London: Chapman e Hall Medical; 1996.
2. Vermeulen L, Sprick MR, Kemper K, Stassi G, Medema JP. Cancer stem cells - old concepts, new insights. *Cell Death Differ* 2008; 15:947-58.
3. Peltomäki P, Vasen H. Mutations associated with HNPCC predisposition - Update of ICG-HNPCC/INSiGHT mutation database. *Dis Markers* 2004; 20:269-76.
4. Boland CR. Evaluation and management of Lynch syndrome. *Clin Adv Hematol Oncol* 2007; 5:851-73.
5. Stein JP, Grossfeld GD, Gisberg DA, Esrig D, Freeman JA, Figueroa AJ, et al. Prognostic markers in bladder cancer: a contemporary review of the literature. *The Journal of Urology* 1998; 160:645-59.
6. Yang W, Junop MS, Ban C, Obmolova G, Hsieh P. DNA mismatch repair: from structure to mechanism. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2000; 65:225-32.
7. Schofield MJ, Hsieh P. DNA mismatch repair: molecular mechanisms and biological function. *Annu Rev Microbiol* 2003; 57:579-608.
8. Young LC, Hays JB, Tron VA, Andrew SE. DNA mismatch repair proteins: potential guardians against genomic instability and tumorigenesis induced by ultraviolet photoproducts. *J Invest Dermatol* 2003; 121:435-40.
9. Sweasy JB. Fidelity mechanisms of DNA polymerase beta. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 2003; 73:137-69.
10. Reardon JT, Sancar A. Recognition and repair of the cyclobutane thymine dimer, a major cause of skin cancers, by the human excision nuclease. *Genes Dev* 2003; 17: 2539-51.
11. Greene CN, Jinks-Robertson S. Spontaneous frameshift mutation in *Saccharomyces cerevisiae*: accumulation during DNA replication and removal by proofreading and mismatch repair activities. *Genetics* 2001; 159:65-75.
12. Desai-Mehta A, Cerosaletti KM, Concannon P. Distinct func-

- tional domains of nibrin mediate Mre11 binding, focus formation, and nuclear localization. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 2184-91.
13. Jhanwar-Uniyal M. BRCA1 in cancer, cell cycle and genomic stability. *Front Biosci* 2003; 8: s1107-17.
  14. Wang Y, Cortez D, Yazdi P, Neff N, Elledge SJ, Qin J. BASC, a super complex of BRCA1-associated proteins involved in the recognition and repair of aberrant DNA structures. *Genes Dev*. 2000; 14:927-39.
  15. Peltomäki P, Vasen HF. Mutations predisposing to hereditary nonpolyposis colorectal cancer: database and results of a collaborative study. The international Collaborative Group on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer. *Gastroenterology* 1997; 113:1146-58.
  16. Kinzler KW, Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* 1996; 87:159-70.