

## OncoNext™ Risk - Breast

### Cos'è il tumore?

Il **tumore**, oggi, può essere considerato una patologia a componente genetica caratterizzata da una crescita cellulare incontrollata. Le cellule del nostro corpo ricevono dei segnali che indicano loro quando crescere e moltiplicarsi e quando tale crescita deve arrestarsi. Nel tumore tali cellule, a causa di alterazioni del proprio patrimonio genetico, non rispondono ai segnali di controllo e crescono e si moltiplicano irregolarmente diffondendosi in diverse parti del corpo.

L'evento che determina l'alterazione della funzione dei geni viene definito "**mutazione**". Quando un gene subisce una mutazione per varie cause (biologiche, chimiche, fisiche), le informazioni che arriveranno alla cellula saranno improprie per le funzioni a cui è deputata.

### I tumori sono ereditari?

Le neoplasie sono per lo più patologie multifattoriali alla cui insorgenza partecipano fattori di rischio di tipo costituzionale e ambientale. La maggior parte dei tumori sono cosiddetti "**sporadici**", cioè si manifestano nella popolazione generale senza che ci siano elementi che facciano sospettare la presenza di un chiaro fattore predisponente su base genetica. In questo genere di tumori, le **alterazioni del DNA (mutazioni)** si sviluppano casualmente a livello delle cellule somatiche, cioè quelle cellule che costituiscono ogni organo ed apparato del nostro organismo. Queste mutazioni si originano nel DNA di un ristretto gruppo di cellule e determineranno l'errore genetico che si perpetuerà nelle discendenti di quelle cellule, le quali accumulandosi in un determinato organo si sostituiranno inizialmente al tessuto sano per poi diffondersi in altri organi vicini o a distanza (metastasi).

Esistono però delle forme di tumore che possono essere definite "**familiari**", in quanto le persone affette della famiglia presentano fra di loro uno stretto legame di parentela. La familiarità costituisce, senz'altro, un importante fattore di rischio, per lo più dovuto alla condivisione di fattori di rischio ambientali comuni (abitudini di vita, dieta, inquinanti, etc.), senza che vi sia una specifica alterazione genetica predisponente alla malattia.

Solo una piccola, anche se significativa, percentuale dei tumori sono cosiddetti "**ereditari**". Oggi si stima che circa il **5-10% dei tumori al seno** abbiano una componente **ereditaria**. In questi tumori le mutazioni del DNA insorgono a livello delle cellule germinali o riproduttive e quindi potranno essere trasmesse alla progenie. L'individuo avrà alla nascita quel difetto genetico su uno o più geni in tutte le cellule dell'organismo, e sarà quindi predisposto a sviluppare una neoplasia quando, nel corso della vita, altre mutazioni si sommeranno a quella predisponente.

Ogni persona all'atto del suo concepimento, acquisisce due copie di ciascun gene, una copia viene trasmessa dal padre ed una dalla madre: eventuali

alterazioni geniche presenti nel patrimonio genetico dei genitori verranno pertanto trasmesse ai figli. Se uno dei genitori presenta una mutazione a livello di uno dei geni coinvolti nell'insorgenza di un determinato tumore (ereditario), **i figli possiedono il 50% di probabilità di ereditare quella mutazione**. Le persone che ereditano una mutazione germinale in questi geni nascono con una copia del gene mutata. Queste persone **non ereditano il tumore, ma solamente la predisposizione a sviluppare più facilmente quel tumore** rispetto alla popolazione generale.

### Il test OncoNext™ Risk Breast

**OncoNext™ Risk Breast** è un test diagnostico, sviluppato da GENOMA Group, che permette di eseguire un'analisi genetica multipla **per valutare la predisposizione allo sviluppo del tumore della mammella**. Il test, quindi, permette di identificare le pazienti a rischio di insorgenza della suddetta neoplasia attraverso l'analisi del loro DNA.

### Per chi è indicato il test OncoNext™ Risk Breast?

Il test di predisposizione genetica è indirizzato a quelle persone che ad una approfondita anamnesi familiare risultano con elevata e specifica incidenza di malattie neoplastiche nelle generazioni precedenti, e pertanto ad elevato rischio di essere portatori di mutazione germinale.

Si può sospettare una forma ereditaria di neoplasia quando in una famiglia vi sono:

- diversi soggetti affetti dallo stesso tipo di tumore o tumori correlati,
- soggetti affetti da tumori multipli,
- tumori insorti in età giovanile.

In particolare:

- Tumore al seno diagnosticato  $\leq 45$  anni (specialmente se diagnosticato  $\leq 35$  anni);
- Tumori mammari primari nella stessa paziente;
- Tumori al seno bilaterali;
- Tumori mammari in soggetti di sesso maschile (a qualsiasi età di insorgenza);
- Riscontro di casi di tumore ovarico in famiglia;
- Tumore mammario ed ovarico diagnosticato nella medesima paziente;
- Tre o più casi in famiglia di tumore alla mammella, tumore ovarico e/o pancreatico;
- Più membri della famiglia (sullo stesso lato) con tumore mammario o altri tipi di tumore.
- Comparsa in più componenti della famiglia appartenenti a diverse generazioni.
- Una mutazione nota in famiglia in uno dei geni associati alla predisposizione ai tumori mammari / ovarici.

Il genetista, con il consenso informato della persona, deciderà se è indicato procedere con il test diagnostico di mutazione del DNA.

### Quali sono i benefici del test OncoNext™ Risk Breast?

La possibilità di individuare i soggetti a rischio di sviluppare una neoplasia rappresenta oggi il miglior metodo per giungere ad una diagnosi precoce del tumore e quindi per ridurre la mortalità in tale patologia.

I membri di famiglie ad alto rischio ereditario, ed in particolare chi è stato interessato direttamente da una neoplasia, può richiedere una consulenza genetica e discutere con il genetista circa la propria situazione clinico-genetica. Tale valutazione potrà promuovere il test genetico per accertare se il paziente è portatore di una mutazione che predispone allo sviluppo di un tumore specifico. In caso di positività del test l'accertamento potrà essere esteso ai familiari del paziente, al fine di individuare i soggetti a rischio.

L'informazione ottenuta dal test genetico può apportare notevoli **benefici**, quali:

- L'identificazione dei membri di una famiglia che sono ad **alto rischio di sviluppare il tumore**;
- L'organizzazione di un adeguato **programma di controllo medico** riservato ai soggetti ad alto rischio, in maniera tale da facilitare la diagnosi precoce all'insorgenza del tumore;
- La conoscenza della possibilità di **trasmissione delle mutazioni geniche** alla progenie e l'individuazione dei soggetti figli, con mutazioni geniche germinali, ad alto rischio;
- La valutazione di eventuali indicazioni a terapie di **profilassi preventiva**.

### Come viene effettuato il test OncoNext™ Risk Breast?

Il test viene eseguito mediante il prelievo di un campione ematico. Tramite un'analisi complessa di laboratorio, il DNA viene isolato dalle cellule nucleate ed **amplificato mediante tecnica PCR**. Successivamente, attraverso un processo tecnologico avanzato di **sequenziamento massivo parallelo (MPS)**, che impiega tecniche di **Next Generation Sequencing (NGS)** utilizzando sequenziatori **ILLUMINA**, si sequenziano completamente, ad elevata profondità di lettura, **18 geni** (esoni e regioni introniche adiacenti,  $\pm 5$  nucleotidi) (Tabella 1) coinvolti nella maggior parte dei casi di predisposizione ereditaria allo sviluppo del tumore della mammella e del tumore ovarico:

**ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CHEK2, MRE11A, MUTYH, NBN, NF1, PALB2, PTEN, RAD50, RAD51C, RAD51D, SKT11, TP53.**

Le sequenze geniche ottenute vengono analizzate attraverso un'**avanzata analisi bioinformatica**, per determinare la presenza di eventuali mutazioni nei geni in esame.

## TUMORI MAMMARI EREDITARI

### Risultati ottenibili con il test OncoNext™ Risk Breast

**“POSITIVO” – Presenza di una o più mutazioni:** indica che il test ha rilevato una o più mutazioni a livello di uno (o più) geni responsabili della predisposizione ereditaria allo sviluppo del tumore della mammella, cioè presentano una copia del gene mutata. Il nostro genetista, in sede di consulenza genetica, spiegherà in maniera dettagliata il significato del risultato del test, fornendo una stima in termini probabilistici riguardo il rischio di sviluppare il tumore specifico, associato a quel tipo di mutazione riscontrata in un particolare gene.

Un risultato positivo non significa che il paziente a cui è stata riscontrata una mutazione svilupperà necessariamente il tumore, ma solamente che quel paziente ha una **predisposizione a sviluppare il tumore**, cioè possiede un **rischio maggiore** rispetto ad una persona che non presenta la specifica mutazione. Infatti, non tutte le persone che sono portatrici di mutazione sviluppano la patologia neoplastica; sebbene queste mutazioni aumentano notevolmente il rischio di insorgenza del tumore, questo non si sviluppa finché la copia normale del gene corrispondente non viene soggetta a mutazione nel corso della vita.

Poiché ciascuna persona eredita due copie dello stesso gene, deve incorrere un evento mutazionale in ciascuna copia per sopprimere la funzione di quel gene; l'acquisizione di una nuova mutazione può quindi provocare direttamente l'insorgenza del tumore. L'identificazione di una mutazione predisponente permette di stabilire un protocollo di controlli clinici ravvicinati e di valutare l'opportunità di interventi preventivi. Permette inoltre di estendere l'esame ad altri familiari a rischio che desiderino eseguirlo. In questi ultimi l'analisi ha valore di test predittivo, perché consente di distinguere, all'interno di queste famiglie, i soggetti portatori della mutazione dai non portatori, identificando con precisione gli individui che presentano un elevato rischio di tumore 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 indirizzati ai controlli previsti per la popolazione generale.

Le mutazioni riscontrabili tramite il test **OncoNext™ Risk Breast** possono rientrare nelle seguenti categorie prognostiche:

- **con significato patologico noto;**
- **con significato benigno** in quanto sono riscontrabili in individui normali e sono prive di significato patologico;
- **con significato incerto** in quanto non ancora note o caratterizzate dalla comunità medico-scientifica. In questo caso possono essere necessari ulteriori indagini per chiarire il significato della variante.

**“NEGATIVO” - Assenza di mutazioni:** indica che il test non ha rilevato la presenza di mutazioni nei geni esaminati. Tuttavia è importante sottolineare che un risultato negativo non significa che il paziente ha rischio zero di sviluppare un tumore; queste persone possiedono lo stesso rischio di tumore riportato per la popolazione

generale, ciò perché la maggior parte di questo genere di tumori si estrinseca in forma sporadica.

## STATISTICHE DI RISCHIO

### Tumori alla mammella

A seguito di approfonditi studi effettuati su famiglie a rischio, è stato accertato che le donne che possiedono mutazioni ereditarie a livello dei geni BRCA1 o BRCA2 rischiano di sviluppare un tumore alla mammella nell'**87%** dei casi, contro una probabilità del **10%** dei non portatori di mutazioni. Le mutazioni ereditarie a livello di tali geni determinano nelle donne un sensibile aumento del rischio di sviluppare un tumore al seno in età precoce (prima della menopausa), rappresentando quindi una caratteristica peculiare della suscettibilità ereditaria. Recenti studi hanno, infatti, dimostrato che più della metà delle donne portatrici di mutazioni a livello dei geni BRCA sviluppa un tumore al seno prima dei 50 anni, con un'età media di diagnosi del tumore di 41 anni.

### Tumori ovarici

Il rischio di sviluppare un tumore ovarico in caso di ricorrenza di mutazioni in uno dei due geni in questione è, invece, compreso tra il **44-60%**, rispetto all'**1%** di probabilità dei non portatori.

### Ricorrenze

Il test di suscettibilità genetica è molto utile anche per quelle donne che hanno già sviluppato un tumore alla mammella in quanto, se portatrici di mutazioni BRCA, sono ad alto rischio di sviluppare un nuovo tumore alla mammella o un tumore all'ovaio. Per esempio, è stato accertato che donne portatrici di mutazioni BRCA1 che hanno già avuto un tumore alla mammella, rischiano di sviluppare un nuovo tumore nel **64%** dei casi. Percentuali di rischio simili sono previste per il tumore ovarico.

## Rischio di insorgenza di altri tipi di tumore

Recenti studi hanno riportato che le mutazioni ereditarie dei geni BRCA1 o BRCA2 aumentano sensibilmente il rischio di tumori alla **prostata** nell'uomo e di tumori al colon in entrambi i sessi. Il rischio di tumore alla prostata è stato valutato essere **3-4 volte maggiore** rispetto alla popolazione generale nell'uomo portatore di mutazione BRCA, con un rischio cumulativo dell' **8%**, mentre il rischio del tumore al **colon** è stato valutato essere **4-5 volte superiore**, sia nelle donne che nell'uomo, con un rischio cumulativo del **6%**.

### Parametri utilizzati per la refertazione delle varianti genetiche

L'analisi è mirata esclusivamente ai geni elencati in Tabella 1. Verranno refertate solo le mutazioni classificate come a significato patogenetico noto o con significato incerto, sulla base dei dati della letteratura scientifica e la classificazione presente nel database di riferimento Human Gene Mutation Database (HGMD), aggiornato alla data del prelievo. Inoltre, seguendo le indicazioni dell'American College of Medical Genetics (ACMG), sono state considerate come patogenetiche o presunte patogenetiche solo le mutazioni con un valore di Minor Allele Frequency (MAF) <5% (1000 Genomes Project), riferibile come la frequenza di ricorrenza dell'allele meno comune all'interno della popolazione.

### Target Coverage

Si intende per *Target Coverage*, il numero medio di letture (*reads*) ottenute dal sequenziamento per ciascuna base nucleotidica costituente il gene. Le varianti con una profondità di lettura (numero di *reads*) inferiore a 30X non vengono evidenziate dall'algoritmo di analisi bioinformatica.

### Accuratezza del test OncoNext™ Risk Breast

Le tecniche attuali di sequenziamento del DNA producono risultati con un'accuratezza superiore al 99%. Benché questo test sia molto accurato bisogna sempre considerare i limiti dell'esame, di seguito descritti.

### Limiti del test OncoNext™ Risk Breast

Questo esame valuta solo i geni elencati in Tabella 1, e non è in grado di evidenziare:

- mutazioni localizzate nelle regioni introniche oltre  $\pm 5$  nucleotidi dai breakpoints;
- delezioni, inversioni o duplicazioni maggiori di 20 bp;
- mosaicismi della linea germinale (cioè mutazioni presenti solo nei gameti).

Un risultato "**NEGATIVO**" - **Assenza di mutazioni** per i geni investigati non esclude la possibilità di essere portatori di una mutazione localizzata in una regione del genoma non investigata dall'esame.

E' possibile che alcune zone del proprio DNA non possano essere sequenziate o che abbiano una copertura inferiore ai limiti fissati dagli esperti di GENOMA Group per garantire un'analisi accurata delle varianti. Queste regioni non saranno quindi comprese nell'analisi qualora non superino gli standard qualitativi richiesti.

In alcuni casi, il risultato di un'analisi genomica può rivelare una variante o mutazione del DNA con un significato clinico non certo o determinabile in base alle attuali conoscenze medico-scientifiche.

L'interpretazione delle varianti genetiche si basa sulle più recenti conoscenze disponibili al momento dell'analisi. Tale interpretazione potrebbe cambiare in futuro con l'acquisizione di nuove informazioni scientifiche e mediche sulla struttura del genoma ed influire sulla valutazione stessa delle varianti.

Alcune patologie possono essere causate o regolate da più di una variante nel suo DNA in uno o più geni. Alcune di queste varianti possono non essere ancora state identificate o validate dalla comunità scientifica e quindi non essere riportate come patogenetiche al momento dell'analisi.

Limite intrinseco della metodologia NGS utilizzata è la mancanza di uniformità di coverage per ciascuna regione genica analizzata. Tale limite si traduce nella possibilità, insita nelle metodiche NGS, che specifiche mutazioni dei geni selezionati potrebbero non essere state rilevate dal test.

## Riferimenti Bibliografici

1. National Cancer Institute. Cancer Stat Fact Sheets. [October 22, 2014] Available from: <http://seer.cancer.gov/>.
2. National Cancer Institute. [February 3, 2016] Available from: <http://www.cancer.gov/>.
3. Castera L, *et al.* Next-generation sequencing for the diagnosis of hereditary breast and ovarian cancer using genomic capture targeting multiple candidate genes. *Eur J Hum Genet.* 2014. 22(11):1305-13.
4. Walsh T, *et al.* Detection of inherited mutations for breast and ovarian cancer using genomic capture and massively parallel sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010. 107(28):12629-33.
5. van der Groep P, *et al.* Pathology of hereditary breast cancer. *Cell Oncol (Dordr).* 2011. 34(2):71-88.
6. Walsh T and MC King. Ten genes for inherited breast cancer. *Cancer Cell.* 2007. 11(2):103-5.
7. Meindl A, *et al.* Hereditary breast and ovarian cancer: new genes, new treatments, new concepts. *Dtsch Arztebl Int.* 2011. 108(19): 323-30.
8. Antoniou A, *et al.* Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. *Am J Hum Genet.* 2003. 72(5):117-30.
9. Chen S and Parmigiani G. Meta-analysis of BRCA1 and BRCA2 penetrance. *J Clin Oncol.* 2007. 25(11):1329-33.
10. Ford D, *et al.* Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet.* 1998. 62(3):676-89.
11. Loveday C, *et al.* Germline RAD51C mutations confer susceptibility to ovarian cancer. *Nat Genet.* 2012. 44(5):475-6: author reply 476.
12. Olivier M, *et al.* Li-Fraumeni and related syndromes: correlation between tumor type, family structure, and TP53 genotype. *Cancer Res.* 2003. 63(20):6643-50.
13. Renwick A, *et al.* ATM mutations that cause ataxia-telangiectasia are breast cancer susceptibility alleles. *Nat Genet.* 2006. 38(8):873-5.
14. Roberts NJ, *et al.* ATM mutations in patients with hereditary pancreatic cancer. *Cancer Discovery.* 2011. 2(1): OF1-OF6.
15. Janavicius R. Founder BRCA1/2 mutations in the Europe: implications for hereditary breast-ovarian cancer prevention and control. *EPMA J.* 2010. 1(3):397-412.
16. Ferla R, *et al.* Founder mutations in BRCA1 and BRCA2 genes. *Ann Oncol.* 2007. 18 Suppl 6: vi93-8.
17. Tulinius H, *et al.* The effect of a single BRCA2 mutation on cancer in Iceland. *J Med Genet.* 2002. 39(7): 457-62.
18. Tai YC, *et al.* Breast cancer risk among male BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst.* 2007. 99(23):1811-4.
19. Thompson D, *et al.* Breast Cancer Linkage. Cancer Incidence in BRCA1 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst.* 2002. 94(18): 358-65.
20. Folkins AK and Longacre TA. Hereditary gynaecological malignancies: advances in screening and treatment. *Histopathology.* 2013. 62(1): 2-30.
21. Shannon KM and Chittenden A. Genetic testing by cancer site: breast. *Cancer J.* 2012. 18(4):310-9.
22. Kote-Jarai Z, *et al.* BRCA2 is a moderate penetrance gene contributing to young-onset prostate cancer: implications for

- genetic testing in prostate cancer patients. *Br J Cancer*. 2011. 105(8): 230-4.
23. van Asperen, CJ, *et al.* Cancer risks in BRCA2 families: estimates for sites other than breast and ovary. *J Med Genet*. 2005. 42(9): 711-9.
24. Damiola F, *et al.* Rare key functional domain missense substitutions in MRE11A, RAD50, and NBN contribute to breast cancer susceptibility: results from a breast cancer family registry case-control mutation-screening study. *Breast Cancer Res*. 2014. 16(3): R58.
25. Pennington KP and Swisher EM. Hereditary ovarian cancer: beyond the usual suspects. *Gynecol Oncol*. 2012. 124(2): 347-53.
26. Seal S, *et al.* Truncating mutations in the Fanconi anemia J gene BRIP1 are low-penetrance breast cancer susceptibility alleles. *Nat Genet*. 2006. 38(11): 239-41.
27. Walsh T, *et al.* Mutations in 12 genes for inherited ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinoma identified by massively parallel sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011. 108(44): 8032-7.
28. Loveday C, *et al.* Germline mutations in RAD51D confer susceptibility to ovarian cancer. *Nat Genet*. 2011. 43(9): 879-82.
29. Meindl A, *et al.* Germline mutations in breast and ovarian cancer pedigrees establish RAD51C as a human cancer susceptibility gene. *Nat Genet*. 2010. 42(5): 410-4.
30. Bahassi EM, *et al.* The checkpoint kinases CHK1 and CHK2 regulate the functional associations between HBRCA2 and RAD51 in response to DNA damage. *Oncogene*. 2008. 27(28): 3977-85.
31. Cybulski C, *et al.* CHEK2 is a multiorgan cancer susceptibility gene. *Am J Hum Genet*. 2004. 75(6): 1131-5.
32. Walsh T, *et al.* Spectrum of mutations in BRCA1, BRCA2, CHEK2, and TP53 in families at high risk of breast cancer. *JAMA*. 2006. 295(12):1379-88.
33. Pharoah PD, *et al.* Incidence of gastric cancer and breast cancer in CDH1 (E-cadherin) mutation carriers from hereditary diffuse gastric cancer families. *Gastroenterology*. 2001. 121(6): 1348-53.
34. Guilford P, *et al.* Hereditary diffuse gastric cancer: translation of CDH1 germline mutations into clinical practice. *Gastric Cancer*. 2010. 13(1):1-10.
35. Jenkins MA, *et al.* Risk of colorectal cancer in monoallelic and biallelic carriers of MYH mutations: a population-based case-family study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006. 15(2): 312-4.
36. Win AK, *et al.* Cancer risks for monoallelic MUTYH mutation carriers with a family history of colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2011. 129(9): 2256-62.
37. Vogt S, *et al.* Expanded extracolonic tumor spectrum in MUTYH-associated polyposis. *Gastroenterology*. 2009. 137(6): 1976-85 e1-10.
38. Rennert G, *et al.* MUTYH mutation carriers have increased breast cancer risk. *Cancer*. 2012. 118(8): 1989-93.
39. Slater EP, *et al.* PALB2 mutations in European familial pancreatic cancer families. *Clin Genet*. 2010. 78(5): 490-4.
40. Casadei S, *et al.* Contribution of inherited mutations in the BRCA2-interacting protein PALB2 to familial breast cancer. *Cancer Res*. 2011. 71(6): 2222-9.
41. Antoniou AC, *et al.* Breast-cancer risk in families with mutations in PALB2. *N Engl J Med*. 2014. 371(6): 497-506.
42. Tischkowitz MD, *et al.* Analysis of the gene coding for the BRCA2-interacting protein PALB2 in familial and sporadic pancreatic cancer. *Gastroenterology*. 2009. 137(3): 1183-6.
43. Jones S, *et al.* Exomic sequencing identifies PALB2 as a pancreatic cancer susceptibility gene. *Science*. 2009. 324(5924): 217.
44. Eng C, Will the real Cowden syndrome please stand up: revised diagnostic criteria. *J Med Genet*. 2000. 37(11): 828-30.
45. Starink TM, *et al.* The Cowden syndrome: a clinical and genetic study in 21 patients. *Clin Genet*. 1986. 29(3): 222-33.
46. Heald B, *et al.* Frequent gastrointestinal polyps and colorectal adenocarcinomas in a prospective series of PTEN mutation carriers. *Gastroenterology*. 2010. 139(6):1927-33.
47. Tan MH, *et al.* Lifetime cancer risks in individuals with germline PTEN mutations. *Clin Cancer Res*. 2012. 18(2): 400-7.
48. Mester JL, *et al.* Papillary renal cell carcinoma is associated with PTEN hamartoma tumor syndrome. *Urology*. 2012. 79(5): 1187 e1-7.
49. Hwang SJ, *et al.* Germline p53 mutations in a cohort with childhood sarcoma: sex differences in cancer risk. *Am J Hum Genet*. 2003. 72(4): 975-83.
50. Birch JM, *et al.* Prevalence and diversity of constitutional mutations in the p53 gene among 21 Li-Fraumeni families. *Cancer Res*. 1994. 54(5): 1298-304.
51. Gonzalez KD, *et al.* Beyond Li Fraumeni Syndrome: clinical characteristics of families with p53 germline mutations. *J Clin Oncol*. 2009. 27(8): 1250-6.
52. McCuaig JM, *et al.* Routine TP53 testing for breast cancer under age 30: ready for prime time? *Fam Cancer*. 2012. 11(4): 607-13.
53. The American Congress of Obstetrics and Gynecology Committee on Genetics. Committee Opinion No. 634: Hereditary cancer syndromes and risk assessment. *Obstet Gynecol*. 2015. 125(6):1538-43.
54. Song *et al.* Contribution of germline mutations in the RAD51B, RAD51C, and RAD51D genes to ovarian cancer in the population. *J Clin Oncol*. 2015. 33(26): 2901-7.
55. Ramus *et al.* Germline mutations in the BRIP1, BARD1, PALB2, and NBN genes in women with ovarian cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2015. 107(11).
56. Norquist BM, *et al.* Inherited mutations in women with ovarian carcinoma. *JAMA Oncol*. 2015 Dec 30:1-9. [Epub ahead of print].
57. Mu W, *et al.* Sanger confirmation is required to achieve optimal sensitivity and specificity in next-generation sequencing panel testing. *J Mol Diagn*. 2016. 18(6):923-932.



**Tabella 1:**

## OncoNext™ Risk

### Breast - Elenco dei geni analizzati e delle patologie neoplastiche correlate

	DISEASE NAME	PhenoMIM	
1	Breast cancer, susceptibility to (Breast, pancreatic)	<a href="#">114480</a>	<b>ATM</b>
2	Breast cancer, susceptibility to (Breast, ovarian)	<a href="#">114480</a>	<b>BARD1</b>
3	Breast-ovarian cancer, familial, 1 Pancreatic cancer, susceptibility to, 4 (Breast, ovarian, male breast, prostate, pancreatic)	<a href="#">604370</a> <a href="#">614320</a>	<b>BRCA1</b>
4	Breast-ovarian cancer, familial, 2 Pancreatic cancer Prostate cancer (Breast, ovarian, male breast, prostate, pancreatic)	<a href="#">612555</a> <a href="#">613347</a> <a href="#">176807</a>	<b>BRCA2</b>
5	Breast cancer, early-onset (Breast, ovarian)	<a href="#">114480</a>	<b>BRIP1</b>
6	Endometrial carcinoma, somatic Gastric cancer, familial diffuse, with or without cleft lip and/or palate Ovarian carcinoma, somatic Breast cancer, lobular Prostate cancer, susceptibility to (Breast, gastric, colorectal)	<a href="#">608089</a> <a href="#">137215</a> <a href="#">167000</a> <a href="#">114480</a> <a href="#">176807</a>	<b>CDH1</b>
7	Li-Fraumeni syndrome Breast cancer, susceptibility to Prostate cancer, familial, susceptibility to Osteosarcoma, somatic Breast, colorectal	<a href="#">609265</a> <a href="#">114480</a> <a href="#">176807</a> <a href="#">259500</a>	<b>CHEK2</b>
8	Breast, ovarian		<b>MRE11A</b>
9	Adenomas, multiple colorectal Colorectal adenomatous polyposis, autosomal recessive, with pilomatricomas Gastric cancer, somatic Breast, colorectal	<a href="#">608456</a> <a href="#">132600</a> <a href="#">613659</a>	<b>MUTYH</b>
10	Leukemia, acute lymphoblastic breast cancer prostate cancer Breast, ovarian	<a href="#">613065</a>	<b>NBN</b>
11	Neurofibromatosis, type 1 Paraganglioma / Pheochromocytoma, neurofibromas, Gastrointestinal stromal tumor, breast, CNS, optic glioma	<a href="#">162200</a>	<b>NF1</b>

<b>12</b>	Endometrial carcinoma, somatic Malignant melanoma, somatic Squamous cell carcinoma, head and neck, somatic Thyroid carcinoma, follicular, somatic Glioma susceptibility 2 Meningioma Prostate cancer, somatic Breast, uterine, kidney, thyroid, colorectal	<a href="#">608089</a> <a href="#">155600</a> <a href="#">275355</a> <a href="#">188470</a> <a href="#">613028</a> <a href="#">607174</a> <a href="#">176807</a>	<b>PTEN</b>
<b>13</b>	Breast cancer, susceptibility to Pancreatic cancer, susceptibility to	<a href="#">114480</a> <a href="#">613348</a>	<b>PALB2</b>
<b>14</b>	Breast, ovarian		<b>RAD50</b>
<b>15</b>	Breast-ovarian cancer, familial, susceptibility to, 4 Breast, ovarian	<a href="#">614291</a>	<b>RAD51D</b>
<b>16</b>	Breast-ovarian cancer, familial, susceptibility to, 3 Breast, ovarian	<a href="#">613399</a>	<b>RAD51C</b>
<b>17</b>	Peutz-Jeghers syndrome Pancreatic cancer Testicular tumor, somatic Small bowel, colorectal, pancreatic, breast, ovarian	<a href="#">175200</a> <a href="#">260350</a> <a href="#">273300</a>	<b>STK11</b>
<b>18</b>	Adrenal cortical carcinoma Breast cancer Colorectal cancer Hepatocellular carcinoma Li-Fraumeni syndrome Nasopharyngeal carcinoma Osteosarcoma Pancreatic cancer Basal cell carcinoma 7 Glioma susceptibility 1 Breast, sarcoma, brain, adrenocortical, leukemia, gastrointestinal, genitourinary	<a href="#">202300</a> <a href="#">114480</a> <a href="#">114500</a> <a href="#">114550</a> <a href="#">151623</a> <a href="#">607107</a> <a href="#">259500</a> <a href="#">260350</a> <a href="#">614740</a> <a href="#">137800</a>	<b>TP53</b>