

Carcinoma eredo familiare della mammella: Il parere degli esperti

A CURA DI M. GRECO* E M. GENNARO** PER CONTO DEL GRUPPO DI ESPERTI

Carcinoma familiare della mammella, quale consenso?

Il carcinoma eredo familiare della mammella, con le problematiche correlate, rappresenta uno dei temi più controversi e attuali del panorama senologico. Nuovi dati e segnalazioni alimentano di continuo le nostre conoscenze e il nostro approccio sta rapidamente mutando. In un campo come questo, dove gli studi clinici controllati e randomizzati sono di scarso aiuto, per ovvie difficoltà di attuazione, occorre agire con molta prudenza senza accettare un atteggiamento eccessivamente fatalista, ma senza farsi convincere da facili entusiasmi.

Dove l'EBM non fornisce risposte ai quesiti clinici, il buon senso diventa indispensabile e bisogna recuperare l'umiltà di confrontarsi. Se dal confronto emergono poi atteggiamenti e pareri dissimili, talora contrapposti, nasce l'esigenza di fare ordine nelle informazioni che a volte giungono confuse e sono causa di approcci scordinati e non condivisi. Abbiamo pensato che il modo più pragmatico di procedere fosse riunire un gruppo di persone, un gruppo di esperti in questo campo, il più possibile rappresentativo delle varie figure professionali coinvolte nella gestione di questa problematica, per cercare di individuare i punti sui quali esiste un accordo da riunire in un documento, che a sua volta possa ispirare linee guida dettagliate ancora clamorosamente assenti in ambito italiano, ma anche europeo e americano.

Ho pensato che il teatro ideale per presentare il "parere degli esperti" fosse il convegno Attualità in Senologia 2005. Quindi, con il comitato scientifico del congresso, abbiamo individuato varie personalità: il presidente della Società

Italiana di Senologia, il presidente della Società Italiana di Ginecologia Oncologica, il coordinatore del gruppo di lavoro Genetica Oncologica della Società Italiana di Genetica Umana, esponenti del Forum Italiano di Europa Donna e diversi altri colleghi ancora, altrettanto autorevoli, che si sono distinti per l'interesse e l'applicazione in questo campo. Ci siamo riuniti a Firenze il 22 e 23 maggio 2005 per un workshop.

Esposta e commentata la letteratura più rappresentativa disponibile, è stato dato mandato a Marco Greco di coordinare il dibattito per la stesura del documento. Dibattito che si è svolto attraverso un'intensa attività telematica durata mesi, ma con un epilogo molto favorevole e di promessa per un grande piano nazionale dedicato ai soggetti ad alto rischio. Ci rendiamo conto che questa proposta di consenso non sia conclusiva, che sia necessario stimolare la ricerca sulle tematiche ancora largamente incerte e accoglieremo volentieri proposte di modifica se ben motivate, ma riteniamo che questo lavoro possa essere comunque una buona base di lavoro per chi deve affrontare il problema nel proprio ambito assistenziale e di studio.

*Luigi Cataliotti
professore ordinario di Chirurgia Generale
all'Università di Firenze,
past president
della Società Italiana di Senologia*

*
Presidente Società
Italiana Senologia

**
Segretario Società
Italiana Senologia

valutazione del rischio, test genetico, anticipazione diagnostica e riduzione del rischio.

Proposta presentata al convegno Attualità in Senologia

Elenco esperti

Barbera Floriana	Milano	Manoukian Siranoush	Milano
Berrino Franco ¹	Milano	Martincich Laura	Torino
Bevilacqua Generoso ²	Pisa	Muraca Maria Grazia	Firenze
Biglia Nicoletta	Torino	Nava Maurizio	Milano
Bonanni Bernardo	Milano	Nosenzo Maria Antonietta	Milano
Brancato Beniamino	Firenze	Ottini Laura	Roma
Caligo Maria Adelaide	Pisa	Palli Domenico	Firenze
Canavese Giuseppe	Genova	Papi Laura	Firenze
Cataliotti Luigi	Firenze	Paradiso Angelo	Bari
Contegiacomo Alma	Napoli	Peissel Bernard	Milano
Conti Alberto Rudi	Milano	Podo Franca	Roma
Corcione Stefano	Ferrara	Ponzzone Riccardo	Torino
Cortesi Laura	Modena	Presciuttini Silvano	Pisa
Crotti Nadia T. ³	Genova	Radice Paolo	Milano
D'Andrea Emma	Padova	Raspagliesi Francesco	Milano
Decarli Adriano	Milano	Ricevuto Enrico	L'Aquila
Distante Vito	Firenze	Rosselli Del Turco Marco ⁵	Firenze
Federico Massimo	Modena	Sardanelli Francesco	Milano
Ferraris Cristina	Milano	Scaffidi Elena	Milano
Gennaro Massimiliano	Milano	Sera Francesco	Firenze
Genuardi Maurizio	Firenze	Simoncini Roberta	Firenze
Greco Marco ⁴	Milano	Sismondi Piero ⁶	Torino
Marchetti Paolo	L'Aquila	Terribile Daniela	Roma

¹ Coordinatore della sessione: "Valutazione del rischio".

² Coordinatore della sessione: "Il test genetico".

³ Coordinatrice della sessione: "Aspetti psicologici della consulenza genetica".

⁴ Coordinatore della sessione: "Cancer Family Clinic".

⁵ Coordinatore della sessione: "La sorveglianza diagnostica".

⁶ Coordinatore della sessione: "La riduzione del rischio".

● FORUM CARCINOMA EREDO FAMILIARE DELLA MAMMELLA

Introduzione

Il carcinoma mammario eredo familiare comprende i casi di aggregazione di carcinoma mammario e/o ovarico con due o più parenti di 1° grado affetti in una stessa famiglia. Le cause dell'aggregazione familiare possono essere:

- forme ereditarie propriamente dette (a oggi sono note esclusivamente forme di tipo autosomico dominante ad alta penetranza), implicate nel 5% circa dei casi di carcinoma mammario;
- forme multifattoriali.

Mutazioni patogenetiche nei geni principali di suscettibilità attualmente noti, BRCA1 e BRCA2, sono identificabili in circa il 50% dei casi di carcinoma mammario ereditario. Il rischio stimato per donne portatrici di mutazioni BRCA1 e 2 di sviluppare un carcinoma mammario nel corso della vita è del 60-80%; per il carcinoma ovarico tale rischio è del 40-60% in caso di mutazione di BRCA1 e si dimezza in caso di mutazione del gene BRCA2. Il carcinoma mammario ereditario ha alta probabilità d'insorgenza in età precoce e di presentarsi come forma bilaterale o multifocale / multicentrica e, nelle forme legate al gene BRCA1 come carcinoma duttale infiltrante poco differenziato, con alta attività proliferativa e recettori ormonali negativi. Il rischio di sviluppare un carcinoma mammario contralaterale per donne eterozigoti per mutazioni di BRCA1 e BRCA2 è superiore al 30%.

Valutazione del rischio

Nelle famiglie ad alta probabilità di mutazione si ritiene utile raccomandare il test per determinare l'eventuale mutazione genetica di BRCA1 e 2 allo scopo di identificare gli individui ad aumentato rischio genetico.

La definizione del rischio di essere portatori di una mutazione poggia su differenti sistemi di va-

lutazione. C'è accordo che i modelli mendeliani per stimare la probabilità di mutazione che utilizzano calcoli bayesiani (assumendo come probabilità a priori la frequenza degli alleli mutati nella popolazione, la loro penetranza e l'incidenza attesa nella popolazione generale) sono più affidabili dei sistemi empirici basati sul numero di casi nella famiglia e sull'età alla diagnosi. Sono necessari ulteriori esperienze e confronti per migliorare le stime di prevalenza e di penetranza nella popolazione italiana. I sistemi empirici possono però essere utilmente impiegati per selezionare le famiglie da inviare alla consulenza genetica.

Si concorda che l'indicazione all'esecuzione del test genetico è in linea di principio competenza del genetista medico e dovrebbe essere offerto alle donne affette quando il rischio stimato di essere portatrici di una mutazione germinale nei geni BRCA1 e 2 è almeno del 10%. Questa soglia corrisponde approssimativamente al riscontro di una mutazione ogni dieci test eseguiti. Una volta identificata la mutazione nella probanda affetta, il test dovrebbe altresì essere offerto alle donne della famiglia non affette quando il rischio stimato di avere ereditato la mutazione è superiore al 10%.

Nel caso che in una famiglia ad alta probabilità di mutazione (superiore al 50%) non siano disponibili donne affette si proporrà il test alla persona adulta asintomatica a più alta probabilità di mutazione.

Il test genetico

Per test genetico si intende lo studio molecolare di specifici geni, del loro prodotto o della loro funzione, nonché ogni altro tipo di indagine del Dna, dell'Rna o dei cromosomi finalizzata a individuare o a escludere mutazioni associate a patologie genetiche.

Nelle forme di predisposizione ereditaria a un tumore, il test genetico rappresenta un test di suscettibilità con la finalità di individuare genotipi che comportano un aumento del rischio di sviluppare il tumore considerato e ha una duplice valenza. In una prima fase, il test viene utilizzato per individuare e caratterizzare la mutazione responsabile della predisposizione osservata nella famiglia in analisi e, laddove possibile, viene generalmente eseguito nel soggetto affetto (caso indice) più giovane (*test diagnostico*). Successivamente, la mutazione ormai nota viene ricercata nei familiari del caso indice, sia affetti sia sani. In questi ultimi l'analisi ha valore di *test predittivo*.

Nelle famiglie con predisposizione al carcinoma della mammella e dell'ovaio, il test genetico viene proposto dal genetista quando la proba-

bilità a priori di essere portatori di una mutazione è almeno del 10%.

L'esame viene effettuato sul Dna prelevato da tessuto normale, in genere da linfociti del sangue circolante. Per la ricerca e l'identificazione delle mutazioni può essere utilizzato un metodo *indiretto* (*test di screening*) oppure un metodo *diretto*. Il primo rivela la presenza di una mutazione, ma non è in grado di identificarla, mentre il secondo rivela la presenza di una mutazione e contemporaneamente la identifica.

Nel caso dei geni BRCA1 e BRCA2, che sono caratterizzati da una elevata eterogeneità mutazionale, il test genetico comprende generalmente l'analisi di tutti gli esoni codificanti e delle regioni introniche immediatamente fiancheggiati. Tuttavia, la conoscenza di effetti fondatori (ovvero di mutazioni maggiormente frequenti in alcune popolazioni, come per esempio le mutazioni 1499insA e 5083del19 di BRCA1, rispettivamente nelle famiglie toscane e calabresi), può essere utile per indirizzare l'analisi.

I test genetici sono ormai considerati un elemento indispensabile per la corretta gestione clinica delle famiglie con evidenza di predisposizione ereditaria al cancro. Infatti, essi consentono di distinguere, all'interno di queste famiglie, i soggetti che sono portatori della mutazione responsabile di tale predisposizione dai non portatori, identificando con precisione gli individui che presentano un elevato rischio di cancro e coloro il cui rischio è paragonabile a quello della popolazione generale. In questo modo, i primi potranno essere avviati in maniera mirata a specifici programmi di sorveglianza, al fine di una diagnosi precoce, o di profilassi, mentre i secondi potranno essere esentati da tali programmi.

Il Servizio Sanitario Nazionale dovrebbe prendere a suo carico il test e i provvedimenti conseguenti alla sua positività.

Aspetti psicologici della consulenza genetica (CG)

La comunicazione del rischio provoca cambiamenti nell'individuo, a diversi livelli. Una comunicazione adeguata ha come obiettivo quello di portare il consultante a sentirsi partecipe del processo decisionale a tutti i livelli. Qualora venga riconosciuta la presenza di una predisposizione ereditaria al cancro, la CG deve aiutare il consultante a comprendere l'informazione relativa al rischio genetico per sé e i familiari.

Nell'identificare percorsi assistenziali della CG, si deve tenere conto del fatto che fattori di natura non medica potrebbero avere un ruolo rilevante

nelle decisioni assunte dopo la CG. La presenza dello psicologo all'interno dell'équipe multidisciplinare è utile per il paziente, ma anche per la supervisione interna ai membri dell'équipe, per la formazione del personale e per la gestione degli aspetti psicosociali del "rischio genetico" da parte delle figure professionali che prendono in carico la famiglia sul territorio (per esempio i medici di base).

Dal punto di vista psicologico, vengono toccati elementi fondamentali nell'equilibrio individuale per i quali può essere richiesta la presenza dello psicologo:

- ansia per i propri familiari e per il proprio futuro;
- sentimento d'identità personale;
- appartenenza familiare;
- difficoltà di progettare il proprio futuro e urgenza decisionale (tutti quei casi complessi in cui è necessario che il paziente prenda decisioni in merito alla scelta di avere figli, di sottoporsi a operazioni, eccetera).

È auspicabile la collaborazione con psicologi che abbiano maturato esperienza nella gestione di soggetti con malattie genetiche e/o tumorali.

La sorveglianza diagnostica

Le evidenze scientifiche sull'effetto della sorveglianza diagnostica intensiva nelle donne ad alto rischio sono ancora largamente insufficienti e quindi molte sono le incertezze su quale sia il protocollo diagnostico ottimale da offrire a queste donne; per esempio, allo stato attuale, non sembrano esistere metodiche o procedure efficaci e accettate per l'anticipazione diagnostica del carcinoma ovarico. Si deve comunque tenere conto che:

- in genere le donne ad alto rischio richiedono protocolli di sorveglianza intensiva;
- l'età di insorgenza del carcinoma mammario nelle donne ad alto rischio è spostata verso le classi più giovani;

- la maggiore incidenza determina l'accettabilità di interventi più costosi e che possono comportare disagi per le necessarie procedure diagnostiche e di approfondimento, e un maggior numero di "falsi positivi";

- il rischio da esposizione a radiazioni ionizzanti è maggiore nella popolazione più giovane e i soggetti portatori di mutazioni potrebbero avere anche una maggiore suscettibilità a causa di minori capacità di riparo dei danni indotti dalle radiazioni;
- studi pubblicati e in corso evidenziano nei soggetti ad alto rischio una maggiore sensibilità della risonanza magnetica (RM) con mezzo di contrasto paramagnetico rispetto alla mammografia, all'ecografia e alla visita clinica.

Pertanto si ritiene che:

- la sorveglianza clinica debba essere modulata in relazione al livello di rischio e dell'età;
- si deve incentivare lo studio di metodiche innovative per l'anticipazione diagnostica e il monitoraggio delle donne ad alto rischio.

Si propone il seguente protocollo diagnostico all'interno di servizi multidisciplinari organizzati per le donne ad alto rischio (*Ovarian-Breast Family Cancer Clinic*) e in ambito di studi che si impegnino a documentare i risultati della sorveglianza diagnostica, a confrontare i diversi metodi, ad assicurare il necessario follow-up clinico epidemiologico, e a contribuire a una base di dati comuni:

- *donne in età inferiore ai 35 anni (non prima dei 18 anni, a partire dai 25 anni o 10 anni prima dell'età di insorgenza del carcinoma mammario familiare più precoce): esame clinico ed ecografico ogni 6 mesi + RM ogni anno;*

- *donne in età compresa tra 35 e 50 anni: esame clinico ed ecografico ogni 6 mesi + RM e mammografia a basse dosi (dose ghiandolare media per mammella standard < 4mGy) ogni anno;*

- *donne in età superiore ai 50 anni: esame clinico ed ecografico ogni 6 mesi + RM e mammografia (dose ghiandolare media per mammella standard < 6,5mGy) ogni anno.*

Quando è indicata sia la mammografia sia la RM con cadenza annuale, queste possono essere sfasate di 6 mesi (alternativamente ogni 6 mesi la mammografia e ogni 6 la RM) o eseguite in unica sessione annuale a seconda delle esigenze logistiche o di specifici protocolli di ricerca e/o di raccolta dati in database nazionali o internazionali.

La riduzione del rischio

Il rischio non va considerato come una malattia, ma alla stessa stregua richiede misure e interventi di prevenzione per ridurre l'impatto. C'è la necessità di individuare un'età che può differenziare le strategie volte alla prevenzione secondaria o a quella primaria che sono da considerare strategie complementari anziché alternative. Per esempio, programmi di prevenzione secondaria e misure reversibili possono accompagnare la donna fino all'età riproduttiva per essere poi integrate o sostituite da interventi di prevenzione primaria. Anche se, tra le opzioni possibili, la chirurgia profilattica sulla mammella e sull'ovaio dà i migliori risultati, il rischio non si annulla (riduzione rispettivamente del 95 e 90%) e gli effetti devono essere rapportati con l'età.

Un'ovariectomia eseguita in una giovane, che ha effetto preventivo anche sulle neoplasie mammarie ormonoresponsive, oltre a compromettere la capacità riproduttiva, espone precocemente ai rischi e agli effetti della menopausa.

Al contrario, un'ovariectomia condotta in una donna in menopausa potrebbe avere un modesto effetto preventivo sul carcinoma mammario e limitare l'effetto preventivo sul carcinoma ovarico per selezione di una popolazione con rischio

cumulativo minore. Il miglior bilancio quoad vitam si otterrebbe con un'ovariectomia eseguita a 40 anni (oppure al termine dell'attività riproduttiva) associata alla mastectomia bilaterale e terapia ormonale sostitutiva fino a 50 anni di età. Per garantire la migliore efficacia in termini di riduzione del rischio tumorale, l'ablazione ovarica dovrebbe includere l'asportazione completa degli annessi, preferibilmente per via laparoscopica, per minimizzare l'impatto fisico ed emotivo.

Riguardo la terapia ormonale si deve tenere conto che l'utilizzo di una terapia ormonale nelle portatrici di mutazioni di BRCA1/2 sembra attenuare, ma non eliminare, l'effetto protettivo dell'ovariectomia profilattica sul rischio di carcinoma mammario. Inoltre, nella popolazione generale l'aumento di rischio della terapia sostitutiva combinata, attribuibile essenzialmente all'uso di progestinici sintetici, non sembra verificarsi con il progesterone naturale.

Nella popolazione generale l'impiego a lungo termine di contraccettivi orali è correlato con un modesto e transitorio aumento di rischio di carcinoma mammario che potrebbe essere più rilevante in caso di mutazione di BRCA1/2, anche in considerazione della minore età media di insorgenza della neoplasia. Al contrario, la maggior parte degli studi conferma l'effetto protettivo dei contraccettivi orali sul rischio di carcinoma ovarico anche fra le portatrici di mutazioni di BRCA1/2.

La farmacoprevenzione con tamoxifene o derivati non è, nelle premesse, efficace nei casi con mutazione BRCA1 (tumori prevalentemente non ormonodipendenti), sebbene i dati disponibili non consentano di trarre indicazioni conclusive. È da considerarsi proibibile nei casi BRCA2.

Nell'ambito di protocolli clinici chiari e condotti in centri accreditati, la mastectomia profilattica dovrebbe essere proposta come opzione alle por-

tatrici di mutazioni di BRCA1/2, mentre vi è un crescente accordo nel considerare raccomandabile l'ovariectomia profilattica. In assenza di mutazione accertata, entrambe le procedure sono invece da prendere in considerazione solo in casi selezionati.

Cancer Family Clinic

La multidisciplinarietà è un aspetto essenziale per una corretta assistenza alle donne ad alto rischio.

Non è indispensabile che una *Breast Unit* comprenda anche una *Cancer Family Clinic*, ma la *Breast Unit* deve seguire linee guida chiare e condivise nel trattamento delle donne a rischio familiare. L'applicazione di queste linee guida non può prescindere da un doveroso coinvolgimento dei medici di medicina generale ai quali è anche richiesta una partecipazione attiva nella selezione delle donne da avviare al counselling.

Il trattamento di un carcinoma mammario è influenzato dallo stato di mutation carrier, nel senso che ci deve essere consapevolezza di un maggior rischio di recidive locali e secondi tumori omolaterali dopo chirurgia conservativa, ai limiti della soglia indicata come accettabile dalle linee guida dell'EUSOMA (*European Society of Mastology*), e un alto rischio, superiore al 30%, di sviluppare successivamente un carcinoma controlaterale. Queste considerazioni possono condurre a indicazioni terapeutiche dissimili tra le donne portatrici di mutazione e la popolazione generale. Nel box a pagina 16 e 17 sono illustrate nel dettaglio le caratteristiche delle mutazioni e le analisi genetiche attualmente disponibili.

Bibliografia

1. The Breast Cancer Information Core Database (<http://research.nhgri.nih.gov/bic/>)
2. <http://www.governo.it/backoffice/allegati/22925-2077.pdf>

PER MARVI:

**non c'è spazio
per la bibliografia
nel box**

A CURA DI G. BEVILACQUA, M.A. CALIGIO, P. RADICE

Cenni di biologia

I geni BRCA1 e BRCA2 sono i principali geni noti responsabili della trasmissione ereditaria della suscettibilità allo sviluppo del carcinoma della mammella e dell'ovaio, il primo localizzato sul cromosoma 17 e il secondo sul 13. La formazione di una nuova famiglia a rischio si ha quando la mutazione di uno dei due geni, con modalità ancora non note, interessa il Dna delle cellule germinali, l'ovocita o lo spermatozoo. Il risultato è duplice: la mutazione viene a essere presente in tutte le cellule dell'organismo, somatiche e germinali, e viene trasmessa alla eventuale prole.

I geni BRCA appartengono alla categoria dei geni onco soppressori, per i quali il meccanismo patogenico ipotizzato è quello proposto dal modello dei due colpi di Knudson. Uno dei due alleli del gene coinvolto è già inattivo fin dalla nascita in tutte le cellule dell'individuo, mentre l'altro viene a esserlo nel corso della vita, in uno o più distretti somatici, in seguito a fattori mutageni verosimilmente ambientali. Non vi sono evidenze sperimentali per ritenere che nei geni BRCA la perdita strutturale o funzionale di uno solo degli alleli abbia effetti patogeni, in quanto la proteina prodotta dall'altro allele è normale e in quantità presumibilmente sufficiente per i normali processi fisiologici. Il processo di trasformazione in senso neoplastico viene attivato solo dopo la perdita del secondo allele, in seguito alla quale la proteina normale non è più presente. È chiaro, quindi, che ciò che viene ereditato è il rischio di sviluppare un carcinoma.

Alcune conseguenze del modello di Knudson sono di particolare rilievo sul piano epidemiologico. Rispetto ai tumori sporadici, infatti, quelli ereditari:

- insorgono spesso a età molto più precoci: per i tumori della mammella, per esempio durante la terza-quarta decade invece che nella quinta-sesta;
- possono essere bilaterali;
- possono essere multipli, cioè interessare organi diversi, come, per esempio, mammella e ovaio.

Le mutazioni dei geni BRCA possono essere *puntiformi* o consistere in *riarrangiamenti genomici*. Le prime sono causate da sostituzione di un solo nucleotide o da delezione / inserzione di uno o pochi nucleotidi. I secondi consistono in ampie delezioni o inserzioni di uno o più esoni o introni. Le mutazioni che hanno un effetto patogeno sulla corrispondente proteina possono essere così classificate:

1. mutazioni puntiformi

a. sostituzione di un solo nucleotide:

- mutazione *missenso*: sostituzione di un aminoacido con un altro, per cui la funzionalità della proteina è alterata;
- mutazione *nonsense*: si forma un codone di stop, per cui la proteina viene troncata a un certo punto;
- mutazione di *splicing*: vi è una alterata maturazione dell'mRna, per cui si perdono parti della proteina o se ne inseriscono di nuove.

b. delezione / inserimento di uno o pochi nucleotidi:

- mutazione *frameshift*: scivolamento del modulo di lettura, con conseguente formazione di un codone di stop;

2. riarrangiamenti genomici

- perdita o inserzione di estese porzioni genomiche, per cui la proteina risulta strutturalmente alterata.

Insieme delle mutazioni frameshift e non senso rappresenta circa l'80% di tutte le mutazioni patologiche identificate nei geni BRCA, quelle di *splicing* circa il 5-7%, le missenso circa il 3-5%, i riarrangiamenti genomici circa il 10%.

Accanto alle sopra elencate mutazioni, cui è possibile attribuire un chiaro effetto patogenico, nei geni BRCA sono state identificate numerose varianti nucleotidiche il cui significato risulta non definito. Tali varianti comprendono prevalentemente mutazioni missenso o piccole delezioni in-frame che determinano modificazioni aminoacidiche il cui effetto sulla funzionalità della proteina non è al momento conosciuto e costituiscono il 30% e il 40% circa delle alterazioni identificate a tutt'oggi, rispettivamente nei geni BRCA1 e BRCA2 (esclusi i polimorfismi frequenti) (1).

Esistono sostanzialmente due tipi di test genetici che vengono applicati per la ricerca di mutazioni nei geni BRCA. Il primo si basa sull'utilizzo di cosiddetti metodi indiretti o di screening, che identificano la presenza di alterazioni all'interno di un frammento di Dna, ma non sono in grado di definirne le caratteristiche.

I metodi indiretti più frequentemente impiegati sono:

- *protein truncation test*, Ptt, che serve per identificare la presenza di mutazioni troncanti la proteina, con una sensibilità di circa l'80%;
- *single strand conformation polymorphism*, Sscp, che evidenzia tutte le mutazioni puntiformi, con una sensibilità di circa il 70%;
- *denaturing high performance liquid chromatography*, Dhplc, che evidenzia tutte le mutazioni puntiformi, con una sensibilità di circa il 98%.

Il secondo è costituito dal sequenziamento diretto del Dna, che evidenzia e simultaneamente caratterizza qualsiasi tipo di mutazione puntiforme, con una sensibilità di circa il 100%.

Le procedure che vengono solitamente seguite sono le seguenti:

- *test diagnostico*: estrazione del Dna dai linfociti dell'individuo affetto più giovane della famiglia (quando disponibile), amplificazione con Pcr (*polymerase chain reaction*), identificazione della presenza della mutazione mediante Dhplc (o, se non disponibile, con Ptt o Sscp), caratterizzazione della mutazione mediante sequenziamento. Alternativamente, identificazione e caratterizzazione della mutazione direttamente mediante sequenziamento;
- *test predittivo*: estrazione del Dna dai linfociti dei familiari sani, amplificazione con Pcr, accertamento mediante sequenziamento della presenza / assenza della mutazione identificata nella fase precedente.

Gli esami molecolari con finalità diagnostica, utilizzando il termine nella sua accezione più generale, devono essere estremamente affidabili, devono poter essere eseguiti in tempi brevi e devono avere un costo non particolarmente elevato. Nel settore biomedico (e non solo), i laboratori di ricerca non sono idonei per questi scopi, in quanto per loro natura sono luoghi caratterizzati da una forte ideazione, da un alto numero di ricercatori, da tecnologia in genere non idonea agli scopi sopra indicati. Risulta pertanto opportuno che i test genetici vengano eseguiti all'interno di strutture, quali Servizi di Medicina di Laboratorio (SMEL) o Centri di Biotecnologie, che rispondano ai requisiti richiesti per questo tipo di attività. Tali requisiti sono stati recentemente definiti nel documento emanato dalla Conferenza Stato-Regioni in materia di linee guida per le attività di genetica medica (2). Ciò detto, è altresì altamente auspicabile che le suddette strutture mantengano uno stretto contatto con i laboratori di ricerca, in considerazione delle diverse problematiche ancora aperte in tema di suscettibilità ereditaria al cancro. Infatti, questo tipo di interazione risulta determinante nello stimolare lo sviluppo di nuove conoscenze che permettano di estendere l'applicazione dei test genetici, attualmente limitata alle sole famiglie in cui vengono identificate mutazioni a significato francamente patogenico, a strati sempre più ampi di popolazione.