

Raccomandazioni AIOM per l'implementazione dell'analisi delle varianti patogenetiche di *BRCA* nei pazienti con carcinoma della prostata metastatico

Version 2.0
Edizione Marzo 2023

In collaborazione con:



Società Italiana di Anatomia Patologica
e Citologia Diagnostica - Divisione Italiana
della International Academy of Pathology



SOCIETÀ ITALIANA
DI FARMACOLOGIA



Società Italiana di Genetica Umana



Società Italiana di Urologia Oncologica
Italian Society of Uro-Oncology



Coordinatore:

Ugo De Giorgi, IRCCS Istituto Romagnolo per lo Studio dei Tumori IRST Dino Amadori, Meldola

Segretario Scientifico:

Antonio Russo, Dip. Discipline Chirurgiche, Oncologiche e Stomatologiche, Università di Palermo

Estensori:**AIOM**

Giordano Beretta, Oncologia medica Ospedale Spirito Santo ASL Pescara

Vincenza Conteduca, Oncologia Medica, Università di Foggia, Foggia

Laura Cortesi, Azienda Ospedaliera Universitaria di Modena, Modena

Emilio Francesco Giunta, IRCCS Istituto Romagnolo Studio dei Tumori (IRST) Dino Amadori, Meldola

Lorena Incorvaia, Dip. Biomedicina, Neuroscienze e Diagnostica Avanzata, Università di Palermo

Sandro Pignata, Dipartimento uro-ginecologico, IRCCS Istituto Nazionale Tumori "Pascale", Napoli

Marcello Tucci, Oncologia Medica, Ospedale "Cardinal Massaia", Asti

Fondazione AIOM

Stefania Gori, Oncologia Medica, IRCCS Sacro Cuore Don Calabria, Negrar di Valpolicella (VR)

SIAPEC-IAP

Maurizio Colecchia, Anatomia Patologica, Università Vita- Salute Ospedale San Raffaele (HSR), Milano

Matteo Fassan, Anatomia Patologica, Dipartimento di Medicina, Università di Padova, Padova

Umberto Malapelle, Dipartimento di Sanità Pubblica, Università degli Studi Federico II, Napoli

Caterina Marchiò, Dipartimento di Scienze Mediche, Università di Torino, Torino; Anatomia Patologica, FPO-IRCCS di Candiolo

SIBIOC

Ettore Capoluongo, Università Federico II e CEINGE, Napoli

SIF

Romano Danesi, Farmacologia Clinica e Farmacogenetica, Università di Pisa

Marzia Del Re, Farmacologia Clinica e Farmacogenetica, Università di Pisa

SIGU

Paola Ghiorzo, IRCCS Ospedale Policlinico San Martino e Università di Genova, Genova

Maurizio Genuardi, Fondazione Policlinico A. Gemelli IRCCS e Università Cattolica e Sacro Cuore, Roma

Daniela Turchetti, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna e Università di Bologna, Bologna

AURO

Roberta Gunelli, Urologia, Ospedale Pierantoni, Forlì

SIU

Walter Artibani, Urologia, Policlinico di Abano Terme (Padova)

SIURO

Alberto Lapini, Urologia, Ospedale Careggi, Firenze

UROP

Giuseppe Ludovico, Urologia, Ospedale Miulli, Acquaviva delle Fonti

AIRO

Roberto Pacelli, Radioterapia, Università degli Studi Federico II, Napoli

aBRCA dabra ETS

Ornella Campanella, aBRCA dabra ETS

Revisori:

Sergio Bracarda, Oncologia Medica e Traslazionale, Azienda Ospedaliera Santa Maria, Terni

Orazio Caffo, Oncologia Medica, Ospedale Santa Chiara, Trento

Giuseppe Procopio, Oncologia genitourinaria, IRCCS Istituto Nazionale Tumori, Milano

Sommario

- 1. Epidemiologia del carcinoma della prostata in Italia**
- 2. Eziologia e fattori di rischio**
- 3. Prevalenza delle varianti patogenetiche dei geni *BRCA* nel carcinoma della prostata**
- 4. Criteri di invio alla consulenza genetica**
- 5. Test *BRCA* come test predittivo di efficacia delle terapie antitumorali**
- 6. Uso del test *BRCA* per la diagnosi di predisposizione ereditaria e gestione dei familiari sani con variante patogenetica *BRCA1/2***
- 7. Tipologie di test *BRCA***
- 8. Interpretazione delle varianti genetiche *BRCA1/2***
- 9. Disponibilità del test *BRCA* e gestione dei risultati nel percorso assistenziale/terapeutico**
- 10. Elementi indispensabili del consenso informato**
- 11. Bibliografia**

Sono sempre più numerosi i lavori in letteratura che dimostrano che la presenza di una variante patogenetica costituzionale nei geni *BRCA1* e *BRCA2* è associata ad un aumento del rischio di sviluppare un tumore della prostata.

Queste Raccomandazioni sono relative all'implementazione del test *BRCA* nei pazienti con adenocarcinoma della prostata, con una doppia possibile applicazione:

- a) l'identificazione in pazienti affetti da carcinoma prostatico metastatico resistente alla castrazione (mCRPC), in progressione dopo terapia comprendente almeno un agente ormonale di seconda generazione, di soggetti suscettibili al trattamento con inibitori dell'enzima Poli ADP-ribosio Polimerasi (PARP).
- b) l'identificazione di soggetti portatori di varianti patogenetiche costituzionali (germinali) nei geni *BRCA1/2* associate ad alto rischio di tumori (di mammella, ovaio, pancreas, prostata) ai fini di una prevenzione primaria e/o secondaria oncologica nell'ambito familiare.

1. Epidemiologia del carcinoma della prostata in Italia

Il carcinoma prostatico è divenuto, in molti Paesi Occidentali, il tumore più frequente nella popolazione maschile (1, 2). Il costante aumento dell'incidenza è dovuto in gran parte alla sempre maggiore diffusione del dosaggio sierico del PSA in termini di screening opportunistico con conseguente diagnosi anche di tumori clinicamente poco significativi (3).

L'incidenza fa registrare un gradiente Nord-Sud: rispetto ai 144.4 casi x 100.000/anno tra residenti del Nord-Italia, le regioni del Centro fanno infatti registrare un -3% (140/100.000) e quelle del Sud addirittura un -25% (109/100.000). Queste differenze, oltre ad una possibile diversa diffusione nell'impiego del PSA, sono probabilmente imputabili anche ad una differente incidenza di possibili fattori di suscettibilità quali la dieta e il minore introito di fattori di tipo protettivo come gli antiossidanti (2).

Pur risultando al primo posto in termini di diagnosi, in Italia il tumore della prostata occupa solo il terzo posto come causa di mortalità per neoplasie, interessando, nella quasi totalità dei casi, uomini con età superiore ai 70 anni (3).

La sopravvivenza dei pazienti con carcinoma prostatico, non considerando la mortalità per altre cause, è attualmente attestata al 91,4% a 5 anni dalla diagnosi, ed è in costante crescita (2).

2. Eziologia e fattori di rischio

L'eziologia del carcinoma prostatico è rappresentata da una complessa interazione di fattori genetici ed ambientali. Per alcuni fattori di rischio tra cui l'età, l'etnia ebraica Askenazita, la storia familiare e le alterazioni genetiche vi è un'evidenza forte mentre per altri fattori come il fumo di sigaretta, il consumo di prodotti caseari e l'introito di calcio le evidenze sono piuttosto deboli (4-6).

Per quanto riguarda la familiarità si stima che il rischio sia almeno raddoppiato nel caso in cui un familiare di primo grado risulti affetto da questa neoplasia con un rischio che aumenta di 5-11 volte se due o più parenti di primo grado ne sono affetti (6).

Solo un piccolo sottogruppo di pazienti affetti da carcinoma della prostata (meno del 15%) ha una malattia su base ereditaria.

Il carcinoma prostatico può, infatti, essere associato alla sindrome HBOC (Hereditary Breast and Ovarian Cancer) e alla sindrome di Lynch, entrambe legate a mutazioni germinali dei geni coinvolti nella riparazione del DNA (7,8).

Tra le varianti patogenetiche riscontrate a carico di uno dei 16 geni coinvolti nei deficit di riparazione del DNA (DNA Damage Response - DDR) analizzati, quelle più frequenti sono a carico di *BRCA2*, con una percentuale progressivamente maggiore in funzione dello stadio e della fase di evoluzione della malattia. Le altre varianti patogenetiche principalmente correlate ad un aumentato rischio di tumore prostatico coinvolgono i geni *ATM*, *PALB2* e *CHEK2* (7).

3. Prevalenza delle varianti patogenetiche dei geni *BRCA1/2* nel carcinoma della prostata

La prevalenza di alterazioni genetiche in geni di riparazione del DNA, tra cui i geni *BRCA1/2*, è stata determinata negli ultimi 5 anni (9-12). Nel 2015, The Cancer Genome Atlas (TCGA) ha pubblicato un'analisi molecolare di 333 tumori prostatici primari mostrando una prevalenza di alterazioni somatiche del 19% per i diversi geni del DNA-repair, tra cui *BRCA2*, *BRCA1*, *ATM*, *CDK12*, *FANCD2* o *RAD51C* (10). Inoltre, un report di International Stand Up to Cancer/American Association for Cancer Research Prostate Cancer/Prostate Cancer Foundation Team (SU2C-PCF) ha identificato alterazioni genomiche che coinvolgono i geni DDR nel 23% delle biopsie metastatiche analizzate nei pazienti affetti da neoplasia prostatica. *BRCA2* era alterato nel 13% dei casi, seguito da *ATM* (7.3%), *MSH2* (2%) e *BRCA1*, *FANCA*, *MLH1*, *RAD51B* and *RAD51C* (tutti con una prevalenza dello 0.3%) (8). Un ulteriore ampio studio di caratterizzazione molecolare della neoplasia prostatica ha identificato alterazioni a carico dei geni DDR nel 10% e 27% dei campioni provenienti dai tumori primitivi e metastatici, rispettivamente (11), in linea con l'osservazione che le alterazioni geniche del DNA-repair sono associate con una malattia più avanzata come quella metastatica (13).

Bisogna tuttavia sottolineare che la prevalenza delle alterazioni dei meccanismi di riparazione del DNA tra i differenti studi può variare in base al numero di geni analizzati, della tecnica impiegata e delle caratteristiche clinico - patologiche dei tumori. Il recente studio PROfound rappresenta la più ampia analisi attualmente a nostra disposizione relativa ai difetti del DNA repair nei tumori prostatici (14). Tale studio clinico di fase 3 ha valutato l'efficacia del PARP inibitore olaparib nei pazienti affetti da carcinoma prostatico resistente alla castrazione metastatico (mCRPC), riscontrando, in 2792 biopsie, alterazioni in 15 geni coinvolti nella riparazione del DNA (15), con il riscontro di tali alterazioni nel 28% dei campioni analizzati, con una frequenza simile nel tumore primitivo (27%) e nel tessuto metastatico (32%) (15). *BRCA2* (8.7%), *CDK12* (6.3%), *ATM* (5.9%), *CHEK2* (1.2%) e *BRCA1* (1%) sono risultati essere i geni più comunemente alterati.

In uno studio multicentrico retrospettivo che ha raggruppato i dati sulle varianti germinali di 692 pazienti USA e UK con tumore prostatico metastatico è stato evidenziato come il 6.2% dei pazienti fosse portatore di almeno una variante patogenetica germinale di BRCA1/2 (9). Una prevalenza lievemente più bassa (BRCA1/2, 4.2%) di tali mutazioni è stata riportata nello studio PROREPAIR-B (12), uno studio prospettico che ha analizzato una popolazione spagnola di 419 pazienti con tumore prostatico metastatico. In Italia, l'unico studio disponibile su 300 pazienti ha mostrato una incidenza di BRCA2 (3.4%) in linea con la popolazione spagnola (De Giorgi et al – ASCO GU 2023, abstr 223). Nonostante questa lieve differenza nella prevalenza delle alterazioni genetiche legate ai meccanismi di riparazione del DNA, *BRCA2* rimane il gene più frequentemente mutato in entrambi le popolazioni USA/UK 5.3% e Spagnola/Italiana 3.3-3.4%, rispettivamente.

La tabella 1 sintetizza la frequenza di varianti patogenetiche nei geni *BRCA1* e *BRCA2*

Tabella 1. Frequenza delle alterazioni genetiche di *BRCA1* e *BRCA2* nel carcinoma prostatico metastatico in USA/UK

Alterazione genetica	Somatica*	Germinali**
<i>BRCA2</i>	13%	5.3%
<i>BRCA1</i>	<0.3%	0.9%

Fonti:

* Mateo J, et al. DNA-Repair Defects and Olaparib in Metastatic Prostate Cancer. N Engl J Med. 2015; 373(18):1697-708.

** Pritchard CC, et al. Inherited DNA-Repair Gene Mutations in Men with Metastatic Prostate Cancer. N Engl J Med. 2016; 375(5):443-53.

4. Criteri di Invio alla Consulenza Genetica

L'indicazione all'esecuzione del test è basata generalmente sulla storia personale e familiare, e tiene conto degli elementi usualmente impiegati per il riconoscimento di tumori legati a predisposizione ereditaria: numero di parenti affetti, tipo di neoplasia, tumori primitivi multipli, età alla diagnosi, caratteristiche istologiche, immunoistochimiche e molecolari dei tumori. Queste variabili sono organizzate in criteri che, se soddisfatti, rendono indicato l'invio alla consulenza genetica (Tabella n.2) e che sono in accordo con quelli presenti nelle linee guida internazionali.

Tabella 2. Criteri per accesso alla consulenza genetica oncologica sia per i pazienti che per i familiari a rischio.

Storia personale di:
1. Carcinoma mammario maschile
2. Donna con carcinoma mammario e carcinoma ovarico
3. Donna con carcinoma mammario < 36 anni
4. Donna con carcinoma mammario triplo negativo < 60 anni
5. Donna con carcinoma mammario bilaterale < 50 anni
6. Donna con carcinoma ovarico non mucinoso o borderline a qualsiasi età
7. Adenocarcinoma pancreatico metastatico
8. Carcinoma prostatico metastatico
Storia personale di carcinoma mammario < 50 anni e familiarità di primo grado^{a,b} per:
- Carcinoma mammario < 50 anni
- Carcinoma ovarico non mucinoso o borderline a qualsiasi età
- Carcinoma mammario bilaterale
- Carcinoma mammario maschile
Storia personale di carcinoma mammario > 50 anni e familiarità per carcinoma mammario, ovarico in 2 o più parenti in primo grado^{a,b} tra loro (di cui uno in primo grado con lei^{a,b})
Storia personale di carcinoma prostatico e familiarità:
- Almeno un parente di primo grado ^a con carcinoma prostatico non Grade Group 1 ^c in età < 60 anni
- Almeno 2 membri della famiglia con carcinoma prostatico non Grade Group 1 ^c in età < 50 anni
Storia familiare di tumore del pancreas:
- Almeno 2 parenti di primo grado ^a con adenocarcinoma del pancreas
- Almeno 3 membri della famiglia con adenocarcinoma del pancreas
In presenza di criteri di accesso al test per le sindromi genetiche con un aumentato rischio di carcinoma pancreatico
Storia familiare di: Variante patogenetica nota in un gene predisponente in un familiare

^a Parenti di primo grado=genitori, fratelli/sorelle e figli.

^b Per il lato paterno della famiglia, considerare anche familiari di secondo grado (nonna, zie)

^c Grade Group 1 according to ISUP¹⁶

5. Test BRCA come test predittivo di efficacia delle terapie antitumorali

L'importanza del test *BRCA1/2* nei pazienti con tumore prostatico è giustificata dai seguenti motivi:

1. È stato dimostrato che le varianti patogenetiche dei geni *BRCA*, siano esse di natura germinale o somatica, rappresentano un biomarcatore predittivo di maggiore sensibilità al trattamento con inibitori dell'enzima Poli (ADP-ribosio) Polimerasi (PARP), che interviene nella riparazione del DNA danneggiato a singolo filamento, nei pazienti affetti da carcinoma della prostata metastatico resistente alle terapie ormonali. L'efficacia dei PARP inibitori come opzione terapeutica nel carcinoma della prostata si realizza attraverso un meccanismo di "letalità sintetica" in presenza di una concomitante perdita di funzione dei meccanismi di riparazione del DNA a doppio filamento mediante ricombinazione omologa (HR), nei quali le proteine *BRCA1/2* svolgono un ruolo essenziale (13). La perdita di funzione delle proteine *BRCA1/2* quale effetto di alterazioni costituzionali o somatiche dei geni corrispondenti rappresenta la condizione più frequente, anche se non esclusiva, di disfunzione dei meccanismi di HR (15).
2. Studi clinici hanno portato nell'ottobre del 2020 alla registrazione da parte dell'Agencia Regulatoria Europea EMA (European Medicines Agency) del PARP inibitore olaparib "indicato, in monoterapia, per il trattamento di pazienti adulti con cancro della prostata metastatico resistente alla castrazione e con mutazioni nei geni *BRCA1/2* (varianti patogenetiche nella linea germinale e/o mutazione somatica), in progressione dopo precedente trattamento che includeva un nuovo agente ormonale" (17). I pazienti devono avere conferma di una variante patogenetica nei geni di suscettibilità al carcinoma prostatico *BRCA1/2* (nella linea germinale o nel tumore) prima di iniziare il trattamento con olaparib. La valutazione dello stato di mutazione di *BRCA* deve essere effettuata in un laboratorio specializzato che utilizzi un metodo di analisi validato. Il test per la ricerca delle varianti patogenetiche di *BRCA1/2* viene in prima istanza effettuato su tessuto tumorale. Data la non trascurabile probabilità di trovare tessuto inadeguato in termini quantitativi o qualitativi per effettuare l'analisi molecolare (fino al 30% dei casi) (18), è possibile ricorrere alla biopsia liquida, che consiste nell'analisi del DNA tumorale circolante (ctDNA) estratto da plasma. Per l'utilizzo della biopsia liquida nella pratica clinica si rimanda alle specifiche raccomandazioni AIOM sull'argomento (<https://www.aiom.it/raccomandazioni-2020-per-leseecuzione-di-test-molecolari-su-biopsia-liquida-in-oncologia/>). Nei centri in cui non sia disponibile la biopsia liquida, si suggerisce di eseguire l'analisi per la ricerca di mutazionali germinali su sangue solo in presenza delle caratteristiche di rischio per neoplasia ereditaria elencate nella tabella 2 (vedi capitolo 6 "Test *BRCA* per la diagnosi di predisposizione ereditaria").

Olaparib è ad oggi disponibile in Italia il farmaco e rimborsato per il trattamento del tumore prostatico metastatico "castration-resistant" (mCRPC) in progressione dopo precedente trattamento che includeva un ARSi.

Nei pazienti con carcinoma prostatico avanzato, la positività del test germinale *BRCA2* ha dimostrato di essere un fattore prognostico sfavorevole indipendente per la sopravvivenza rispetto ai casi in cui non sono state riscontrate varianti patogenetiche (12, 13, 19, 20). I dati di

letteratura mostrano una non inferiorità del valore prognostico fornito dal dato di valutazione dello stato BRCA ottenuto sulla biopsia liquida (21).

3. La chemioterapia a base di platino causa danni al DNA che non possono essere facilmente riparati quando c'è una compromissione dei meccanismi di riparo del HR, portando ad attivazione di sistemi errore-prone e inducendo instabilità genomica e infine a morte cellulare. Questa strategia terapeutica si è dimostrata efficace nel trattamento di particolari tipi di tumore mammario, quali i tumori triplo negativi, e dell'ovaio con mutazioni patogenetiche in *BRCA1* o *BRCA2*. Sebbene la chemioterapia a base di platino non sia un trattamento standard nei pazienti con cancro alla prostata, il suo impiego può essere considerato in casi con differenziazione neuroendocrina (22). Diversi studi retrospettivi suggeriscono che i malati di cancro della prostata con mutazione *BRCA2* potrebbero trarre beneficio da questo approccio terapeutico (23-24). Il più ampio di questi studi, che includeva 141 uomini con mCRPC trattati con carboplatino e docetaxel tra il 2001 e il 2015, ha riportato un beneficio clinico per i pazienti con varianti patogenetiche germinali *BRCA2* (24). Sei degli otto portatori di varianti patogenetiche di *BRCA2* (75%) hanno mostrato un calo del PSA $\geq 50\%$ a 12 settimane, rispetto a quanto osservato nei non portatori delle varianti patogenetiche di *BRCA2* (17%) ($P = 0,001$). Il calo del PSA $\geq 50\%$ è stato associato a più lunga sopravvivenza (18.9 mesi vs 9.5 mesi).

Il trial clinico PROfound (14) è il primo studio randomizzato di Fase 3 nel setting mCRPC basato su biomarcatori. In questo studio, i pazienti affetti da mCRPC con deficit di DDR progrediti ad una precedente terapia comprendente ARSi sono stati randomizzati 2:1 a ricevere olaparib 300 mg due volte al giorno o una terapia alternativamente con ARSi a scelta del medico. I pazienti con un'alterazione della DDR sono stati stratificati in due coorti: coorte A con alterazioni *BRCA1*, *BRCA2* e *ATM*; coorte B, che ha incluso alterazioni in *BARD1*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *PPP2R2A*, *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D* e *RAD54L*. L'obiettivo primario era la PFS radiologica (rPFS) nella coorte A. Il crossover a olaparib è stato consentito in caso di evidenza di progressione. Un totale di 245 e 142 pazienti sono stati inclusi rispettivamente nelle coorti A e B (da notare che il 65,6% aveva precedentemente ricevuto una terapia con taxano). Lo studio ha raggiunto il suo endpoint primario mostrando un beneficio statisticamente significativo in termini di rPFS nei pazienti della coorte A, con un rPFS mediano di 7.4 mesi negli uomini trattati con olaparib vs. 3.5 mesi in coloro che hanno ricevuto abiraterone o enzalutamide ($P < 0.001$; HR 0.34, 95% CI 0.25-0.47). In una sotto-analisi esplorativa che ha esaminato l'effetto selettivo di ogni singola mutazione sulla rPFS, i pazienti con aberrazioni del gene *BRCA2* sembravano trarre i maggiori benefici dalla terapia con olaparib. L'analisi finale della sopravvivenza globale (25) ha inoltre evidenziato un chiaro beneficio nei pazienti della corte A (con mutazioni dei geni *BRCA1*, *BRCA2* e *ATM*), con una OS mediana di 19,1 mesi nel braccio trattato con olaparib rispetto a 14.7 mesi nel braccio trattato con ARSi (HR 0.69, $P = 0.02$), nonostante il 66% dei pazienti nel braccio di controllo sia passato a olaparib alla progressione radiografica. L'OS globale mediana (coorti A e B) è risultata 17.3 vs 14.0 mesi (HR 0.79) nei pazienti trattati con olaparib e con il trattamento ormonale, rispettivamente.

Due studi di Fase 2 (TRITON2 e GALAHAD) hanno valutato l'efficacia di altri due PARP inibitori, talazoparib e niraparib, rispettivamente, sempre nel setting di malattia resistente alla castrazione (26, 27). Entrambi gli studi hanno arruolato pazienti con difetti DDR, utilizzando

test e pannelli genetici diversi. Pazienti con alterazioni in *ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK2*, *FANCA*, *NBN*, *PALB2*, *RAD51*, *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D* o *RAD54L* rilevati nel tessuto o *ATM*, *BRCA1* o *BRCA2* nel plasma, sono stati ritenuti idonei per lo studio TRITON2, mentre lo studio GALAHAD ha arruolato solo uomini con alterazioni tumorali bi-alleleliche in *ATM*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CHEK2*, *FANCA*, *HDAC2* o *PALB2* rilevati nel DNA tumorale circolante. Il 44% degli uomini con alterazioni di *BRCA1/2* e malattia misurabile nello studio TRITON2 hanno ottenuto risposte radiografiche, che, nel 60% dei casi, sono durate >6 mesi. Il 52% ha avuto anche una diminuzione $\geq 50\%$ del PSA. In questo studio, non sono state riscontrate differenze nella risposta tra pazienti con alterazioni germinali e somatiche di *BRCA2*. Nello studio GALAHAD, il tasso di risposta globale riportato per gli uomini con alterazioni bi-alleleliche *BRCA1/2* è stato del 41% con una durata mediana di 5.5 mesi e il tasso di risposta del PSA è stato del 50%.

Nei più recenti trials clinici in pazienti affetti da carcinoma prostatico metastatico, la biopsia liquida è stata utilizzata come test di riferimento - al pari dell'analisi su tessuto - per la determinazione dello stato molecolare di *BRCA1/2*. Diversi lavori hanno evidenziato come, in questi pazienti, la concordanza tra mutazioni riscontrate sul tessuto e su sangue sia elevata (28, 29, 30), sebbene vi sia il rischio di falsi positivi, per lo più legati all'ematopoiesi clonale (Clonal hematopoiesis of indeterminate potential, CHIP) (31). Inoltre, il valore predittivo delle mutazioni riscontrate tramite biopsia liquida è paragonabile a quello ottenuto mediante analisi su tessuto, come evidenziato dalle analisi esplorative dei sopracitati studi TRITON-2 (29) e PROfound (32). Questi dati suggeriscono come la biopsia liquida svolga un ruolo rilevante nella caratterizzazione molecolare, specialmente in pazienti il cui tessuto tumorale sia inadeguato per tali analisi, e di conseguenza nell'eleggibilità a trattamenti con PARP-inibitori. Inoltre, poiché la sensibilità dell'inibitore di PARP dipende dalla perdita funzionale di entrambi gli alleli, l'evidenza di un'alterazione deleteria in un allele sul ctDNA è spesso accettata come prova sufficiente per offrire a un paziente un trattamento PARPi (25).

4. Per i pazienti affetti da tumore prostatico e positivi per varianti patogenetiche germinali dei geni *BRCA* va posta indicazione a programmi di sorveglianza idonei a gestire il rischio di insorgenza di secondi tumori associati alle varianti patogenetiche dei geni *BRCA*.
5. Il test può avere rilevanti implicazioni sulla prevenzione oncologica nei familiari, in particolare quando porti al riscontro di varianti patogenetiche germinali dei geni *BRCA*.

Il test molecolare andrebbe proposto al paziente al momento della diagnosi di malattia metastatica, indipendentemente dallo stato di sensibilità/resistenza alla castrazione; ancorché vi siano più dati sulla caratterizzazione molecolare nella malattia resistente alla castrazione, tutti i suddetti elementi di tipo prognostico, predittivo, le implicazioni eredo-familiari nonché la progressiva perdita di qualità nel tempo dei campioni tissutali sono in linea con tale proposta.

Sulla base di queste evidenze, si propone l'invio al test *BRCA* somatico per gli uomini con carcinoma prostatico metastatico.

Alla proposta di esecuzione del test *BRCA* deve essere associata una adeguata informazione su tutti gli aspetti collegati ai possibili risultati del test, rispettando i tempi decisionali del paziente.

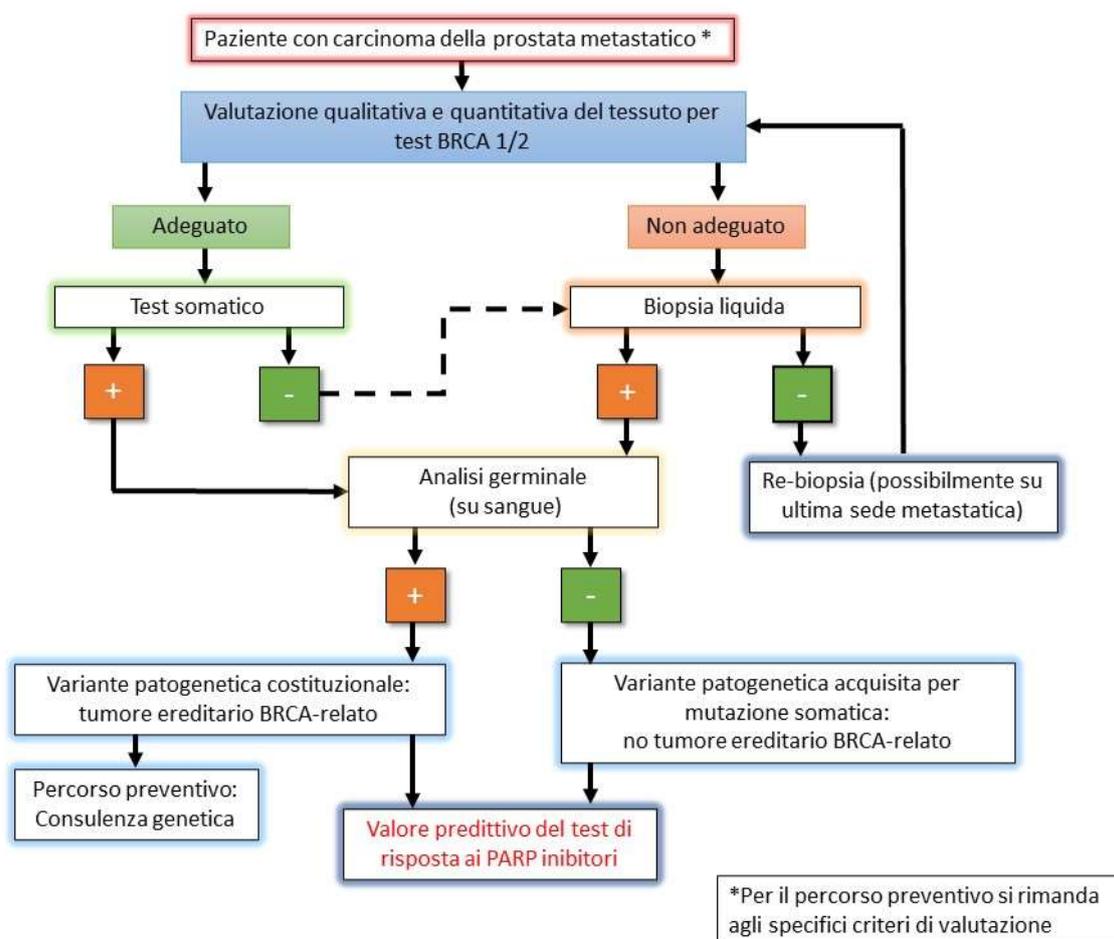
6. Uso del test *BRCA* per la diagnosi di predisposizione ereditaria e gestione dei familiari sani con variante patogenetica *BRCA1/2*

Come menzionato precedentemente, il riscontro di una positività al test germinale *BRCA* negli uomini con carcinoma prostatico avanzato permette ai consanguinei di questi ultimi l'accesso alla consulenza genetica oncologica e al test preventivo, finalizzato a verificare la presenza o meno della varianti patogenetiche familiare. Nel caso di esito positivo, saranno avviati verso i programmi di sorveglianza stretta finalizzati (ove possibile) ad una diagnosi precoce dei tumori associati alle sindromi a trasmissione eredo-familiare da difetti dei geni *BRCA* e/o a strategie chirurgiche di riduzione del rischio di carcinoma mammario/ovarico (mastectomia e/o annessiectomia risk reducing).

Negli Stati Uniti, dove il test *BRCA* è universale per tutte le pazienti affetti da tumore ovarico già da qualche anno, gli epidemiologi hanno stimato che le strategie di riduzione del rischio (mediche o chirurgiche) attuate sui parenti sani positivi al test preventivo, potrebbero portare ad una riduzione dell'incidenza del carcinoma ovarico del 40% in 10 anni; trattasi di un risultato di straordinaria importanza in un tumore che ancora oggi non riconosce metodiche di screening e di prevenzione semplici ed efficaci.

- Il test *BRCA* somatico è indicato per i pazienti con carcinoma prostatico metastatico.
- L'identificazione di una variante patogenetica somatica nei geni *BRCA1-BRCA2* consente di pianificare nei pazienti affetti un percorso terapeutico adeguato e richiede la valutazione della mutazione a livello germinale.
- L'identificazione di variante patogenetica germinale nei geni *BRCA1-BRCA2* in un paziente con carcinoma prostatico permette di intraprendere un percorso di consulenza oncogenetica nei familiari al fine di identificare i portatori ad alto rischio, cui proporre programmi mirati di diagnosi precoce dei tumori associati alle sindromi a trasmissione eredo-familiare *BRCA*-relate e strategie finalizzate alla riduzione del rischio.
- La presa in carico dei pazienti con tumore prostatico *BRCA*-relato deve prevedere un approccio bio-psicosociale, che tenga conto dell'impatto della diagnosi e dei trattamenti sulla sfera fisica e psico-emotiva di ciascun paziente.

Figura 1. Flow chart delle raccomandazioni AIOM dell'analisi delle varianti patogenetiche di BRCA nei pazienti con carcinoma della prostata metastatico



È preferibile effettuare in prima istanza la ricerca delle varianti patogenetiche di *BRCA1/2* su tessuto tumorale. La natura della variante identificata (costituzionale o somatica) sarà stabilita analizzando un tessuto normale (sangue, altro tessuto), anche ai fini di escludere la presenza di varianti da emopoiesi clonale a potenziale indeterminato (CHIP), soprattutto quando vengono impiegati test multigenici o di profilazione estesa. Nel caso di variante costituzionale, oltre ad avere la possibilità di accedere ad eventuale trattamento con inibitore di PARP, il paziente potrà avere l'accesso, attraverso il counseling oncogenetico, al percorso preventivo per i soggetti sani portatori (tramite l'avvio di programmi di sorveglianza clinico-strumentale o l'effettuazione di strategie di riduzione del rischio). Si raccomanda agli uomini di età >40 anni portatori di una variante patogenetica di *BRCA1/2* germinale di sottoporsi ad uno screening per il cancro alla prostata basato sul PSA e visita specialistica per impostazione del programma di sorveglianza (16, 33).

7. Tipologie di test *BRCA*

Alcune alterazioni DDR possono verificarsi all'inizio dell'evoluzione del tumore della prostata e potrebbero essere rilevati nei campioni tissutali provenienti dalla biopsia diagnostica o dalla prostatectomia. Alcuni altri eventi genomici potrebbero essere acquisiti durante la progressione della malattia e la biopsia del tumore metastatico rappresenta pertanto l'approccio ideale per identificare le alterazioni molecolari. È opportuno, tuttavia, sottolineare che le biopsie delle lesioni metastatiche possono essere impegnative o non fattibili, e allo stesso tempo, una singola biopsia potrebbe non rivelare l'eterogeneità tumorale tra le metastasi. Inoltre, come già scritto in precedenza, i dati dello studio PROfound (14) hanno rivelato che il 30% dei campioni biotici potrebbe non essere di sufficiente qualità per il sequenziamento genico (15). L'analisi del DNA libero circolante rappresenta, dunque, un approccio alternativo promettente per studiare le alterazioni molecolari nella neoplasia prostatica avanzata in quanto capace di superare la difficoltà nell'ottenere i campioni tissutali. Tuttavia, in attesa di ulteriori studi che possano certificarne l'affidabilità nella pratica clinica come alternativa al test su tessuto da utilizzare in prima istanza, la biopsia liquida per la ricerca di alterazioni geniche di *BRCA1/2* può essere utilizzata solo quando non vi sia disponibilità di tessuto o quest'ultimo risulti inadeguato per l'analisi, secondo le specifiche raccomandazioni sull'argomento (<https://www.aiom.it/raccomandazioni-2020-per-lesecuzione-di-test-molecolari-su-biopsia-liquida-in-oncologia/>).

Attualmente, il test *BRCA* su sangue periferico (“test costituzionale o germinale”) per la ricerca di varianti patogenetiche costituzionali si effettua in molti laboratori attraverso metodologie ampiamente validate, in particolare sequenziamento di nuova generazione (next-generation sequencing, NGS). Le analisi mediante metodiche NGS permettono di predire con un certo grado di affidabilità eventuali ampi riarrangiamenti in *BRCA1/2*, che vengono generalmente confermati mediante metodiche quali la Multiplex Ligation Probe Dependent Amplification (MLPA) o la Multiplex Amplicon Quantification (MAQ). Generalmente, MLPA e MAQ andrebbero utilizzate in modalità complementare, per escludere ad esempio dei falsi positivi originati sia dalla tecnologia NGS che da eventuali problematiche relative al sistema MAQ.

Per un'adeguata esecuzione del test *BRCA*, è necessario che i laboratori:

- a) abbiano una comprovata esperienza di validazione del test;
- b) partecipino a programmi di controllo di qualità esterni riconosciuti.

Esistono, comunque, specifiche raccomandazioni di tipo metodologico per la messa a punto di un workflow di analisi NGS su tessuto tumorale (ovarico) per la ricerca delle varianti *BRCA* (34). Inoltre, l'impiego di standard ad hoc per ogni tipologia di processo analitico è fondamentale anche ai fini di una corretta analisi bioinformatica. Non ultimo, si ricorda la necessità di un'adeguata conservazione del tessuto secondo procedure preanalitiche che consentano la migliore preservazione del DNA.

Il panel ritiene che si possano utilizzare oggi entrambi i test BRCA, su tessuto tumorale oppure su sangue, ma che sia preferibile, laddove possibile, eseguire in prima istanza il test somatico, considerando in ogni caso che il test, indipendentemente dal tipo di campione utilizzato - sangue o tessuto - richiede standard qualitativi da rispettare ed esperienza di analisi ed interpretazione.

- Per il test somatico, i preparati istologici devono essere rivalutati da un patologo che individuerà le aree più rappresentative della lesione e con maggiore quantità di cellule tumorali.
- Il test su tessuto presenta ancora delle problematiche tecniche che lo limitano a selezionati laboratori specializzati. I laboratori devono offrire un test validato e i risultati devono essere disponibili in tempi rapidi.
- Ai pazienti che hanno in prima istanza effettuato il test germinale con esito non informativo (nessuna variante patogenetica identificata) e che sono candidate ad un trattamento con PARP inibitori, va proposto il test somatico.

8. Interpretazione delle varianti genetiche *BRCA*

Lo spettro di variabilità allelica dei geni *BRCA1* e *BRCA2* è molto ampio. Pertanto, il problema della classificazione delle varianti genetiche identificate è di grande rilevanza, anche perché può accadere che il laboratorio individui una variante non segnalata in precedenza nella letteratura scientifica. Pur esistendo numerose modalità di classificazione delle varianti costituzionali *BRCA* (35), è opportuno adottare i criteri sviluppati dall'Evidence-based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles (ENIGMA), disponibili sul sito web del consorzio (36), in quanto più specifici e frutto di un'ampia collaborazione di esperti internazionali. ENIGMA classifica le varianti in cinque categorie, secondo le indicazioni IARC (37): benigna, probabilmente benigna, incerta, probabilmente patogenetica e patogenetica. È importante sottolineare che i criteri sopra menzionati sono stati sviluppati al fine di definire il significato delle varianti nei geni *BRCA* come predittivi di rischio ereditario. Al momento, le informazioni relative all'effetto delle diverse varianti *BRCA* sulla risposta alle terapie sono più limitate e criteri specifici per la loro classificazione a questo scopo non sono ancora stati elaborati. È necessario, pertanto, che i laboratori rendano evidenti le modalità di interpretazione delle varianti *BRCA*, indicando nel referto il significato clinico della variante genetica identificata ed elencando le informazioni essenziali utilizzate per la classificazione (38). In quest'ambito è opportuno che i laboratori partecipino a programmi esterni di controlli di qualità ed alle reti collaborative, nazionali ed internazionali, finalizzate alla raccolta sistematica e centralizzata delle varianti *BRCA* osservate, allo scopo di contribuire alla miglior classificazione delle stesse (39), per quanto concerne sia la definizione del rischio ereditario che la predizione della risposta alle terapie antitumorali. È inoltre auspicabile effettuare una verifica periodica della classificazione delle varianti. Ogni riclassificazione deve essere comunicata al clinico di riferimento, in modo da trasferire l'informazione alla persona che si era sottoposta al test.

Nel referto deve essere indicato il significato clinico della variante genetica *BRCA* identificata e devono essere elencate le informazioni essenziali utilizzate per la classificazione. Recentemente, sono stati sviluppati dal consorzio ENIGMA criteri specifici per l'interpretazione del significato clinico (accertamento di rischio ereditario) delle varianti costituzionali dei geni *BRCA*.

9. Disponibilità del test *BRCA* e gestione dei risultati nel percorso assistenziale/terapeutico

Il modello di consulenza genetica oncologica ottimale nel percorso preventivo prevede una presa in carico totale degli aspetti genetici fin dalla fase pre-test. Tuttavia, la necessità di ottenere in tempi adeguati il risultato del test ai fini anche di una programmazione terapeutica presuppone che siano anche gli specialisti e i gruppi multidisciplinari a richiedere direttamente il test *BRCA* al laboratorio (mini-counseling). In quest'ambito risulta indispensabile identificare modalità organizzative che consentano la corretta interpretazione dei risultati del test a scopo clinico, la corretta gestione dei familiari che sono a rischio nel caso in cui si identifichi una variante patogenetica ereditaria, e la corretta valutazione genetica dei casi in cui il test *BRCA* sia risultato non informativo (35, 36). Si sottolinea la necessità di definire percorsi aziendali in cui vengano indicate, in modo chiaro per i pazienti ed i loro familiari, le funzioni e le responsabilità dell'équipe oncologica, del laboratorio e dell'équipe di genetica clinica oncologica nelle varie fasi del percorso individuato. In assenza di standard riconosciuti, si evidenzia l'opportunità di promuovere una presa in carico dei pazienti in centri di riferimento che abbiano maturato un'adeguata esperienza nel trattamento e cura dei pazienti affetti da carcinoma della prostata e di sottoporre tali percorsi ad una verifica mediante audit programmati, in un'ottica di miglioramento della qualità delle prestazioni offerte. È auspicabile che tutte le regioni rendano gratuito il test *BRCA* per i familiari sani dei pazienti in cui sia stata individuata una variante patogenetica di *BRCA* e che venga offerto gratuitamente il programma di prevenzione proposto ai soggetti portatori di varianti patogenetiche eventualmente con l'introduzione di un codice di esenzione per rischio/malattia genetico/a ereditario/a.

- Il panel raccomanda di identificare modalità organizzative che assicurino la corretta interpretazione dei risultati del test a scopo clinico, la corretta gestione dei familiari a rischio nel caso in cui si identifichi una variante patogenetica ereditaria, e la corretta valutazione genetica dei casi in cui il test *BRCA* sia risultato non informativo.
- Appaiono indispensabili dei PDTA in cui vengano indicate, in modo chiaro per i pazienti e i loro familiari, le funzioni e le responsabilità dell'équipe oncologica, del laboratorio per l'esecuzione del test genetico somatico e germinale e dell'équipe di genetica clinica oncologica, nelle varie fasi del percorso individuato.

10. Elementi indispensabili del consenso informato

Il test BRCA a fini prognostici e predittivi di risposta alle terapie può essere prescritto dal genetista, dall'oncologo e dall'urologo con competenze oncologiche, che diventano responsabili anche di informare adeguatamente il paziente sugli aspetti genetici collegati ai risultati.

Le informazioni da dare al paziente dovranno riguardare i potenziali benefici in termini prognostici e terapeutici, insieme alla possibilità di rilevare una eventuale condizione di alto rischio per lo sviluppo di un altro tumore per sé stessi e per i propri familiari, di accedere ad analisi in grado di accertare la presenza di una predisposizione alla insorgenza di tumori. I tempi e le modalità di acquisizione del consenso all'esecuzione del test genetico dovranno essere rispettosi delle volontà del paziente, con disponibilità ad approfondire tutti i diversi aspetti prima della decisione, come ad esempio la scelta di comunicare o meno l'esito del test ad altri familiari.

Si richiede ai medici prescrittori del test *BRCA* di utilizzare un adeguato protocollo di comunicazione e raccolta del consenso scritto, attraverso la definizione di appositi moduli informativi e di consenso informato. È necessario per gli oncologi ed urologi con competenze oncologiche che non hanno una specifica esperienza in genetica oncologica eseguire un percorso formativo che includa anche gli aspetti etici del test *BRCA*. Inoltre, nell'ambito di un percorso assistenziale andrà individuata un'équipe di genetica clinica oncologica cui fare riferimento qualora siano indicati o richiesti dal paziente approfondimenti sugli aspetti genetici, prima della decisione di sottoporsi o meno al test e per i casi che presentano particolari problematiche.

11. Bibliografia

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J. Clin.* 2020; 70:7-30.
2. AIOM-AIRTUM. I numeri del cancro in Italia. Brescia: Intermedia Editore; 2020.
3. Auvinen A, Moss SM, Tammela TLJ, et al. Absolute effect of prostate cancer screening: balance of benefits and harms by center within the European Randomized Study of Prostate Cancer Screening. *Clin Cancer Res.* 2016;22(1):243-9.
4. Shaneyfelt T, Husein R, Bubley G, Mantzoros CS. Hormonal predictors of prostate cancer: a meta-analysis. *J Clin Oncol* 2000; 18(4): 847-53.
5. Hemminki K. Familial risk and familial survival in prostate cancer. *World J Urol* 2012;30:143-8
6. Montie JE. Observations on the epidemiology and natural history of prostate cancer. *Urology*1994; 44(16): 2-8.
7. Eeles R, Goh C, Castro E, et al: The genetic epidemiology of prostate cancer and its clinical implications. *Nat Rev Urol.* 2014; 11:18-31.
8. Cortesi L, Domati F, Guida A, et al. BRCA mutation rate and characteristics of prostate tumor in breast and ovarian cancer families: analysis of 6,591 Italian pedigrees. *Cancer Biol Med* 2021. doi: 10.20892/j.issn.2095-3941.2020.0481
9. Pritchard CC, Mateo J, Walsh MF, et al. Inherited DNA-repair gene mutations in men with metastatic prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* 2016; 375:443-53.
10. Cancer Genome Atlas Research Network. The molecular taxonomy of primary prostate cancer. *Cell.* 2015; 63:1011-25.
11. Armenia J, Wankowicz SAM, Liu D, et al. The long tail of oncogenic drivers in prostate cancer. *Nat. Genet.* 2018; 50:645-51.
12. Castro E, Romero-Laorden N, Del Pozo A, et al. PROREPAIR-B: a prospective cohort study of the impact of germline DNA repair mutations on the outcomes of patients with metastatic castration-resistant prostate cancer. *J. Clin. Oncol.* 2019; 37:490-503.
13. Castro E, Goh C, Olmos D, et al. Germline BRCA mutations are associated with higher risk of nodal involvement, distant metastasis, and poor survival outcomes in prostate cancer. *J. Clin. Oncol.* 2013; 31:1748-57.
14. de Bono J, Mateo J, Fizazi K, et al. Olaparib for metastatic castration-resistant prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* 2020; 383:891.
15. de Bono JS, Fizazi K, Saad F, et al. Central, prospective detection of homologous recombination repair gene mutations (HRRm) in tumour tissue from >4000 men with metastatic castration resistant prostate cancer (mCRPC) screened for the PROfound study. *Ann. Oncol.* 2019; 30:v325–v355.
16. Prostate cancer, version 3.2020, NCCN clinical practice guidelines in oncology. *J. Natl. Compr. Canc. Netw.* 2020.
17. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/lynparza-epar-product-information_it.pdf
18. Hussain M, Corcoran C, Sibilla C, Fizazi K, Saad F, Shore N, et al. Tumor Genomic Testing for >4,000 Men with Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer in the Phase III Trial PROfound (Olaparib). *Clin Cancer Res.* 2022 Apr 14;28(8):1518-1530.
19. Castro E, Goh C, Leongamornlert D, et al. Effect of BRCA mutations on metastatic relapse and cause-specific survival after radical treatment for localised prostate cancer. *Eur. Urol.* 2015; 68:186-93.
20. Carter HB, Helfand B, Mamawala M, et al. Germline mutations in ATM and BRCA1/2 are associated with grade reclassification in men on active surveillance for prostate cancer. *Eur. Urol.* 2019; 75:743-9.
21. Trujillo B, Wu A, Wetterskog D, Attard G. Blood-based liquid biopsies for prostate cancer: clinical opportunities and challenges. *Br. J. Cancer.* 2022 Nov;127(8):1394-1402

22. Conteduca V, Oromendia C, Eng KW, Bareja R, Sigouros M, Molina A, et al. Clinical features of neuroendocrine prostate cancer. *Eur J Cancer* 2019; 121:7-18.
23. Cheng HH, Pritchard CC, Boyd T, Nelson PS, Montgomery B. Biallelic inactivation of BRCA2 in platinum-sensitive metastatic castration-resistant prostate cancer. *Eur. Urol.* 2016; 69:992-5.
24. Pomerantz MM, Spisak S, Jia L, et al. The association between germline BRCA2 variants and sensitivity to platinum-based chemotherapy among men with metastatic prostate cancer. *Cancer* 2017; 123:3532-9.
25. Hussain M, Mateo J, Fizazi K, et al. Survival with Olaparib in Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *N Engl J Med.* 2020; 383: 2345-2357.
26. Smith MR, Sandhu SK, Kelly WK, et al. LBA50Pre-specified interim analysis of GALAHAD: a phase II study of niraparib in patients (pts) with metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC) and biallelic DNA-repair gene defects (DRD). *Ann. Oncol.* 2019; 30: v851–v934.
27. Abida W, Campbell D, Patnaik A, et al. Non-BRCA DNA damage repair gene alterations and response to the PARP inhibitor rucaparib in metastatic castration-resistant prostate cancer: analysis from the phase 2 TRITON2 study. *Clin Cancer Res.* 2020; 26:2487-96.
28. Chi KN, Barnicle A, Sibilla C, Lai Z, Corcoran C, Barrett JC, et al. Detection of BRCA1, BRCA2, and ATM Alterations in Matched Tumor Tissue and Circulating Tumor DNA in Patients with Prostate Cancer Screened in PROfound. *Clin Cancer Res.* 2023 Jan 4;29(1):81-91.
29. Loehr A, Patnaik A, Campbell D, Shapiro J, Bryce AH, McDermott R, et al. Response to Rucaparib in BRCA-Mutant Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer Identified by Genomic Testing in the TRITON2 Study. *Clin Cancer Res.* 2021 Dec 15;27(24):6677-6686.
30. Tukachinsky H, Madison RW, Chung JH, Gjoerup OV, Severson EA, Dennis L, et al. Genomic Analysis of Circulating Tumor DNA in 3,334 Patients with Advanced Prostate Cancer Identifies Targetable BRCA Alterations and AR Resistance Mechanisms. *Clin Cancer Res.* 2021 Jun 1;27(11):3094-3105.
31. Chan HT, Chin YM, Nakamura Y, Low SK. Clonal Hematopoiesis in Liquid Biopsy: From Biological Noise to Valuable Clinical Implications. *Cancers (Basel).* 2020 Aug 14;12(8):2277.
32. Matsubara N, de Bono J, Olmos D, Procopio G, Kawakami S, Ürün Y, et al. Olaparib Efficacy in Patients with Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer and BRCA1, BRCA2, or ATM Alterations Identified by Testing Circulating Tumor DNA. *Clin Cancer Res.* 2023;29:92-9.
33. Parker C, Castro E, Fizazi K, et al. Prostate cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2020; 31(9):1119-34.
34. Capoluongo E, Ellison G, López-Guerrero JA, et al. Guidance Statement On BRCA1/2 Tumor Testing in Ovarian Cancer Patients *Semin. Oncol.* 2017; 44:187-197.
35. Richards S, Aziz N, Bale S, et al.; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015; 17(5):405-24
36. ENIGMA. <https://enigmaconsortium.org/>
37. Plon SE, Eccles DM, Easton D, et al. Sequence variant classification and reporting: recommendations for improving the interpretation of cancer susceptibility genetic test results. *Hum. Mutat.* 2008; 29:1282-1291
38. Claustres M, Kožich V, Dequeker E, et al. Recommendations for reporting results of diagnostic genetic testing (biochemical, cytogenetic and molecular genetics). *Eur J Hum Genet* 2014; 22: 160-70
39. Wallis Y, Payne S, McAnulty C et al. Practice guidelines for the evaluation of pathogenicity and the reporting of sequence variants in clinical molecular genetics ACGS/VGKL. www.acgs.uk.com/media/774853/evaluation_and_reporting_of_sequence_variants_bpgs_june_2013_-_finalpdf.pdf