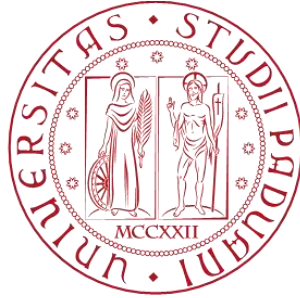


Università degli Studi di Padova
Corso di Laurea Magistrale in Medicina e
Chirurgia



Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino

Direttore: Ch.mo Prof. Eugenio Baraldi

CLINICA GINECOLOGICA E OSTETRICA

Direttore: Ch.mo Prof. Roberto Tozzi

**MENOPAUSA CHIRURGICA IN DONNE BRCA
MUTATE: ASPETTI METABOLICI E IMPATTO
SULLA QUALITA' DI VITA**

Relatore:

Prof. Carlo Saccardi

Correlatore:

Dott. Mattia Zambon

Laureanda: Teresa Petrone

Matricola: 1177194

Indice

RIASSUNTO	1
ABSTRACT	3
1. INTRODUZIONE.....	5
1.1. Mutazione BRCA 1 e 2	5
1.1.1. Epidemiologia.....	5
1.1.2. Ereditarietà.....	6
1.1.3. BRCA1 e BRCA2 nella ricombinazione omologa e accenno ai loro altri ruoli	7
1.1.4. Rischio di carcinoma.....	10
1.1.5. Ruolo del BRCA1/2 nella carcinogenesi del tumore al seno e all'ovaio	11
1.1.6. Mutazioni identificabili di BRCA	13
1.1.6.1. Varianti patogeniche o "likely pathogenic"	14
1.1.6.2. Varianti ad incerto significato	14
1.1.6.3. Varianti non patogeniche	14
2.3. Pazienti BRCA con cancro ovarico	15
2.3.1. Introduzione e accenno alla patologia	15
2.3.2. Test in pazienti che presentano patologia ovarica	15
2.3.3. Implicazioni terapeutiche di mutazioni germinali di BRCA1/2.....	16
2.3.4. Prognosi.....	19
2.3.4.1. PFS.....	19
2.3.4.2. OS.....	19
2.3.5. BRCA somatico	20
2.3.6. Altre HRD.....	20
2.4. Ruolo del BRCA in pazienti senza storia personale di cancro	21
2.4.1. Assesment del rischio tumorale.....	21

2.4.2.	Screening e test genetico	22
2.4.3.	Counseling e pianificazione familiare.....	23
2.5.	Strategie preventive	25
2.5.1.	Prevenzione carcinoma mammario	25
2.5.2.	Prevenzione carcinoma ovarico	26
2.5.2.1.	Sorveglianza	26
2.5.2.2.	Trattamento chemioprolattico	27
2.5.2.3.	Risk reducing surgery	27
2.6.	Risk reducing surgery	28
2.6.1.	Vantaggi.....	28
2.6.2.	Possibile riscontro di tumore ovarico dopo annessiectomia	28
2.6.3.	Rischio neoplastico residuo.....	29
2.6.4.	Menopausa fisiologica e chirurgica a confronto	29
2.6.4.1.	Sintomi vasomotori.....	30
2.6.4.2.	Sintomi genitourinari	31
2.6.4.3.	Disturbi del sonno, psicologici e cognitivi.....	32
2.6.4.4.	Conseguenze cardiovascolari.....	33
2.6.4.5.	Conseguenze sulla densità ossea.....	34
2.7.	Terapia ormonale	35
2.7.1.	Effetti sui sintomi della menopausa chirurgica.....	35
2.7.2.	Pro e contro.....	36
2.	SCOPO DELLO STUDIO.....	38
3.	MATERIALI E METODI	40
4.	RISULTATI.....	43
5.	DISCUSSIONE.....	48
6.	BIBLIOGRAFIA.....	54

RIASSUNTO

Presupposti dello studio

La scoperta della mutazione dei geni BRCA 1 e BRCA 2, correlata a soprattutto al cancro della mammella e dell'ovaio, ha reso necessaria l'individuazione di percorsi terapeutici dedicati per le pazienti.

Per quanto riguarda il tumore ovarico legato a BRCA1 o BRCA2, è stata consigliata una sorveglianza semestrale, e a partire dai 35 anni di età per il BRCA1 e i 40 anni di età per il BRCA2, è consigliata l'annessiectomia bilaterale profilattica.

L'annessiectomia bilaterale profilattica è un ottimo strumento preventivo, abbattendo più del 80-96% il rischio di tumore ovarico, ma non è esente da complicanze.

Comporta infatti una menopausa chirurgica precoce che può avere importanti effetti sulla qualità di vita.

Obiettivi dello studio

Valutare gli effetti della menopausa iatrogena dovuta alla annesiectomia profilattica, analizzandone i segni e i sintomi.

Materiali e metodi

Sono state selezionate le pazienti portatrici di mutazione BRCA1 o BRCA2 di età inferiore o uguale a 50 anni, sottoposte tra l'anno 2007 e l'anno 2022 ad annesiectomia profilattica e in follow-up presso la Clinica Ginecologica Azienda Ospedale Università di Padova e/o l'Ambulatorio Tumori Ereditari dell'Istituto Oncologico Veneto.

Della menopausa chirurgica sono stati valutati i dati relativi agli aspetti metabolici: densità ossea, ipercolesterolemia, pressione arteriosa, glicemia a digiuno; si sono indagati i sintomi soggettivi legati alla menopausa.

Infine, si è valutato l'utilizzo della terapia ormonale sostitutiva.

Risultati

40.5% delle pazienti lamentava sintomi vasomotori, 21.6% disturbi della memoria, 23% disturbi dell'umore, 5.4% una sensazione di offuscamento della memoria e 25.7% presentava sindrome genitourinaria.

Per quanto riguarda la diminuzione di densità ossea, 29 (39.2%) delle pazienti presentava osteopenia e 12 (16.2%) osteoporosi.

Inoltre, solo 8% delle pazienti utilizzava la TOS dall'inizio.

Conclusioni

I sintomi correlati alla menopausa chirurgica si sono dimostrati inficiare in maniera importante la qualità di vita e il metabolismo osseo delle pazienti sottoposte ad annessiectomia bilaterale profilattica.

La TOS se eseguita nell'immediato post-chirurgico, in pazienti che non presentavano controindicazioni alla stessa, si è rivelata più utile nel gestire e migliorare i sintomi soggettivi e della salute ossea rispetto a non utilizzarla o all'utilizzarla dopo lo sviluppo dei sintomi stessi.

Dunque, affiancare al follow-up oncologico la terapia ormonale sostitutiva, potrebbe essere un modo per migliorare la qualità di vita per queste pazienti.

ABSTRACT

Background

BRCA genes are associated to a higher risk of developing breast and ovarian cancer.

Therefore, it is important to identify and screen women affected by a pathological variant of these genes.

For ovarian cancer linked to BRCA1 or BRCA2, it's suggested a screening every six months, and risk reducing prophylactic bilateral oophorectomy is recommended from the age of 35 for BRCA1 and 40 for BRCA2,

Prophylactic bilateral oophorectomy is an excellent preventive tool, reducing the risk of ovarian cancer by 80-96%, but it leads to some complications.

In fact, it involves an early surgical menopause which can have effects on the quality of life.

Aim

To evaluate the effects of surgical menopause due to prophylactic oophorectomy, analyzing its consequences on the quality of life.

Materials and methods

The chosen population included patients 50 years old or younger, carrying BRCA mutations, who underwent prophylactic adnexectomy between 2007 and 2022 and were undergoing a follow-up at the Clinica Ginecologica Azienda Ospedale Università di Padova and/or at the Ambulatorio Tumori Ereditari of Istituto Oncologico Veneto.

The data relating to the metabolic aspects of surgical menopause were evaluated: bone density, hypercholesterolemia, blood pressure, fasting blood sugar; the subjective symptoms related to menopause were investigated.

Finally, the use of hormone replacement therapy was evaluated.

Results

40.5% of the patients complained of vasomotor symptoms, 21.6% insomnia, 23% mood disturbances, 5.4% a feeling of “mind fog” and 25.7% presented with genitourinary syndrome.

Moreover, 29 (39.2%) of the patients was experiencing osteopenia and 12 (16.2%) was suffering from osteoporosis.

Furthermore, only 8% of patients were using HRT from the start.

Conclusions

Symptoms related to surgical menopause often affect the quality of life of patients undergoing prophylactic bilateral oophorectomy.

The use of HRT was shown to be more effective if started immediately after the surgery, bettering the subjective symptoms and the bone health.

Therefore, using the HRT together with the oncological follow-up, might better the quality of life of patients undergoing RRSBO in pre-menopausal period.

1. INTRODUZIONE

1.1. Mutazione BRCA 1 e 2

Il National Cancer Institute definisce come “Hereditary breast and ovarian cancer (HBOC)” il disordine ereditario per cui il rischio di cancro alla mammella e carcinoma ovarico è aumentato rispetto alla norma, soprattutto prima dei 50 anni. [1]

Circa il 5-10% dei tumori al seno e del carcinoma ovarico sono ereditari e circa 30-50% di questi sono dovuti a mutazioni autosomiche dominanti a carico dei geni BRCA1 e BRCA2. [2]

1.1.1. Epidemiologia

La prevalenza nella popolazione di mutazioni BRCA1/2 è stimata essere tra 1/400 e 1/800, ma varia in dipendenza all’etnia. [3]

Infatti, la prevalenza di mutazioni ai geni BRCA1 e BRCA2 è maggiore in alcune popolazioni a cause dell’effetto del fondatore. [4]

In particolare, possiamo trovare una aumentata prevalenza:

- Negli ebrei Ashkenazi, popolazione che presenta ben tre mutazioni secondo l’effetto del fondatore, la mutazione BRCA1-185delAG si trova nell’ 1% dei casi e contribuisce al 16%–20% dei tumori al seno diagnosticati prima dei 50 anni. Le altre due mutazioni sono BRCA1-5382insC si trova nello 0.13% della popolazione, mentre la terza (6174delT in the BRCA2) ha una frequenza del 1.52% ed è responsabile del 8% di tumori al seno diagnosticati prima dei 42 anni e del 7% dei tumori al seno diagnosticati tra i 42 e i 50 anni in pazienti con una storia familiare di tumore al seno o all’ovaio importante. [5]

In Europa, sono presenti molte mutazioni del fondatore in varie popolazioni.

- In Islanda, sono state scoperte due mutazioni, una a carico del gene BRCA1 (*BRCA1 G5193A*), che però è piuttosto rara e non contribuisce in maniera significativa a un aumentato rischio di tumore ovarico, mentre la mutazione a carico del gene BRCA2, *BRCA2 999del5* è presente in 6% dei

casi di carcinoma ovarico in Islanda, ed è associata a una odd-ratio di 20.65 di aumentato rischio della patologia. [6]

- Anche mutazioni in Norvegia, Finlandia, Svezia sono state individuate.
- In Italia, la prevalenza delle mutazioni di BRCA1 e BRCA2 è del 23%, secondo dati dell'“Italian Consortium of Hereditary Breast and Ovarian Cancer”, ma lo screening genetico di 1758 famiglie ha riportato come le mutazioni si esprimono diversamente dipendentemente al tipo di tumore considerato e alla eterogeneità allelica in entrambi i geni. Solo alcune di queste mutazioni sono ricorrenti in alcune aree geografiche. [7]. La mutazione BRCA1-5083del19 è stata maggiormente trovata in donne di origine calabrese, mentre la mutazione BRCA2-8765delAG è legata prevalentemente a famiglie di origine sarda. Infine, la mutazione 1499insA nel BRCA1 è correlata a famiglie provenienti dalla Toscana. Tutte queste mutazioni sono riconducibili ad un effetto del fondatore. [2]

Oltre all'Europa, possiamo osservare l'effetto del fondatore in altre popolazioni, ad esempio:

- Canadesi di origine francese: mutazioni predisponenti in BRCA1, BRCA2, CHEK2 or PALB2 sono presenti in circa 6% delle donne canadesi di origine francesi con un tumore al seno early-onset. [8]
- Popolazione ispanica negli USA sudoccidentali: nove mutazioni ricorrenti rappresentano il 53% delle mutazioni, e la maggior parte sono mutazioni a grande riarrangiamento. Tra queste, BRCA1 ex9-12del sembra essere una mutazione messicana con effetto del fondatore. [9]

1.1.2. Ereditarietà

I biomarker genetici del rischio di tumore possono essere categorizzati da due criteri primari, la penetranza e la frequenza nella popolazione. La penetranza si riferisce alla stima che una specifica condizione, in questo caso il cancro, si verifichi in presenza di uno specifico genotipo, ed esistono bassa, media e alta penetranza. Per quanto riguarda le mutazioni dei geni BRCA1 e BRCA2 sono ad alta penetranza e autosomiche dominanti, sono riscontrabili in tutti i gruppi etnici e razze e si distinguono in mutazioni germinali, di metilazione del promotore, e somatiche.

Le più frequenti mutazioni BRCA1 sono 185delAG (16.5%), 5382insC (8.8%) e l'alterazione missenso C61G (1.8%); invece, per quanto riguarda il BRCA2, le più frequentemente riportate sono 6174delT (9.6%), K3326X (2.6%), 3036del4 (0.9%). [10]

La probabilità che la prole di un individuo affetto da BRCA1 o BRCA2 erediti la variante patogenica è del 50%. [11]

1.1.3. BRCA1 e BRCA2 nella ricombinazione omologa e accenno ai loro altri ruoli

BRCA1 fu scoperto nel 1990, e si localizza nel cromosoma 17q21 vicino al centromero del braccio lungo del cromosoma 17 e presenta 24 esoni.

La proteina codificata è composta da 1863 aminoacidi e presenta un dominio N-terminale RING finger, un dominio C-terminale BRCT e gli esoni 11-13. Il dominio RING finger lega la proteina BARD1 (BRCA1-associated RING domain protein 1), che è strutturalmente simile a BRCA1 e forma un dimero RING E3 ubiquitina ligasi.[10]

Inoltre, il dominio BRCT c-terminale lega delle proteine fosforilate, come ABRAXAS o BRIP1, formando dei complessi BRCA1-A, -B o -C. [12]

BRCA1, oltre alla HRR, ha molte funzioni distinte e si può definire come un caretaker del genoma.[13]

BRCA2 invece fu identificato nel 1995, ed è localizzato nel cromosoma 13 (13q12-13), presenta 27 esoni e codifica per una proteina da 3418 aminoacidi.

Il suo dominio N-terminale contiene il dominio di attivazione della trascrizione (TAD), mentre la parte centrale è codificata dall'esone 11 e contiene 8 motivi conservati chiamati BRC, che legano RAD51.

Il dominio di legame al DNA si trova nella parte C-terminale e consiste in un dominio ad elica, con tre pieghe oligonucleotide-binding (OB), e un dominio a torre (T).

Inoltre, il dominio C-terminale contiene due NLSs (nuclear localization signals) e un TR2 (che lega il RAD51).[14]

RAD51 è un'altra proteina essenziale per la ricombinazione omologa, infatti facilita lo svolgimento del DNA, il suo allungamento e l'invasione del cromatidio fratello. È mantenuto inattivo dal BRCA2.

Una volta rilevato il danno, si lega a BRCA1 tramite PALB2. Successivamente, il filamento RAD51-DNA invade il filamento stampo e cerca le regioni omologhe, che sono poi stabilizzate tramite appaiamento di basi. Infine, RAD51 si disassembla e continua il processo di ricombinazione fino alla legatura del frammento neosintetizzato al filamento danneggiato. [13]

BRCA1 e BRCA2 sono due geni oncosoppressori distinti che hanno un ruolo fondamentale nella risposta allo stress cellulare grazie alla attivazione di processi di riparazione del DNA: sono infatti membri della famiglia di geni riparatori di DSB mediata da ATM (ataxia teleangiectasia mutated). [15]

Inoltre, hanno un ruolo in molti tessuti dove controllano il rimodellamento della cromatina, il controllo della trascrizione, la regolazione del ciclo cellulare e la riparazione del DNA. [16]

I meccanismi di riparazione del DNA mantengono l'integrità genomica e la stabilità del DNA stesso.

I danni al DNA possono essere causati sia da forcelle di replicazione del DNA bloccate o rotte, ma anche da radiazioni ionizzanti, specie reattive dell'ossigeno, o stress fisici o meccanici.

Tutto ciò può portare a un danno di una singola catena (SSBs) o a doppia catena (DSBs).

Per quanto riguarda il meccanismo di riparazione delle DSBs, si individuano due modalità principali.

La cellula utilizza solitamente il meccanismo NHEJ (non homologous end joining), che però può portare a danni ed alterazioni del DNA nel sito di rottura.

Se invece la cellula è in fase S o G2 può essere sfruttato il meccanismo di riparazione con ricombinazione omologa (HRR), che è migliore di NHEJ.

Questo meccanismo sfrutta un cromatidio fratello come template, e BRCA1 e BRCA2 sono attori importanti di questo tipo di riparazione.

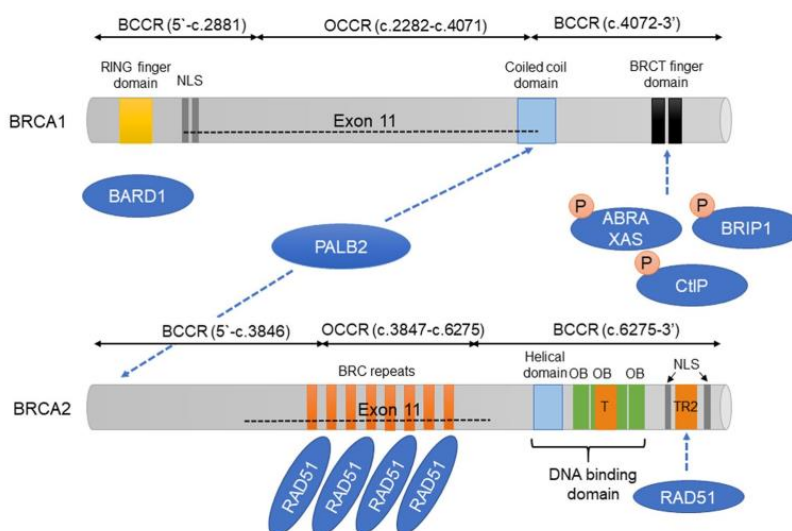
BRCA 1 e BRCA2, infatti, si uniscono in complessi che attivano la riparazione omologa, collegando quindi il mantenimento dell'integrità del genoma con la soppressione dei tumori. [17]

Nell'HRR, BRCA1 agisce prima di BRCA2, reclutando PALB2 che lega successivamente BRCA2.

Se BRCA1 o BRCA2 sono mutati, questo causa una maggior instabilità genomica, portando all'utilizzo maggiore di NHEJ, o dei meccanismi di riparazione a single-strand. [18]

Nella riparazione del danno singolo cromatidio (SSBs) sono implicati altri meccanismi, ad esempio base excision repair (BER) – dove è coinvolto l'enzima PARP - o nucleotide excision repair (NER). [19]

Fig.1: Geni BRCA1 e BRCA2. [20]



Oltre a essere attori fondamentali nella ricombinazione omologa e quindi nella stabilità genomica e cromosomica, vari studi suggeriscono che le proteine BRCA1

e BRCA2 possiedono delle regioni disordinate che le rendono delle proteine “HUB”, e che quindi possono acquisire diverse conformazioni legando diverse macromolecole, e svolgendo diverse funzioni biologiche dipendentemente dalle macromolecole legate. [21]

1.1.4. Rischio di carcinoma

Il rischio cumulativo di sviluppare il tumore al seno all’età di 70 anni va dal 57 al 65% per le donne portatrici di mutazioni patogeniche BRCA1, e dal 45 al 49% per le donne portatrici di mutazioni BRCA2.

Per quanto riguarda il tumore all’ovaio, il rischio cumulativo è del 39-49% per le pazienti con mutazione BRCA1 e del 11-18% per pazienti con mutazione BRCA2. [22]

Nella popolazione generale, il carcinoma ovarico si presenta ad una età media di 63 anni.

La decisione di strategie preventive deve essere analizzata durante la fase riproduttiva della vita della donna e per individui con una storia familiare o personale di tumore al seno e/o all’ovaio è indicato il test genetico per la ricerca di mutazioni germinali dei geni responsabili. [23]

Secondo le linee guida NCCN per il tumore al seno, il test genetico deve essere inizialmente proposto alla persona affetta da patologia, svolgendo un sequenziamento completo della mutazione. Successivamente, una volta trovata la specifica mutazione, i parenti devono essere testati per questa nello specifico. [24]

Mutazioni BRCA sono associate anche ad aumentato rischio di sviluppare altri tipi di neoplasie, in particolare:

- Tumore alla mammella maschile: persone di sesso maschile portatrici di mutazioni BRCA1/2 hanno un rischio maggiore rispetto alla popolazione generale di sviluppare tumore alla mammella, in particolare i portatori di BRCA2. Uno studio ha riportato come rischio cumulativo durante la vita dei pazienti portatori di BRCA2 è di 6.8%, mentre per BRCA1 è di circa 1.2% a 70 anni. [25].

Nella popolazione generale il rischio di tumore al seno nel sesso maschile è di circa 0.1%.

- Peritoneo: il rischio di sviluppare carcinoma primitivo del peritoneo in pazienti con mutazioni BRCA1/2 è di circa 1.3%, soprattutto nella specifica popolazione di ebrei Ashkenazi. (Levine et al., 2003°)
- Tube di Falloppio: circa il 50% dei carcinomi sierosi distali delle tube sono collegati a BRCA1/2. Questo diventa clinicamente significativo, in quanto studi ritengono il carcinoma sieroso intraepiteliale della tuba precursore del carcinoma sieroso ovarico. [27]
- Endometriale: alcuni autori confermano un rischio maggiore di tumore endometriale, in particolare l'istotipo sieroso in BRCA1m, mentre altri studi non supportano questa correlazione. [28]
- Prostata: secondo una review del 2020, l'incidenza di mutazioni germinali dei geni HRD in tumori metastatici prostatici varia tra l'11% e il 33%, ed è significativamente rilevante in comparazione all'incidenza della stessa negli uomini con tumore localizzato. Inoltre, BRCA2 è la mutazione più rappresentata tra tutti i geni HRD (circa 5.3%) [29]
- Pancreas: secondo una review del 2021, l'incidenza delle varianti patogeniche delle mutazioni BRCA1/2 nel tumore pancreatico è di 5%–9%. Inoltre, il rischio relativo e cumulativo dell'incidenza del tumore pancreatico per le varianti patogeniche di BRCA2 è rispettivamente 3.5–10 e 2%–7%, mentre per BRCA1 sono di 2.26 and 1%–3%. [30]
- Infine, è da citare l'implicazione di BRCA1/2 in altri tumori solidi, in particolare:
 - Melanoma: alcuni studi suggeriscono che il melanoma, incluso il melanoma uveale, molto raro nella popolazione generale, ha un rischio di incidenza maggiore nei portatori di mutazioni specifiche di BRCA2, ma non per tutte.

1.1.5. Ruolo del BRCA1/2 nella carcinogenesi del tumore al seno e all'ovaio

Per quanto riguarda il processo di carcinogenesi legato alla presenza di mutazioni patogeniche in BRCA1 e BRCA2, esso si può spiegare tramite il modello di "instabilità cromosomica".

Secondo questo modello, l'inattivazione del BRCA accelera il processo di variazione e selezione genica che conduce la carcinogenesi: infatti i tumori al seno e all'ovaio si sviluppano precocemente rispetto alla popolazione generale.

Mentre la predisposizione al cancro è data dalla presenza di un singolo allele mutato in BRCA1 o BRCA2, la delezione somatica del restante allele wild type (second-hit) è considerata essenziale per la carcinogenesi. Questo fenomeno è detto LOH, o loss of heterozygosity, e si è visto essere presente maggiormente nei tumori con BRCA1 mutato rispetto a BRCA2.[21]

In uno studio di 160 casi di tumore associato alle mutazioni BRCA1/2, LOH è stato studiato in riguardo al tumore alla mammella, ed era presente nel 90% dei casi in BRCA1 e 52% in BRCA2, e nel 93% dei casi nel carcinoma dell'ovaio con mutazione BRCA1, comparato a 84% dei casi in carcinoma dell'ovaio BRCA2 mutato.[31]

Questi risultati suggeriscono la possibilità che o una mutazione in BRCA2 in eterozigosi sia sufficiente alla carcinogenesi, o che la perdita di eterozigosi possa avvenire più avanti nella carcinogenesi legata sempre a BRCA2. [21]

Nonostante alcuni dati suggeriscano che la perdita di eterozigosi non sia necessaria per la cancerogenesi, nella maggior parte dei casi LOH avviene. Inoltre, è da chiarire ancora se la presenza di eterozigosi dell'allele BRCA mutato promuova la LOH o se essa avvenga in maniera casuale. [32]

In ogni caso, la presenza o l'assenza di LOH nei tumori deve essere considerate come un fattore fondamentale per predire gli effetti di alcuni nuovi farmaci, come i PARP inibitori. [1]

Per la cancerogenesi è fondamentale, inoltre, che siano alterati i meccanismi di checkpoint che controllano il ciclo cellulare.

Coerentemente con questo concetto, si è notata una frequenza maggiore di mutazioni in p53 in tumore BRCA mutati. P53, infatti, induce il blocco del ciclo cellulare, permettendo così la riparazione del DNA, o induce addirittura apoptosi, mantenendo l'integrità genomica. [33]

Non tutti i tumori però presentano mutazioni che concernono p53. Ciò suggerisce delle vie alterative di inattivazione dei checkpoint, anche in cui BRCA1 e BRCA2 siano implicati nel controllo dei checkpoint.

A supporto di questa teoria, alcuni studi mostrano la possibilità che BRCA1 agisca come co-attivatore della trascrizione genica mediata da p53, mentre BRCA2 sembra avere un ruolo indiretto nel controllo del ciclo. [34]

Infine, il tropismo tissutale rispetto alla mammella e all'ovaio è da ricercare nella stimolazione ormonale dei tessuti epiteliali di questi due organi. [32]

Più nello specifico, gli estrogeni, legandosi al loro recettore, inducono dei DSBs transienti a causa della topoisomerasi II, seguiti poi dalla riparazione della catena tramite NHEJ.

Durante questo processo vengono però creati degli addotti (TOP2ccs) che vengono poi risolti in un processo che coinvolge il BRCA, in particolare BRCA1 nella fase G1. Dunque, si pensa che, oltre alla ricombinazione omologa e agli altri ruoli visti precedentemente, il BRCA1 possa fare da oncosoppressore anche in relazione alla risposta cellulare agli estrogeni. [35]

1.1.6. Mutazioni identificabili di BRCA

Grazie al test genetico, argomento che verrà discusso in maniera più approfondita nei paragrafi successivi, le mutazioni sono classificate in cinque gruppi, e ogni variante ha diverse implicazioni nella vita e nella gestione clinica delle pazienti. Nella tabella I è possibile osservare la classificazione delle varianti.

Le varianti, soprattutto quelle di incerto significato, possono cambiare gruppo classificativo nel tempo, grazie all'aumento di studi ed evidenze riguardo stesse. [36]

Ogni update delle varianti può essere ricercato in diversi database, tra i quali per esempio ClinVar.

Tab.a I: classificazione delle varianti

Classificazione	Interpretazione
Patogenica	Associata a un rischio di patologia
“likely pathogenic”	Associazione per $\geq 90\%$ a rischio di patologia
“Variant of uncertain significance (VUS)”	I dati disponibili non permettono di classificarla in nessuna delle altre classi
“Likely benign”	Probabilità del $\geq 90\%$ che non sia associata a rischio di malattia
Benigna	Non associata a rischio di patologia

1.1.6.1. Varianti patogeniche o “likely pathogenic”

Attualmente, sono state registrate circa 2900 varianti patogeniche per BRCA1 e più di 3400 di BRCA2. Dal punto di vista molecolare, l'80% delle varianti patogeniche o sospette patogeniche generano dei codoni di stop immaturi, delle proteine tronche e/o riducono la loro espressione tramite nonsense-mediated mRNA decay.[37]

Le pazienti che presentano queste varianti e non hanno ancora sviluppato delle neoplasie sono introdotte a programmi di screening e prevenzione che verranno approfonditi in seguito.

1.1.6.2. Varianti ad incerto significato

Il risultato del test può includere anche delle varianti che hanno un significato incerto, dette VUS (variants of uncertain significance), e le pazienti portatrici di queste varianti non vengono indirizzate agli stessi programmi delle precedenti, ma le raccomandazioni si basano sulla storia personale e familiare. [38]

1.1.6.3. Varianti non patogeniche

Le varianti non patogeniche o “likely non pathogenic” sono considerate come un risultato negativo del test e le pazienti sono rassicurate della benignità della loro situazione.

2.3. Pazienti BRCA con cancro ovarico

2.3.1. Introduzione e accenno alla patologia

Nella popolazione generale, il rischio di sviluppo di tumore alla mammella e all'ovaio nel corso della vita è di rispettivamente circa 10-15% e 1-2%, mentre in pazienti con mutazioni germinali di BRCA1 e BRCA2 si parla rispettivamente di 45-65% e 20-50%. (Antoniou et al., 2003; Easton et al., 1995; Mavaddat et al., 2013; Struewing et al., 1997)[45]

Il carcinoma ovarico correlato a mutazioni germinali del BRCA1/2 si associa a una precoce età di insorgenza rispetto al carcinoma ovarico sporadico senza mutazioni BRCA.

Sia il carcinoma alla mammella e all'ovaio legati a mutazioni BRCA1 e BRCA2 sono tipicamente molto aggressivi, e presentano delle specifiche caratteristiche patologiche che possono guidare a un approccio terapeutico personalizzato. [46], [47]

In particolare, riguardo all'ovaio, mutazioni in BRCA1 sono legate a una incidenza del carcinoma sieroso circa nel 70% dei casi, e nel 55-77% dei casi sono di grado 3. Per quanto riguarda BRCA2 l'incidenza del carcinoma di istotipo sieroso è del 70%, e sempre di grado 3 nel 50-70% dei casi. [1]; mutazioni germinali in BRCA sono anche collegate ad altri istotipi, inclusi endometrioide, a cellule chiare (5-15%) e raramente in carcinosarcomi. [48]

Inoltre, il carcinoma dell'ovaio legato a mutazioni BRCA1/2 presenta più spesso rispetto al carcinoma ovarico sporadico metastasi a livello viscerale, in particolare a livello epatico (circa 70% vs <20% dei casi nello sporadico). [49]

2.3.2. Test in pazienti che presentano patologia ovarica

Tutte le donne a cui viene diagnosticato un carcinoma epiteliale dell'ovaio dovrebbero sottoporsi al test genetico per mutazioni germinali di BRCA1/2 e altri geni di suscettibilità per il carcinoma ovarico.

Se il test per le varianti germinali sarà negativo, bisognerà testare la paziente anche per varianti BRCA1/2 patogeniche o probabilmente patogeniche di origine somatica. [50]

Mutazioni somatiche o germinali in geni per la ricombinazione omologa (compresi BRCA1/2) sono presenti circa in un terzo dei carcinomi ovarici, sia sierosi che non sierosi.

È importante identificare queste mutazioni in quanto il trattamento sarà da esse dipendente in prognosi e tipo di terapia. [51]

Secondo le linee Guida del Carcinoma dell'ovaio del SSN del 2021, le pazienti con carcinoma ovarico, non mucinoso e non borderline, devono essere testate per la ricerca della mutazione BRCA alla diagnosi di malattia.[52]

Inoltre, il test BRCA può essere eseguito sia sul sangue periferico sia sul tessuto tumorale, evidenziando in questo caso sia le varianti ereditarie sia le varianti acquisite per mutazione somatica. In presenza di un test positivo sul tumore va sempre eseguito il test genetico su un campione di sangue per distinguere le mutazioni germline, che rendono necessario il counselling e il test genetico nei familiari, da quelle somatiche. [53]

2.3.3. Implicazioni terapeutiche di mutazioni germinali di BRCA1/2

La terapia chirurgica per pazienti con tumore all'ovaio con mutazioni BRCA1/2 è la stessa per i tumori senza le mutazioni e dipende dallo stadio FIGO del carcinoma dell'ovaio.

2.3.3.1. Chemioterapia

Una caratteristica importante nei tumori con mutazioni germinali BRCA1/2 è la sensibilità alla chemioterapia con il platino, che è il chemioterapico di prima linea per il trattamento adiuvante del carcinoma dell'ovaio.

Insieme al platino, nella terapia di prima linea del carcinoma ovarico, è utilizzato il taxolo.[54]

Dal punto di vista molecolare, il carboplatino agisce legando il DNA e formando dei cross-link intra e inter-filamenti causando danno al DNA; il danno al DNA previene l'avanzare del ciclo cellulare, e induce apoptosi nelle cellule altamente proliferanti, come le cellule tumorali. [55]

Anche il taxolo funziona tramite induzione dell'arresto del ciclo cellulare con un meccanismo diverso, cioè impedendo ai microtubuli di disassemblarsi e induce un arresto acuto del ciclo tra G2 e M quando il sistema di regolazione del ciclo cellulare (in cui ha un ruolo anche BRCA1) è espresso correttamente. [56]

Le pazienti BRCA mutate beneficiano particolarmente del trattamento con il platino, in quanto le mutazioni a questi geni causano instabilità genomica e aumentata sensibilità a danni al DNA.[57]

Il trattamento con taxolo, invece, in particolare paclitaxel, sembra non beneficiare della presenza di mutazioni, in particolare in BRCA1. Questo perché la sua azione dipende dalla presenza di una intatta regolazione del ciclo cellulare, e si è visto nei paragrafi precedenti che BRCA1 agisce direttamente sul controllo del ciclo cellulare.

Le mutazioni a BRCA2 sembrano invece non implicare una diminuita risposta ai taxani, in quanto fisiologicamente BRCA2 è implicato prevalentemente nella ricombinazione omologa.

In ogni caso, non c'è una risposta definitiva rispetto alla chemioterapia con solo taxani in quanto i dati sono limitati. [49]

2.3.3.2. PARPi

Oltre alla chemioterapia, è possibile proporre alle pazienti una terapia di mantenimento con dei farmaci chiamati PARPi, PARP inibitori.

I poly(ADP-ribose) polymerases (PARPs) sono degli enzimi implicati in molti processi fondamentali per le cellule, in particolare nel meccanismo di riparazione BER (base excision repair – nel quale viene sostituita una base per ritornare all'integrità del DNA) per riparare i SSBs (single strand breaks); inoltre, promuovono la ricombinazione omologa (HR) a discapito della NHEJ per la riparazione dei DSBs, e sono implicati in molte funzioni regolatrici, come modificazioni della cromatina o regolazione della trascrizione.[58]

L'assenza di PARP e/o la disfunzione di BER non è letale per la cellula, in quanto in questi casi la cellula upregola altri pathways alternativi, come la ricombinazione omologa (HRR) – in cui sono implicati BRCA1 e BRCA2 - oppure la NEHJ.

Dunque, la SSBs non riparata porta a un blocco della forcella replicativa che a sua volta implica la creazione di DSBs (double strand breaks) che dovranno essere riparati tramite HR o NEHJ. [59]

Il funzionamento dei PARPi in cellule BRCA1/2 mutate – o anche con mutazioni HRD - si basa sul concetto di “letalità sintetica”, inizialmente studiato sulla drosofila, che implica che una serie di deficienze in più geni porta alla morte cellulare, ma se fosse solo uno di essi ad essere mutato, la morte non avverrebbe. [60]

Perciò, nelle cellule che non presentano doppia omozigosi dei geni mutati BRCA1/2, i PARPi non hanno effetti letali. Invece, nelle cellule che presentano mutazioni nel complesso enzimatico responsabile per la ricombinazione omologa, in questo caso BRCA1 o BRCA2, si avrà una impossibilità di riparare il DNA che condurrà dunque a citotossicità che sarà letale.[49]

Vari studi suggeriscono che gli inibitori di PARP possano funzionare in diversi modi: in primis, si legano all'enzima PARP1 a livello della cromatina intrappolandolo, rendendo necessaria l'attivazione della ricombinazione omologa per riparare il processo. In altri casi, l'inibizione di PARP provoca una maggior promozione della via di NHEJ (legata all'assenza di BRCA1 o BRCA2 in cellule con mutazioni) che a sua volta può avere effetti tumoricidi, essendo una via error-prone e comportando un accumulo di mutazioni che conducono alla morte cellulare. [61]

Indipendentemente dalla via biologica specifica rispetto al loro funzionamento, clinicamente l'uso dei PARPi si è dimostrato efficace nei tumori dell'ovaio con mutazioni germinali BRCA1/2. [49]

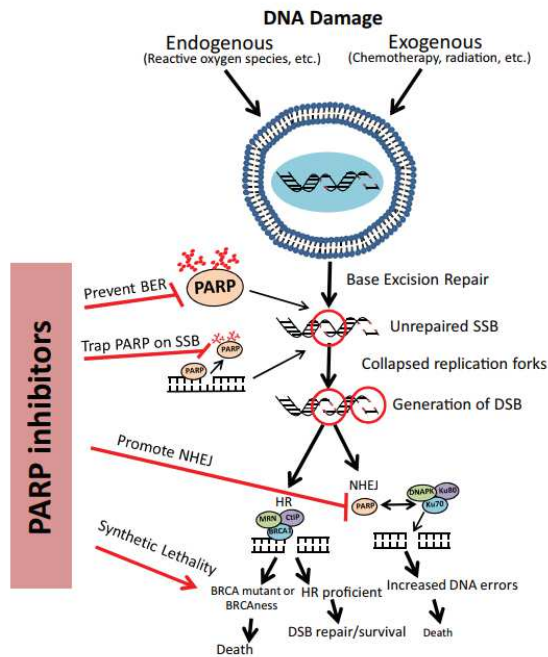


Fig.2: Funzionamento PARPi.[62]

2.3.4. Prognosi

Per quanto riguarda la prognosi, distinguiamo PFS, ovvero il periodo di tempo senza progressione della patologia, e l'overall survival (OS), che indica invece la sopravvivenza globale.

2.3.4.1. PFS

Molti studi hanno messo in comparazione gruppi di pazienti con carcinoma ovarico legato mutazioni BRCA1/2 e pazienti con carcinoma ovarico che presentano BRCA1/2 wild-type.

Da questi si evince chiaramente che il carcinoma ovarico associato a mutazioni BRCA sia legato a un maggior PFS rispetto al gruppo di pazienti BRCA wild-type.[63]

Anche una recente metanalisi di più di 18000 pazienti con tumore ovarico ha riportato un maggior PFS per i tumori BRCA1 o 2 mutati. [64]

2.3.4.2. OS

Mutazioni ai geni BRCA1 e 2 sono correlate a maggior sopravvivenza globale rispetto a tumore ovarico BRCA wild-type. [65]

Inoltre, mentre entrambe le mutazioni sono correlate a una maggior sopravvivenza a breve termine, le pazienti con mutazioni BRCA2 sembrano essere soggette a una sopravvivenza generale anche a lungo termine.[66]

Apparentemente, queste differenze, sia nel PFS che nel OS sono dovute alla maggior sensibilità al platino e alla possibilità di utilizzo dei PARPi – in particolare Olaparib. [67]

2.3.5. BRCA somatico

Mutazioni somatiche in BRCA coinvolgono circa il 5-7% dei casi di carcinoma ovarico.

Similmente alle mutazioni germinali, dal punto di vista prognostico questo tipo di mutazione comporta un maggior PFS, ma non un aumento significativo per quanto riguarda l'overall survival.

Il maggior PFS è legato alla possibilità di utilizzo anche in questo caso di PARPi, in particolare Olaparib. [48]

2.3.6. Altre HRD

Molti studi hanno condotto alla definizione di fenotipo “BRCAness” le situazioni in cui è presente una mutazione nel complesso della riparazione con ricombinazione omologa che non coinvolga BRCA1 o BRCA2.

HRD (homologous recombination deficiency), che è da preferire al termine “BRCAness”, è causa di instabilità genomica e comporta cancerogenesi. [48]

Si stima che circa il 50-60% dei carcinomi ovarici sierosi ad alto grado presentino HRD, e fino al 30% di tutti i tumori ovarici.

Come si è già visto, difetti nella ricombinazione omologa comportano un maggior utilizzo da parte della cellula di NHEJ o di metodi di riparazione per SSBs, che sono error-prone e possono comportare instabilità genomica e a lungo andare carcinogenesi e progressione della stessa.

Il deficit di ricombinazione omologa HR (HRD) è stato osservato non soltanto nelle pazienti con carcinoma ovarico con mutazioni germline o somatica di BRCA1 o BRCA2, ma anche in quelle con silenziamento epigenetico di BRCA1, o perdita di funzione di altri geni, quali RAD51, ataxia telangiectasia mutated protein (ATM), ataxia telangiectasia mutated, RAD3 related-protein (ATR), PALB2, geni del Fanconi Anemia Complementation Group [FANC], EMSY, BARD, BRIP... [68]

I geni infatti maggiormente coinvolti, oltre a BRCA1/2, sono RAD51C/D, PALB2, ATM, H2AX, MRE11, RPA, BRIP1, BARD1, RAD51, e i geni dell'anemia di Fanconi.

Per l'identificazione di queste mutazioni, possono essere utilizzati alcuni clinical-grade assay che cercano delle "genomic scar", cicatrici genomiche, che riflettono l'instabilità genomica sottostante. [69]

Come biomarkers, i geni coinvolti nell'HRD sono sia fattori predittivi che prognostici.

Si è visto infatti che HRD può essere identificato come un biomarker predittivo per la risposta ai PARPi nel tumore ovarico.

Inoltre, in carcinoma ovarico in stadio avanzato da poco diagnosticati, la presenza di HRD è associata a una maggior PFS (progression-free survival) rispetto all'assenza di essa.[70]

2.4. Ruolo del BRCA in pazienti senza storia personale di cancro

2.4.1. Assesment del rischio tumorale

Prima di effettuare il test genetico, è di fondamentale importanza, per quanto possibile, stimare il rischio di sviluppare il tumore in maniera corretta e personalizzata, tenendo conto non solo del gene e della rispettiva variante identificata, ma anche di altri fattori di rischio individuali, sia non genetici (come l'età, la storia riproduttiva) che genetici.

Secondo le raccomandazioni del United States Preventive Services Task Force, donne con una storia personale o familiare di tumore al seno, ovarico, tubale, o peritoneale che hanno delle ascendenze associate con BRCA1 o BRCA2, dovrebbero sottoporsi a una stima del rischio.[71]

Il rischio di sviluppo di tumore al seno e/o all'ovaio può essere calcolato tramite diversi modelli matematici che incorporano diverse variabili. [72]

Tra questi:

- Gail
- Claus
- BRCAPro

- Tyrer-Cuzick/IBIS
- CanRisk

Molti strumenti matematici basano il rischio sulle mutazioni BRCA1/2, mentre il modello CanRisk (<https://www.canrisk.org/>) basa la misurazione del rischio anche su altre potenziali mutazioni genetiche e non genetiche. [73]

2.4.2. Screening e test genetico

[Per parente stretto si intendono parenti di primo, secondo o terzo grado].

Il test genetico per indagare le mutazioni patogene BRCA1/2 è suggerito in particolari situazioni secondo le linee guide del National Comprehensive Cancer Network (NCCN):

- Individui provenienti da una famiglia con una mutazione genetica conosciuta BRCA1/2
- Storia personale di cancro al seno se:
 - Diagnostico ai 45 anni o prima
 - Diagnostico ai 50 anni o prima con uno o più dei seguenti: un addizionale tumore al seno primario, un parente stretto con tumore al seno a qualsiasi età, un parente con tumore pancreatico o prostatico, o storia familiare sconosciuta o limitata
 - Diagnostico a 60 anni o prima se il tumore è triplo negativo
 - Diagnostico a qualsiasi età con uno dei seguenti fattori: 1 parente stretto con tumore al seno diagnosticato sotto o ai 50 anni, due parenti stretti con diagnosi di tumore al seno a qualsiasi età, un parente stretto con tumore ovarico, 2 parenti stretti con tumore alla prostata o pancreas a qualsiasi età
 - Un parente maschio stretto con carcinoma alla mammella
 - Etnia ad alto rischio di mutazione (ebrei ashkenazi).
- Storia personale di tumore all'ovaio
- Storia personale di carcinoma alla mammella nel maschio
- Storia personale di tumore pancreatico esocrino a ogni età
- Storia personale di tumore prostatico (Gleason score ≥ 7) a qualsiasi età se:

- metastatico, di istologia intraduttale/cribriforme, in un gruppo ad alto o molto alto rischio.
 - Appartenente ad altri gruppi di rischi NCCN: ebrei ashkenazi, o ≥ 1 parente stretto con tumore al seno sotto i 50 anni, o ovarico, pancreatico, metastatico, o intraduttale/cribriforme tumore prostatico a qualsiasi età, o ≥ 2 parenti stretti con o tumore al seno o prostatico a qualsiasi età.
- Storia personale di carcinoma pancreatico e discendenza da ebrei Ashkenazi
 - Mutazioni patogeniche BRCA1/2 trovate nella profilazione tumorale
 - In base alla storia familiare (e membro familiare affetto impossibilitato al test):
 - Se un parente di primo o secondo grado con qualsiasi dei criteri citati precedentemente,
 - O se un individuo malato o meno che non rientra nei criteri precedenti ma presenta una probabilità $\geq 5\%$ di una patogenicità BRCA1 o 2 basandosi su dei modelli probabilistici effettuati in precedenza (Tyrer-Cuzick, BTCAPro, CanRisk). [74]

Un counseling genetico tenuto da professionisti è raccomandato prima e dopo il test genetico condotto per ragioni preventive.

Le informazioni date alle pazienti o ai pazienti dovrebbero includere le implicazioni cliniche di un risultato positivo (varianti patogeniche), negativo o non informativo. [75]

2.4.3. Counseling e pianificazione familiare

Dopo il test genetico, le pazienti portatrici di mutazioni BRCA1 o 2 patogeniche senza storia personale di tumore, sono soggette a un importante ed esteso counseling che deve riguardare sia il rischio di tumore, le opzioni di screening e le eventuali chirurgie preventive, ma anche suggerimenti sullo stile di vita, supporto psicologico e aiuto nella pianificazione riproduttiva. [74]

Il counseling inoltre deve riguardare le implicazioni familiari, identificando i familiari che devono essere informati e ai quali deve essere suggerito di sottoporsi al test genetico.[76]

Per quanto riguarda la pianificazione familiare, le pazienti con mutazioni BRCA 1/2 presentano una minor finestra riproduttiva rispetto alle pazienti non mutate, a causa di una possibile diagnosi di tumore in giovane età e successivo trattamento (chemiotherapy induced amenorrea – CIA – è frequente, dipendentemente l'età della paziente e il regime terapeutico utilizzato), oppure a causa dell'intervento profilattico di annessiectomia bilaterale. [77]

Inoltre, alcune evidenze suggeriscono che pazienti BRCA1/2 mutate abbiano una diminuita riserva ovarica e siano soggette a menopausa prematura. [78]

Una review del 2018 ha constatato che le conoscenze al momento non permettono di creare una gestione clinica standard per la preservazione della fertilità nelle pazienti sane portatrici di BRCA1 o 2 mutato che vogliono sottoporsi ad annessiectomia profilattica bilaterale.

Però, le varie possibilità devono essere discusse con le pazienti.

Misurazioni sieriche dell'AMH (antimullerian hormone) e una conta dei follicoli antrali può essere offerta per meglio inquadrare la riserva ovarica effettiva.

La crioconservazione della corteccia ovarica non è raccomandata in quanto esiste il rischio di tumore ovarico sulla stessa. [77]

Invece, può essere proposte la crioconservazione degli ovociti in pazienti giovani (<40 anni) che si sottopongono alla chirurgia profilattica. [79]

A queste pazienti, possono essere proposte delle strategie per evitare la trasmissione del gene mutato alla prole.

Può essere suggerita la diagnosi prenatale (PND), o anche diagnosi genetica preimpianto (PGD). [77]

2.5. Strategie preventive

2.5.1. Prevenzione carcinoma mammario

NCCN (National Comprehensive Cancer Network) consiglia la mastectomia bilaterale profilattica nelle pazienti portatrici di mutazioni BRCA1/2. [80]

Sia studi retrospettivi che prospettici indicano l'efficacia fino al 90% della mastectomia bilaterale nel prevenire il tumore al seno legato a mutazioni BRCA1/2.[81]

Inoltre, un largo studio prospettico che ha coinvolto più di 2000 pazienti, ha comparato pazienti che si erano sottoposte a mastectomia bilaterale profilattica con pazienti che invece non avevano fatto l'intervento, e lo sviluppo del tumore al seno è stato pari a zero nel primo gruppo, mentre circa 7% nel secondo gruppo. [82]

In alternativa, è possibile sottoporre le pazienti a uno screening efficace.

Secondo le linee guida del NCCN, le pazienti portatrici di varianti patogeniche o probabilmente patogeniche di BRCA possono seguire il seguente schema di screening:

- Auto sorveglianza a partire dai 18 anni
- Esaminazione clinica a partire dai 25 anni ogni 6-12 mesi.
- Screening:
 - Dai 25 ai 29 anni, o basata sulla storia familiare se la diagnosi di tumore al seno è avvenuta prima dei 30 anni, è consigliata un RMN con mezzo di contrasto (o mammografia con considerazione di tomosintesi se la RMN non è disponibile) annuale.
 - Tra i 30 e i 75 anni sono consigliate annualmente sia RMN e mammografia con considerazione di tomosintesi.
 - Dopo i 75 anni, la gestione della paziente deve essere adeguata alla paziente stessa. [74]

Donne BRCA2 che non presentano diagnosi di tumore al seno possono considerare una strategia chemiopreventiva con Tamoxifene.

Il tamoxifene però è associato con un incremento del rischio di neoplasia maligne all'utero; in questo caso, studi suggeriscono che è da considerare una isterectomia preventiva durante la procedura di annessiectomia bilaterale profilattica, che invece è una strategia chirurgica preventiva per il tumore all'ovaio.

Questa opzione può essere considerata anche in pazienti con mutazioni BRCA1/2 che hanno avuto tumore al seno e sono in terapia adiuvante con Tamoxifene. [28]

2.5.2. Prevenzione carcinoma ovarico

Le varianti patogenetiche o probabilmente patogeniche di BRCA sono responsabili della maggior parte delle sindromi di tumore ereditario alla mammella e all'ovaio. [75]

Per quanto riguarda il carcinoma ovarico, possono essere messe in atto delle strategie di screening e altre preventive. Al momento sono disponibili sorveglianza, chemioprevenzione e la chirurgia profilattica.[83]

2.5.2.1. Sorveglianza

Le linee guida NCCN, ESMO, RCOG e SEOM suggeriscono lo screening in attesa di performare la RRSO o per le pazienti che decidono di non sottoporsi alla chirurgia. [84]

La sorveglianza viene effettuata ogni sei mesi tramite ecografia transvaginale e determinazione del CA-125, iniziando dai 25-30 anni, ovvero 5-10 anni prima rispetto all'età del primo caso di tumore ovarico nella famiglia e/o dall'età in cui può essere offerta l'annessiectomia profilattica bilaterale, e continua fino al momento in cui questa non è performata. [85]

Le più recenti evidenze del UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening rivelano che dopo una mediana di 16.3 anni di follow-up di più di 200.000 partecipanti nello studio considerato, non c'è alcuna riduzione statistica significativa di carcinoma ovarico o tubarico nel gruppo associato allo screening.

La raccomandazione principale quindi per ridurre il rischio di tumore all'ovaio è l'annessiectomia profilattica bilaterale. [86]

2.5.2.2. Trattamento chemioprolattico

L'utilizzo della pillola contraccettiva sembra essere associato a una diminuzione del rischio di carcinoma ovarico di circa 40-60%. [87]

A conferma di ciò, una review del 2020 riporta sette articoli sul rischio di tumore ovarico in pazienti portatrici di mutazioni patogeniche di BRCA 1 o 2, in relazione all'utilizzo della pillola contraccettiva, e tutte e sette riportano una riduzione del rischio e molte anche descrivono una correlazione inversa tra la durata dell'uso di pillola contraccettiva e rischio di tumore ovarico.

Secondo questa review, la contraccezione orale porta a una riduzione del rischio di tumore ovarico, ma rimane comunque elevato.

Dunque, è consigliata l'annessiectomia bilaterale profilattica per la riduzione del 80-96% del rischio. [86]

2.5.2.3. Risk reducing surgery

La "risk-reduction bilateral salpingoophorectomy" (RRBSO) o annessiectomia profilattica bilaterale, è consigliata in due momenti diversi rispetto alla presenza di mutazioni BRCA1 o BRCA2.

Per pazienti con mutazioni patogeniche BRCA1 le linee guida di NCCN consigliano la procedura a partire dai 35-40 anni, mentre per le pazienti BRCA2 è consigliata dai 40-45, in quanto lo sviluppo del carcinoma ovarico in pazienti BRCA2 è ritardato di circa 8-10 rispetto a pazienti BRCA1 mutate. [86]

Oltre alla RRBSO, è ancora dibattuto se consigliare alle pazienti, in particolare portatrici di mutazione BRCA1, l'isterectomia durante la procedura di RRBSO. Questo perché sembra esserci una correlazione tra mutazioni BRCA1 e cancro endometriale, ma la forte associazione è ancora dibattuta. [28]

Non c'è ancora un consensus tra linee guida riguardo l'isterectomia preventiva, ma viene suggerito di discuterne con le pazienti portatrici di BRCA1m. [84]

I vantaggi di una isterectomia concomitante a RRSO dovrebbero anche essere presi in considerazione per la gestione della sintomatologia dei sintomi della menopausa dopo l'operazione. [28]

2.6. Risk reducing surgery

2.6.1. Vantaggi

Nonostante la RRBSO sia un trattamento aggressivo, si è dimostrato nettamente superiore rispetto alla sorveglianza o l'utilizzo della pillola anticoncezionale nella prevenzione del tumore ovarico associato a mutazioni BRCA1/2. [88]

Molti studi hanno confermato l'efficacia di questa procedura, ad esempio:

- Una metanalisi che considera 10 studi ha mostrato una riduzione dell'80% del rischio di tumore ovarico o tubarico dopo la RRBSO. [89]
- In un grande studio prospettico su più di 1000 donne portatrici di mutazioni BRCA1/2, RRSO ha ridotto significativamente il rischio di tumori ginecologici BRCA1 associati dell'85% rispetto allo screening in un periodo di follow-up di tre anni. [90]
- Uno studio osservazionale condotto su 5783 donne portatrici di mutazioni patogeniche BRCA1/2 ha mostrato che RRBSO riduce il rischio di mortalità per tumore ovarico, tubarico o peritoneale dell'80%, e la mortalità del 77%, in particolare riduce la mortalità a tutte le età tra le portatrici di mutazioni BRCA1, ma solo tra i 41 e 60 tra le portatrici di mutazioni BRCA2.[91]

Inoltre, alcuni studi suggeriscono che RRBSO diminuisca il rischio di sviluppare il tumore al seno in pazienti portatrici di mutazioni BRCA1/2 di circa il 42%. [28]

2.6.2. Possibile riscontro di tumore ovarico dopo annessiectomia

Una volta effettuata l'annessiectomia profilattica, è il possibile riscontro di un carcinoma ovarico post-chirurgia.

Uno studio che ha utilizzato un protocollo chirurgico rigoroso con delle meticolose revisioni patologiche dopo RRSO, ha trovato nel 9.1% dei casi un tumore ginecologico occulto nelle pazienti BRCA mutate seguite da un team multidisciplinare.

Lo stesso studio sottolinea l'importanza della tecnica "Fine sectioning" per indagare la presenza di neoplasie occulte alle tube di Falloppio e all'ovaio. [92]

Altri studi mostrano che nel 6-17% dei casi è riscontrato un carcinoma ovarico sieroso ad alto grado dopo la procedura, mentre uno STIC (noninvasive serous tubal intraepithelial carcinoma) è ritrovato in circa 3% dei casi. [93]

In uno studio osservazionale prospettico su 5783 donne portatrici di mutazioni BRCA1/2, la prevalenza di tumore ovarico, tubarico e peritoneale riscontrato durante la procedura era di 1.5% per le donne sotto i 40 anni, e di 3.8% tra i 40 e i 49 anni. [74].

2.6.3. Rischio neoplastico residuo

Dopo la RRSO, rimane la persistenza del rischio di sviluppo di carcinoma peritoneale primitivo, rischio che rimane di circa 3-4% durante la vita della paziente, [88], e sembra direttamente correlato con il ritrovamento di STIC dopo la procedura di RRSBO [93].

Per questo motivo, le donne sottoposte a annessiectomia profilattica continueranno il follow-up post-chirurgia, tramite misurazione del CA-125 e ecografia transvaginale.

2.6.4. Menopausa fisiologica e chirurgica a confronto

La procedura RRSBO provoca alcune importanti conseguenze a lungo termine.

Nonostante l'efficacia della procedura chirurgica nelle pazienti a rischio di carcinoma ovarico per mutazioni BRCA1/2, la rimozione delle ovaie non è raccomandata nella popolazione generale.

Questo perché sottopone le pazienti a una menopausa chirurgica, che implica una diminuzione improvvisa e significativa sia di estrogeni, di progesterone e di androgeni.

Queste donne, quindi saranno più suscettibili a patologie cardiovascolari, sindrome metabolica, osteoporosi e disfunzioni cognitive circa 15/10 anni prima delle donne che vanno incontro a menopausa fisiologica.

Il "Revised Global Consensus Statement on Menopausal Hormone Therapy" del 2016 conferma che le donne che sono soggette a una menopausa spontanea o

iatrogena prima dei 45 anni e in particolare prima dei 40 anni, sono a più alto rischio di patologie cardiovascolare e osteoporosi. [94]

Al contrario, nella menopausa fisiologica, che avviene in una età media di 51 anni, il declino degli ormoni sessuali è graduale, e l'ovaio continua a produrre testosterone e androstenedione per alcuni anni dopo l'inizio della menopausa, e questi ormoni sono poi convertiti perifericamente in estrogeni.[86]

L'annessiectomia profilattica ha mostrato diminuire la preoccupazione di neoplasia ovarica, ma di aumentare disfunzioni sessuali e sintomi vasomotori, mentre la qualità di vita nell'immediato anno dopo l'operazione sembra essere comparabile con la popolazione generale. [95]

Nella menopausa fisiologica ci sono vari sintomi che sono ad essa legata, in particolare possono esserci dei sintomi precoci – sintomi vasomotori, disturbi del sonno, sintomi genitourinari – e conseguenze invece più a lungo termine – aumento del rischio cardiovascolare, perdita di densità ossea.

2.6.4.1. Sintomi vasomotori

Nella menopausa fisiologica le pazienti che hanno esperienza di sintomi vasomotori sono circa l'80%. Per sintomi vasomotori si intendono vampate di calore e sudorazione notturna.

Le donne sottoposte alla menopausa chirurgica sembrano essere affette da sintomi vasomotori più severi rispetto a chi esperienza una menopausa fisiologica. [96]

In uno studio cross-sectional del 2018 che ha incluso circa 200 donne sottoposte ad annesiectomia profilattica prima dei 52 anni, è stata usata una scala MRS (menopausa rating scale) che ha misurato i livelli dei sintomi psicologici, vegetativi e urogenitali, dividendoli in no/little – mild – moderati – severi.

69% delle donne riportava sintomi moderati o severi, con una media di durata di 8 anni dopo l'annessiectomia. 57% delle donne riportavano sintomi severi urogenitali e circa ½ sintomi psicologici e/o somato-vegetativi severi. Secondo lo studio, solo i sintomi psicologici tendono a migliorare nel tempo. [97]

La prevalenza dei sintomi vasomotori in donne che sono state sottoposte a una menopausa chirurgica è stata indagata in uno studio del 2021 che ha comparato 95 donne in stato premenopausa prima della chirurgia e un gruppo di 99 donne che invece continuavano ad avere le ovaie.

Dai risultati dello studio, che ha utilizzato la scala Menopause-Specific QoL Intervention scale a 3 mesi, 6 mesi e 12 mesi, i sintomi vasomotori aumentavano 3 mesi dopo l'intervento ma non peggioravano nei 12 mesi successivi. Inoltre, circa il 60% delle pazienti dello studio erano sottoposte a terapia ormonale dopo l'intervento, ma circa il 40% di questo gruppo non aveva visto miglioramenti significativi con questa. La terapia, quindi, sembra aiutare ma non risolvere questi sintomi, o almeno non ai livelli pre-chirurgia.

A prescindere dalla terapia ormonale, circa l'86% delle pazienti descriveva i sintomi come "mild". [98]

Un altro studio pubblicato nel 2019 che indagava un gruppo di 140 donne BRCAm, dimostrava che donne in stato pre-menopausale prima della chirurgia lamentava un aumento di sintomi vasomotori dopo la chirurgia mentre nelle donne in stato post-menopausale iniziale, il cambiamento non era significativo. L'utilizzo della terapia ormonale ha aiutato nella gestione ma non risolto i sintomi. [99]

2.6.4.2. Sintomi genitourinari

I sintomi genitourinari sono dei sintomi comuni nella menopausa fisiologica legati alla diminuzione di estrogeni.

Questa condizione causa atrofia urogenitale, in particolare secchezza vaginale e irritazione che possono comportare un aumentato rischio di infezione urinaria, incontinenza urinaria, prolasso degli organi pelvici; inoltre è connessa a disfunzioni sessuali come dispareunia, riduzione della libido, difficoltà a raggiungere l'orgasmo. [96]

In uno studio cross-sectional di Tucker et al., donne in premenopausa lamentavano, a seguito della RRSO, una maggior disfunzione sessuale e insoddisfazione con la loro vita sessuale, insieme a un aumento di stress psicologico e diminuzione delle funzionalità emotive (rispettivamente $p=0.020$,

p=0.011, p=0.005 e p=0.052) rispetto alle donne già in menopausa prima dell'operazione. In questi casi, la terapia ormonale aveva ridotto la dispareunia e la severità dei sintomi menopausali come cambiamenti nel desiderio sessuale, secchezza vaginale. [100]

Un altro studio pubblicato nel 2019 ha indagato 140 pazienti BRCA mutate tramite tre questionari prima della chirurgia profilattica RRBSO e tre anni dopo la chirurgia (un questionario sulla storia medica, Menopausal-Specific quality of life intervention e sexual activity questionnaire). Dallo studio si evince che nelle donne che erano in uno stato premenopausale prima della chirurgia, è presente un declino nelle funzioni sessuali (diminuzione del desiderio sessuale, secchezza vaginale e evitamento dell'intimità), ma non nella qualità di vita in generale, mentre nelle donne che già erano in menopausa, aumenta il discomfort sessuale e diminuisce la qualità di vita. In questo caso la terapia ormonale aveva aiutato a mitigare i sintomi ma senza risolverli. [99]

Al posto della terapia ormonale sostitutiva sistemica, terapie locali vaginali, tra cui estrogeni intravaginali a bassa dose, possono essere considerati per gestire i sintomi genitourinari della menopausa in pazienti BTRCA1/2m, e possono migliorare i sintomi di secchezza vaginale, dispareunia, ma anche urgenza urinaria, disuria e infezioni urinarie ricorrenti. [87]

2.6.4.3. Disturbi del sonno, psicologici e cognitivi

Alcuni studi hanno mostrato un aumentato rischio di sintomi depressivi e disordini depressivi in donne in menopausa fisiologica. Alcuni dati dello studio SWAN (Study of women's health across the nation) hanno mostrato associazione di questi disturbi a diminuiti livelli di estrogeni.

Inoltre, alcuni sintomi di disturbo del sonno, come apnea del sonno, insonnia e restless leg syndrome sono comuni durante il periodo di transizione nella menopausa fisiologica (circa il 40% delle donne).

Per quanto riguarda i sintomi cognitivi, in una recente review la transizione nella menopausa fisiologica è stata associata a deficit nella memoria verbale, mentre sembra che la fluenza e la velocità verbale e l'attenzione insieme alla memoria di lavoro siano meno intaccate.

La stessa review sottolinea come l'effetto della perdita degli ormoni sessuali sulla memoria verbale e sulle funzioni esecutive sia maggiore nelle donne sottoposte a menopausa chirurgica, soprattutto se ciò avviene in età premenopausale. [101]

Per quanto riguarda gli altri sintomi nella menopausa chirurgica, i sintomi psicologici sembrano diminuire con il tempo, in particolare i sintomi nel periodo appena successivo alla chirurgia erano maggiori rispetto a 10 anni di follow-up.

Secondo la Mayo Clinic Cohort Study of Oophorectomy and Aging, c'è un significativo aumento di demenza in donne sotto i 48 anni che sono state sottoposte a RRBSO e che non ricevono HRT, mentre questo rischio diminuisce se viene somministrata HRT. [102]

Secondo una review recente, l'estradiolo sembra avere effetti benefici nei sintomi depressivi in maniera molto eterogenea. [94]

Inoltre, in un recente survey, le pazienti BRCAm sembrano sovrastimare gli effetti negativi della terapia ormonale sostitutiva, e sottostimarne i benefici. Altri studi però sono richiesti per confermare questi risultati. [103]

2.6.4.4. Conseguenze cardiovascolari

Le patologie cardiovascolari (CVD) sono una delle maggiori cause di morte nelle donne nel periodo successivo alla menopausa, e durante l'invecchiamento aumenta l'esposizione a fattori di rischio per queste patologie.

La diminuzione di livelli di estrogeni porta a disfunzioni endoteliali e ad allargamento del diametro vasale, che conduce a una maggiore vulnerabilità vascolare ai fattori di rischio.

Secondo infatti alcuni studi, l'attività estrogenica può inibire direttamente l'aterosclerosi agendo sulla parete arteriosa, e mantenere la funzione arteriosa, avendo un effetto benefico sul metabolismo del colesterolo, e controllando il rilascio di catecolamine. [104]

Inoltre, pare che i livelli lipidici cambino sia con l'età che con la transizione menopausale fisiologica.

Durante la transizione, infatti, i livelli di LDL-C aumentano, mentre i livelli di HDL-C restano stabili o diminuiscono. Inoltre, recenti studi riportano un possibile ruolo “disfunzionale” di HDL-C, che in situazioni infiammatorie potrebbe perdere il suo ruolo anti-aterogenico e anti-infiammatorio.

Lo studio SWAN ha indagato il rischio cardiovascolare, e le conclusioni sono state che l’effetto protettivo dell’HDL è diminuito in menopausa, probabilmente in relazione a cambiamenti nella profilazione di subclassi di lipoproteine, e in aggiunta, la diminuzione degli estrogeni, la ridistribuzione del grasso corporeo e l’aumento della vulnerabilità dei vasi legata all’età, possono spiegare l’aumento del rischio CV nella menopausa fisiologica. [105]

In una recente review, si riporta che studi retrospettivi riguardo l’annessiectomia pre-menopausale, considerano aumentato il rischio di malattie coronariche e descrivono un aumento fino a 3% della mortalità assoluta dovuta a queste, in particolare in donne che non assumono TOS (terapia ormonale sostitutiva).[106]

Uno studio di lunga durata (WHI) che ha incluso donne in menopausa fisiologica, sottolinea l’effetto benefico della terapia ormonale sostitutiva sul sistema cardiovascolare, sulle patologie coronarie e in tutte le cause di mortalità in donne tra i 50 e i 59 anni e in donne nei 10 anni dopo l’inizio della menopausa. [94]

Non ci sono dati utili sull’efficacia di TOS nel prevenire patologie ischemiche in pazienti BRCAm in menopausa chirurgica, ma alcuni dati da studi osservazionali notano che TOS riduce l’incidenza di patologie ischemiche in pazienti che presentano una menopausa prematura. [102]

2.6.4.5. Conseguenze sulla densità ossea

La diminuzione degli estrogeni causa una rapida accelerazione nella perdita di densità ossea che inizia durante l’anno prima della menopausa e continua per almeno altri tre anni post menopausa, per poi diminuire la velocità di perdita nei seguenti 4-8 anni.

Durante la transizione menopausa fisiologica, la perdita di densità ossea media è di circa 10%. [107]

Sempre nello studio SWAN, che è stato uno studio longitudinale multi-etnico e internazionale riguardo la transizione menopausale, si è visto che la perdita di densità ossea inizia prima della fine delle mestruazioni.

Grazie alla DEXA (Dual energy X-ray absorptiometry) si è trovata un inequivocabile declino nella densità minerale ossea durante il periodo perimeopausale tardivo (tra i 3 e gli 11 mesi di amenorrea).

La perdita postmenopausale nelle pazienti considerate sembrava minore rispetto alla perdita transmenopausale, e della perdita cumulativa del 10.6% di densità ossea, 7.38% è stata persa durante la fase transmenopausale.[108]

Questi studi sottolineano il ruolo fondamentale per la perdita di densità ossea della fase transmenopausale, che è però non riscontrabile nelle donne sottoposte a menopausa chirurgica.

In uno studio retrospettivo su 225 donne che avevano fatto la RRBSO, 44% erano state successivamente sottoposte a DEXA. Di queste, il 56% aveva risultati consistenti con osteopenia e 14% con osteoporosi. Solo il 14% delle 225 donne prendeva HRT. [100]

The 2016 Revised Global Consensus Statement on Menopausal Hormone Therapy afferma che la terapia ormonale sostitutiva diminuisce significativamente il rischio di fratture da osteoporosi in donne in menopausa fisiologica. [94]

In donne che sono sottoposte a menopausa iatrogena sotto i 45 anni, e in particolare sotto i 40, la terapia ormonale sostitutiva è associata con una riduzione della sintomatologia e preserva la densità ossea. [94]

2.7. Terapia ormonale

2.7.1. Effetti sui sintomi della menopausa chirurgica

Studi che valutano la terapia ormonale sostitutiva (TOS) e la menopausa chirurgica sono limitati da variazioni rispetto al tipo, alla compliance e la durata del trattamento.

La terapia ormonale è la terapia più efficace nella popolazione generale per trattare i sintomi nella menopausa fisiologica.[100]

I dati supportano l'efficacia della terapia nel mitigare i sintomi menopausali post menopausa chirurgica e per la preservazione della densità ossea, mentre i dati sul rischio cardiovascolare e sulla salute cognitiva sono controversi.[87]

2.7.2. Pro e contro

Alcune pazienti che sono sottoposte ad annessiectomia profilattica non sono candidabili alla TOS a causa di una storia personale di tumore al seno ormonosensibile. [100]

Inoltre, alcuni dati suggeriscono una possibile correlazione tra le medicazioni ormonali e il rischio di neoplasie maligne, soprattutto in portatrici di BRCA1/2 che utilizzano HRT per lunghi periodi.

In una corte di donne con mutazione BRCA1/2 post-RRSO, la TOS a breve termine non alterava significativamente la riduzione del rischio di carcinoma alla mammella associato con l'annessiectomia profilattica nel periodo di follow-up.

In più, veniva stato mostrato un possibile effetto protettivo della TOS sul tumore al seno in pazienti BRCAm, con una riduzione del rischio dell'8% annuo con una terapia estrogenica, mentre si presentava un aumento dell'8% del rischio per ogni anno con una terapia solo progestinica.

In uno studio italiano svolto su donne sotto i 45 anni di età che erano sottoposte a RRSO, veniva osservata una riduzione del 18% per ogni anno di terapia solo estrogenica, e un rischio di non significativo aumento del 14% per ogni anno di terapia estroprogestinica.[94]

Dunque, nonostante siano necessari ulteriori approfondimenti, grazie alla letteratura disponibile si può dedurre che la terapia ormonale sostitutiva usata dai 3 ai 5 anni post annessiectomia profilattica bilaterale, non aumenti il rischio di tumore al seno in pazienti BRCA1/2m.

Ulteriori studi sono necessari per indagare l'uso della stessa per oltre 5 anni nella popolazione BRCAm.[86]

2. SCOPO DELLO STUDIO

Lo scopo dello studio è valutare il follow-up a breve e lungo termine nelle donne portatrici di mutazione BRCA1 o BRCA 2, sottoposte ad annessiectomia bilaterale profilattica prima dei 50 anni di età, considerando gli aspetti relativi alla menopausa precoce e all'utilizzo di terapia ormonale sostitutiva.

Obiettivo primario:

Lo studio si prefigge di valutare l'insorgenza di sintomi legati alla menopausa precoce chirurgica in seguito ad intervento di annessiectomia bilaterale profilattica, valutando:

- Incidenza di sintomi legati alla diminuzione improvvisa di estrogeni, dunque sintomi vasomotori, disturbi del sonno, disturbi dell'umore, sensazione di offuscamento cognitivo e sindrome genitourinaria.
- Incidenza di osteopenia e/o osteoporosi dopo l'intervento.
- Aumento di fattori di rischio cardiovascolari dopo l'intervento quali ipertensione arteriosa, diabete, ipercolesterolemia.

Obiettivo secondario:

Lo studio cerca di valutare anche l'utilizzo di terapia ormonale sostitutiva in pazienti sottoposte a menopausa chirurgica prima dei 50 anni, valutando l'effetto della stessa sulla densità ossea, sull'ipertensione, ipercolesterolemia e i sintomi soggettivi.

3. MATERIALI E METODI

Disegno dello studio

Lo studio è di tipo retrospettivo osservazionale.

Luogo di svolgimento

Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino, Istituto Oncologico Veneto (IOV), Università degli Studi di Padova.

Pazienti selezionate

Per questo studio sono state considerate pazienti portatrici di mutazione dei geni BRCA 1 e BRCA 2 sottoposte tra l'anno 2004 e 2022 ad annessiectomia profilattica bilaterale e che hanno usufruito dei servizi di follow-up presso l'ambulatorio di Ginecologia Oncologica per i Tumori Eredo-familiari della Clinica Ginecologica Azienda Ospedale Università di Padova e/o l'ambulatorio Tumori Ereditari presso lo IOV.

Criteri di inclusione:

- Carriers BRCA1/2 sane o con pregresso tumore della mammella;
- Età ≤ 50 anni;
- Pazienti sottoposte ad annessiectomia bilaterale profilattica e in follow-up presso l'Istituto Oncologico Veneto e/o presso l'ambulatorio di Ginecologia Oncologica per i Tumori Eredo-familiari della Clinica Ginecologica Azienda Ospedale Università di Padova.

Sono stati raccolti i dati anamnestici e demografici delle pazienti tramite Galileo® ed Oncosys® e successivamente organizzati tramite un numero arabo progressivo e identificativo.

Delle pazienti sono stati analizzati i seguenti dati:

Tipo di mutazione: BRCA1 o BRCA2.

Dati antropometrici: parità, BMI, età all'intervento.

Anamnesi oncologica:

- Eventuale pregresso carcinoma mammario.
- Dati relativi alla sorveglianza pre-intervento: ultimo dosaggio CA-125 pre-intervento.

- Dati relativi alla diagnostica post-intervento: dosaggio di CA-125 entro 1 anno e/o entro 5 anni dall'intervento.

Tecnica operatoria analizzata:

- Mastectomia profilattica allo stesso tempo operatorio.
- Isterectomia allo stesso tempo operatorio.
- Annessiectomia singola profilattica.

Dati relativi all'utilizzo di terapia ormonale sostitutiva: numero di pazienti che facevano uso di terapia ormonale sostitutiva, e se essa fosse prescritta subito dopo l'intervento o dopo quanti anni.

Dati relativi agli aspetti osteometabolici della menopausa precoce chirurgica:

- Densità ossea tramite densitometria: valore del t-score rachide totale e femore totale a 1 ed a 5 anni dall'intervento.
- Valore del CTX a 1 e 5 anni.
- Il tempo di esordio di eventuale osteoporosi od osteopenia.

Dati relativi ai fattori di rischio cardiovascolare dopo la menopausa precoce chirurgica:

- Ipercolesterolemia post-intervento, intesa come un aumento di colesterolo totale >200mg/dL.
- Ipertensione arteriosa, intesa come aumento di valori pressori rispetto al pre-intervento, ossia parametri sistolici > 140 mmHg e/o diastolici >90 mmHg, o pazienti in terapia con farmaci antiipertensivi.
- Diabete, riferito per valori di glicemia a digiuno ≥ 126 mg/dl o utilizzo di farmaci ipoglicemizzanti.

Sintomi soggettivi e inficianti la qualità di vita:

- Segni e sintomi di tipo vasomotori;
- Alterazioni dell'umore
- Disturbi del sonno;
- Sensazione soggettiva di offuscamento mentale, perdita della memoria;
- Sindrome genitourinaria: secchezza delle mucose, dispareunia, calo della libido.

Associazione tra TOS e osteopenia, osteoporosi, ipercolesterolemia, ipertensione arteriosa, diabete.

Associazione tra TOS e i sintomi soggettivi.

Analisi statistica

L'analisi statistica è stata eseguita mediante software SPSS statistica versione 28.0 (Chicago IL).

I dati continui sono espressi come media \pm deviazione standard o come mediana [range] se necessario.

I dati categorici sono espressi come frequenza (percentuale) e sono stati confrontati mediante il test del Chi quadrato o test esatto di Fisher se necessario.

La stima dell'odds ratio è stata valutata mediante test di Mantel-Haenszel.

Una probabilità inferiore a 0.05 è stata accettata come statisticamente significativa.

4. RISULTATI

Dati della popolazione selezionata

Delle 105 pazienti valutate nel periodo dal 2007 al 2002 e sottoposte ad annesiectomia profilattica, 74 (70%) sono state considerate nello studio perché rispettavano i criteri di inclusione.

Riguardo alla popolazione selezionata di 74 pazienti, i dati antropometrici e i dati relativi alla anamnesi oncologica sono riportati nelle tabelle II e III.

Del campione preso in considerazione, 12 (16.2%) delle pazienti era nullipara, 20 (27%) aveva avuto un figlio, 31 (41.9%) ne aveva due, 8 (1.8%) tre, e 3 (4.1%) aveva quattro figli.

Tab. II: dati antropometrici

	BRCA 1	BRCA 2	Totale (1+2)
N (numerosità)	41 (55.4%)	33 (44.6%)	74 (100%)
BMI	23.1±3.25	24.3±5.6	23.6±4.5
Età all'intervento (anni)	43.4±3.7	45±3.7	44.3±3.6

Tab. III: anamnesi oncologica

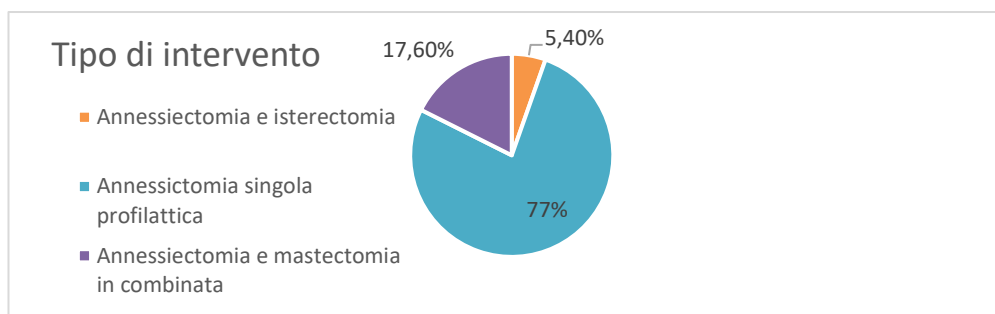
	BRCA 1	BRCA 2	Totale (1+2)
Pregresso k mammella	5 (6%)	5 (6%)	10 (13.5%)
CA-125 (kU/L) pre-intervento	15.1±8.3	14.3±12.3	14.7±10.2
CA-125 (kU/L) a 1 anno dall'intervento	12.6±6.7	8.5±2.8	10.8±5.7
CA-125 (kU/L) a 5 anni dall'intervento	9.7±5.4	8±2.7	8.9±4.4

Per quanto riguarda il tipo di intervento proposto, i dati sono riportati nella tabella IV e nel grafico in figura 3.

Tab. IV

Intervento di annessiectomia e isterectomia	Annessiectomia singola profilattica	Annessiectomia e mastectomia in combinata
4 (5.4%)	57 (77%)	13 (17.6%)

Fig. 3



Per quanto riguarda la TOS, solo 21 pazienti ne facevano uso dopo l'intervento. In tabella V è possibile notare la numerosità delle pazienti che ne facevano uso dall'inizio, quante invece dallo sviluppo dei sintomi e il tempo medio in anni dall'annessiectomia e l'inizio della TOS.

Tab. V

TOS dall'inizio	TOS dopo lo sviluppo dei sintomi	Tempo in anni dalla annessiectomia bilaterale profilattica e inizio della TOS
6 (8%)	15 (20%)	1.5 ± 0.8

Per quanto riguarda gli effetti della menopausa chirurgica, essi sono descritti nelle tabelle VI, VII e in particolare riguardo la presenza di osteopenia e osteoporosi, di fattori di rischio cardiovascolare (ipertensione arteriosa, diabete e ipercolesterolemia).

Tab. VI

	Osteopenia	Osteoporosi
Prevalenza	29 (39.2%)	12 (16.2%)
Valore CTX a 1 anno	581.34 ±53.15	864.75±540
Valore CTX a 5 anni	410.24±90.18	405.15±215.77
Valore T-score femore totale a 1 anno	-0.97±0.6	-1.55±1.03
Valore T-score femore totale a 1 anno	-1.26±0.57	-1.8±1.09
Valore T-score rachide a 1 anno	-0.92±0.7	-2.4±0.24
Valore T-score rachide a 5 anni	-1.22±1.2	-2.09±0.53

In media, una diminuzione della densità ossea era sviluppata 1.7±2 anni dopo l'intervento.

Tab. VII

IPA	10 (13.5%)
Diabete	3 (4.1%)
Ipercolesterolemia	36 (48.6%)

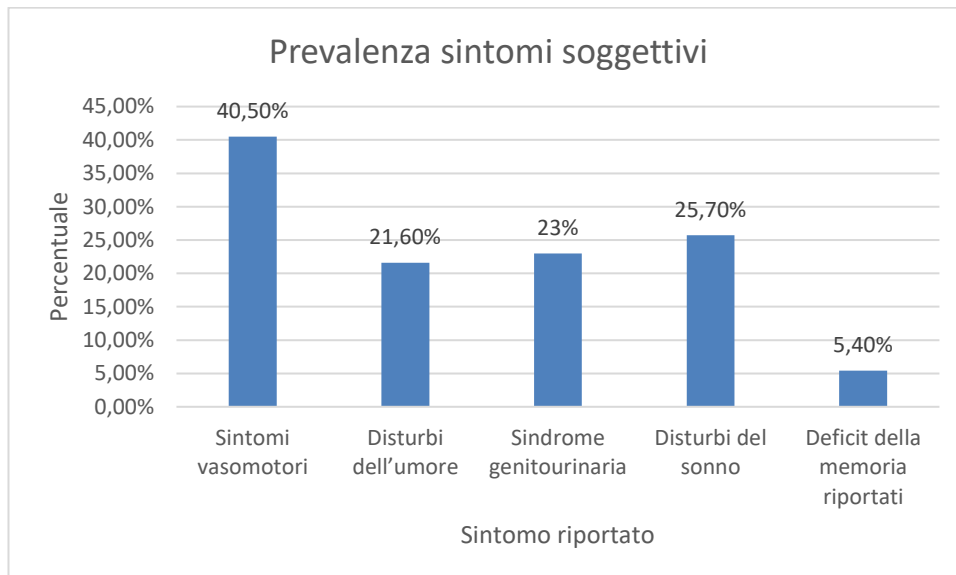
Per quanto riguarda il colesterolo totale, i valori medi dopo 1 anno erano 223.8±27.1 mg/dl, dopo 5 anni erano 220.4±22.4 mg/dl e dopo 7 226.8±30.6 mg/dl.

I sintomi soggettivi legati alla menopausa si trovano in tabella VIII e nel grafico in figura 4.

Tab. VIII

Sintomi soggettivi	Prevalenza
Sintomi vasomotori	30 (40.5%)
Disturbi dell'umore	16 (21.6%)
Sindrome genitourinaria	17 (23%)
Disturbi del sonno	19 (25.7%)
Deficit della memoria riportati	4 (5.4%)

Fig. 4.



Per quanto riguarda i sintomi genitourinari, essi comparivano in media 1.8 ± 1.4 anni dopo l'intervento.

I sintomi cognitivi riportati dalle pazienti, si instauravano in media 2.5 ± 2.3 anni dopo l'annessiectomia bilaterale profilattica.

Si sono studiate successivamente osteopenia, osteoporosi, ipercolesterolemia, diabete e ipertensione arteriosa in relazione all'utilizzo della terapia ormonale sostitutiva. I risultati sono visibili in tabella IX.

Infine, si è studiato l'utilizzo della terapia ormonale sostitutiva in relazione ai sintomi soggettivi riportati: sintomi vasomotori, disturbi del sonno, disturbi dell'umore, disturbi cognitivi riportati e sindrome genitourinaria. I risultati sono visibili in tabella X:

Tab. IX.

	TOS dall'intervento	TOS dopo la comparsa di sintomi o non utilizzata	RR	p
Osteopenia	1 (16.7%)	28 (50%)	5.00	0.12 (NS)
Osteoporosi	0 (0.0%)	12 (17.6%)	-	NS
Deficit osseo (osteopenia o osteoporosi)	1 (16.7%)	40 (58.8%)	7.14	0.046
Ipercolesterolemia	3 (50%)	33 (48.5%)	-	NS
Ipertensione arteriosa	0 (0.0%)	10 (14.7%)	-	NS

Tab. X.

	TOS dall'intervento	TOS dopo la comparsa di sintomi o non utilizzata	RR	p
Sintomi vasomotori	1 (16.7%)	29 (42.6%)	3.7	NS
Disturbi del sonno	1 (16.7%)	18 (26.5%)	-	NS
Disturbi dell'umore	0 (0.0%)	16 (23.5%)	-	NS
Disturbi cognitivi	0 (0.0%)	4 (5.9%)	-	NS
Sindrome genitourinaria	0 (0.0%)	17 (25%)	-	NS

5. DISCUSSIONE

La prevalenza nella popolazione di mutazioni BRCA1/2 è stimata essere tra 1/400 e 1/800, ma varia in dipendenza all'etnia a causa dell'effetto del fondatore.

Entrambe le mutazioni si associano ad un aumento del rischio di carcinoma della mammella e dell'ovaio e per contrastare il rischio oncologico, sono stati creati dei percorsi di monitoraggio clinico e di prevenzione chirurgica.

Per quanto riguarda il tumore ovarico legato a BRCA1 o BRCA2, è disponibile una sorveglianza semestrale basata su visita ginecologica, ecografia transvaginale e misurazione sierica del CA-125. Lo screening per il carcinoma ovarico, però, non è in genere efficace e dunque a partire dai 35 anni di età per il BRCA1 e i 40 anni di età per il BRCA2, è consigliata l'annessiectomia bilaterale profilattica.

L'annessiectomia bilaterale profilattica è un ottimo strumento preventivo, abbattendo dell'80-96% il rischio di tumore ovarico, ma non è esente da complicanze.

Lo scopo principale dello studio è stato sottolineare gli effetti deleteri della menopausa chirurgica precoce e porre l'attenzione sulla possibilità sempre maggiore dell'utilizzo della terapia ormonale sostitutiva per migliorare i sintomi a breve e lungo termine.

La menopausa chirurgica differisce dalla menopausa fisiologica, in quanto vi è un'interruzione brusca della produzione di ormoni sessuali, estrogeni, androgeni e progestinici, e dunque provoca effetti che possono inficiare la qualità di vita delle donne.

In particolare, nel campione considerato, ben 40.5% delle donne manifestava, molto spesso entro l'anno dalla annesiectomia bilaterale profilattica, sintomi vasomotori che implicavano una riduzione importante della qualità di vita.

Inoltre, 23% delle donne soffriva di sindrome genitourinaria a circa un anno e mezzo dall'intervento.

I sintomi soggettivi devono essere letti come importanti segni di cambiamenti fisiopatologici. Questi sintomi sono principalmente dovuti a un calo di estrogeni che comporta una instabilità vasomotoria, durante la quale il flusso arterioso è

affetto da un riversarsi di epinefrina e norepinefrina, comportando così vasodilatazione. [109]

La secchezza vaginale segnala una diminuzione del flusso sanguigno genitale e perdita cellulare, che comporta atrofia vulvovaginale e sindrome genitourinaria legata alla menopausa.

La sindrome genitourinaria include sintomi genitali di irritazione, secchezza e bruciore, ma anche sintomi urinari di urgenza, disuria e infezioni del tratto urinario ricorrenti. Inoltre, si associano sintomi sessuali di dolore e secchezza, oltre a calo della libido. [110]

Per quanto riguarda la perdita di densità ossea dopo l'intervento di annessiectomia bilaterale profilattica, quasi il 40% delle pazienti presentava osteopenia alla densitometria, e più del 15% soffriva di osteoporosi.

È stato visto in molti studi che le donne che vanno incontro a menopausa chirurgica, a causa dell'improvvisa diminuzione di estrogeni e androgeni, vanno incontro a maggior rischio di perdita ossea e di frattura patologica rispetto alle donne in menopausa naturale.[111]

Una diminuzione degli estrogeni comporta un aumento del riassorbimento osseo, soprattutto nelle donne sottoposte a menopausa chirurgica. [112]

In uno studio retrospettivo di popolazione, che comparava donne sottoposte APB con donne sottoposte solo a salpingectomia o isterectomia, l'escissione delle ovaie e quindi l'induzione della menopausa chirurgica aumentava la probabilità di osteoporosi e di fratture patologiche. [113]

Inoltre, un altro studio osservazionale prospettico di popolazione ha dimostrato che la menopausa precoce è legata a un rischio significativo aumentato per osteoporosi, fratture patologiche e mortalità. [114]

Prendendo inoltre in considerazione i fattori di rischio cardiovascolare, molti studi hanno riportato un aumento del rischio nelle donne sottoposte a menopausa chirurgica prima dei 50 anni rispetto alla popolazione generale. [115]

Nel campione analizzato di 74 donne, dopo l'annessiectomia bilaterale profilattica, quasi il 50% delle pazienti presentava livelli aumentati di colesterolo totale.

Questi risultati sono coerenti con la letteratura.

In particolare, l'annessiectomia bilaterale profilattica effettuata in stadio pre-menopausale è associata ad un aumento del colesterolo totale. [116]

Inoltre, in uno studio cross-sectional tra pazienti in menopausa fisiologica, chirurgica e in stadio pre-menopausale, si è visto che la menopausa chirurgica è associata con un alto grado di aterosclerosi coronarica, placche calcifiche e aumento di eventi CV. Vengono evidenziati una diminuzione di estrogeni endogeni, diminuzione di flusso alle carotidi e aumento di aterosclerosi subclinica. [117]

Inoltre, la menopausa chirurgica è associata ad aumento anche di altri fattori di rischio cardiovascolare.

Uno studio di popolazione ha riscontrato una associazione tra sindrome metabolica – intolleranza al glucosio, insulino-resistenza, obesità centrale, dislipidemia e ipertensione – e donne sottoposte ad annesiectomia bilaterale prima dei 50 anni. [118]

Tutti questi sintomi, a breve e lungo termine, potrebbero essere controllati e modulati dall'uso della terapia ormonale sostitutiva.

Solamente 6 pazienti delle 74 prese in considerazione in questo studio, utilizzavano la terapia ormonale sostitutiva dal momento dell'intervento.

Questo dato è particolarmente significativo per gli elementi presi in considerazione.

In primis, delle 6 pazienti solo una presentava sintomi vasomotori, e nessuna presentava nessun altro tipo di sintomo soggettivo legato alla menopausa.

Inoltre, delle 15 pazienti che cominciavano ad assumere terapia ormonale sostitutiva dopo l'instaurarsi di sintomi soggettivi, tutte riportavano un miglioramento dei sintomi vasomotori e genitourinari, e la maggior parte anche migliorava il tono dell'umore.

Uno studio del 2012, che comparava diverse opzioni per il management dei sintomi post-menopausali nelle donne in menopausa chirurgica, mostrava che la terapia ormonale, sia solo estrogenica che estrogenica e progestinica, era la modalità più efficace per la gestione dei sintomi.

Infatti, le donne che prendevano la terapia ormonale, facevano esperienza di minor e meno severi sintomi vasomotori, e una minor secchezza vaginale e dispareunia rispetto alle donne che non facevano uso della TOS. [119]

Dunque, si può intuire come l'utilizzo da subito della TOS possa essere una strategia vincente per tenere sotto controllo i sintomi soggettivi.

Sempre nello studio effettuato, quasi il 60% delle donne che non prendeva TOS da subito, subiva una diminuzione della densità ossea rispetto allo stadio pre-intervento, comportando un rischio relativo di sviluppare osteopenia e/o osteoporosi di 7 ($p=0.046$) nelle donne che non prendono la TOS.

Uno studio comparativo del 2011 ha sottolineato come, nelle donne che si sottopongono a menopausa chirurgica, un ritardo nell'assunzione della terapia sostitutiva estrogenica comporti un effetto avverso sulla salute dell'osso. [109]

Inoltre, un altro studio ha evidenziato come iniziare la terapia estrogenica dopo 3 anni dall'intervento può riportare i livelli di densità ossea come quelli iniziali, ma iniziandola dopo 6 anni questo non è più possibile, e al massimo si può ottenere un arresto nella perdita ossea. [120]

Per quanto riguarda l'uso della TOS e i fattori di rischio cardiovascolari, in uno studio del 2006 viene riportato un aumento di rischio per ischemia cardiaca nelle donne tra i 40 e i 45 anni che non avevano fatto uso di TOS dopo menopausa chirurgica.

Tra coloro invece che avevano fatto uso di TOS non veniva riscontrato questo aumento di patologia coronarica. [121]

Inoltre, una metanalisi del 2006, mostrava che la terapia estrogenica aveva un effetto maggior di riduzione del rischio cardiovascolare nelle donne che affrontavano menopausa chirurgica rispetto alle donne che andavano incontro a menopausa fisiologica. [106]

Dati di uno studio della Mayo clinic, indicano che iniziare la terapia estrogenica al momento dell'intervento e continuando almeno fino all'età della menopausa

fisiologica (quindi attorno ai 51-51 anni) riduce in maniera significativa molti, ma non tutti, i rischi legati alla menopausa chirurgica.

Questi dati supportano la cosiddetta “timing hypothesis”, secondo cui sarebbe meglio iniziare la TOS prima possibile e in maniera più ravvicinata all’inizio della deficienza ormonale possibile. [122]

Altri studi (DanishNursesStudy, WHI estrogenonly study ed ELITE trial) differenti allo studio della Mayo clinic, hanno dimostrato che iniziare la terapia estrogenica in un momento più vicino possibile al momento della chirurgia ottimizza la protezione cardiovascolare. La maggior parte di questi studi indicano che i migliori risultati CV sono stati visti in donne che hanno usato la TOS per 10 o più anni dopo annessiectomia profilattica. [123]

In conclusione, nonostante il campione limitato di donne che assumevano TOS sin dall’inizio della menopausa chirurgica, si può notare come questo gruppo riferisse meno effetti collaterali e anche la salute ossea fosse migliore rispetto al resto del campione.

Dal momento che l’intervento di annessiectomia bilaterale profilattica è effettuato in donne sane per prevenire il rischio oncologico, sarebbe opportuno provare a gestire al meglio i sintomi della menopausa chirurgica, sia soggettivi che a lungo termine, in maniera tale da garantire loro una qualità di vita almeno pari a quella delle donne senza mutazioni BRCA che entrano in menopausa fisiologica.

Dunque, affiancare al follow-up oncologico la TOS ed eventuali figure come sessuologo o psicologo, potrebbe essere un modo per migliorare la qualità di vita per queste pazienti.

6. BIBLIOGRAFIA

- [1] R. Yoshida, 'Hereditary breast and ovarian cancer (HBOC): review of its molecular characteristics, screening, treatment, and prognosis', *Breast Cancer*, vol. 28, no. 6. Springer Japan, pp. 1167–1180, Nov. 01, 2021. doi: 10.1007/s12282-020-01148-2.
- [2] R. Ferla *et al.*, 'Founder mutations in BRCA1 and BRCA2 genes', in *Annals of Oncology*, Oxford University Press, 2007. doi: 10.1093/annonc/mdm234.
- [3] E. B. Claus, J. M. Schildkraut, W. D. Thompson, and N. J. Risch, 'The genetic attributable risk of breast and ovarian cancer', *Cancer*, vol. 77, no. 11, pp. 2318–2324, Jun. 1996, doi: 10.1002/(SICI)1097-0142(19960601)77:11<2318::AID-CNCR21>3.0.CO;2-Z.
- [4] M. P. Adam, D. B. Everman, and G. M. Mirzaa, 'Associated Hereditary Breast and Ovarian Cancer', 1998.
- [5] B. B. Roa, A. A. Boyd, K. Volcik, and C. S. Richards, 'Ashkenazi Jewish population frequencies for common mutations in BRCA1 and BRCA2', *Nat Genet*, vol. 14, no. 2, pp. 185–187, Oct. 1996, doi: 10.1038/ng1096-185.
- [6] T. Rafnar *et al.*, 'BRCA2, but not BRCA1, mutations account for familial ovarian cancer in Iceland: a population-based study', *Eur J Cancer*, vol. 40, no. 18, pp. 2788–2793, Dec. 2004, doi: 10.1016/j.ejca.2004.09.008.
- [7] G. Cipollini *et al.*, 'Genetic alterations in hereditary breast cancer', *Annals of Oncology*, vol. 15, pp. i7–i13, Aug. 2004, doi: 10.1093/annonc/mdh651.
- [8] P. Ghadirian *et al.*, 'The contribution of founder mutations to early-onset breast cancer in French-Canadian women', *Clin Genet*, vol. 76, no. 5, pp. 421–426, Nov. 2009, doi: 10.1111/j.1399-0004.2009.01277.x.

- [9] J. N. Weitzel *et al.*, 'Prevalence and type of BRCA mutations in Hispanics undergoing genetic cancer risk assessment in the southwestern United States: A report from the clinical cancer genetics community research network', *Journal of Clinical Oncology*, vol. 31, no. 2, pp. 210–216, Jan. 2013, doi: 10.1200/JCO.2011.41.0027.
- [10] M. Mahdavi *et al.*, 'Hereditary breast cancer; Genetic penetrance and current status with BRCA', *Journal of Cellular Physiology*, vol. 234, no. 5. Wiley-Liss Inc., pp. 5741–5750, May 01, 2019. doi: 10.1002/jcp.27464.
- [11] N. Petrucelli, M. B. Daly, and G. L. Feldman, 'Hereditary breast and ovarian cancer due to mutations in BRCA1 and BRCA2', *Genetics in Medicine*, vol. 12, no. 5. pp. 245–259, May 2010. doi: 10.1097/GIM.0b013e3181d38f2f.
- [12] I. A. Manke, D. M. Lowery, A. Nguyen, and M. B. Yaffe, 'BRCT Repeats As Phosphopeptide-Binding Modules Involved in Protein Targeting', *Science (1979)*, vol. 302, no. 5645, pp. 636–639, Oct. 2003, doi: 10.1126/science.1088877.
- [13] K. Zimmer, F. Kocher, A. Puccini, and A. Seeber, 'Targeting BRCA and DNA Damage Repair Genes in GI Cancers: Pathophysiology and Clinical Perspectives', *Frontiers in Oncology*, vol. 11. Frontiers Media S.A., Oct. 11, 2021. doi: 10.3389/fonc.2021.662055.
- [14] G. Chatterjee, J. Jimenez-Sainz, T. Presti, T. Nguyen, and R. B. Jensen, 'Distinct binding of BRCA2 BRC repeats to RAD51 generates differential DNA damage sensitivity', *Nucleic Acids Res*, vol. 44, no. 11, pp. 5256–5270, Jun. 2016, doi: 10.1093/nar/gkw242.
- [15] T. Pal, D. Keefe, P. Sun, and S. A. Narod, 'Fertility in women with BRCA mutations: a case-control study', *Fertil Steril*, vol. 93, no. 6, pp. 1805–1808, Apr. 2010, doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.12.052.

- [16] A. Paul and S. Paul, 'The breast cancer susceptibility genes (BRCA) in breast and ovarian cancers'.
- [17] R. Fridlich, D. Annamalai, R. Roy, G. Bernheim, and S. N. Powell, 'BRCA1 and BRCA2 protect against oxidative DNA damage converted into double-strand breaks during DNA replication', *DNA Repair (Amst)*, vol. 30, pp. 11–20, Jun. 2015, doi: 10.1016/j.dnarep.2015.03.002.
- [18] N. Turner, A. Tutt, and A. Ashworth, 'Hallmarks of "BRCAness" in sporadic cancers', *Nat Rev Cancer*, vol. 4, no. 10, pp. 814–819, Oct. 2004, doi: 10.1038/nrc1457.
- [19] C. J. Lord and A. Ashworth, 'The DNA damage response and cancer therapy', *Nature*, vol. 481, no. 7381, pp. 287–294, Jan. 2012, doi: 10.1038/nature10760.
- [20] M.-C. King, J. H. Marks, and J. B. Mandell, 'Breast and Ovarian Cancer Risks Due to Inherited Mutations in *BRCA1* and *BRCA2*', *Science (1979)*, vol. 302, no. 5645, pp. 643–646, Oct. 2003, doi: 10.1126/science.1088759.
- [21] A. R. Venkitaraman, 'Cancer Suppression by the Chromosome Custodians, BRCA1 and BRCA2', *Science (1979)*, vol. 343, no. 6178, pp. 1470–1475, Mar. 2014, doi: 10.1126/science.1252230.
- [22] G. Girolimetti *et al.*, 'BRCA-Associated Ovarian Cancer: From Molecular Genetics to Risk Management', *Biomed Res Int*, vol. 2014, pp. 1–11, 2014, doi: 10.1155/2014/787143.
- [23] F. Wang, Q. Fang, Z. Ge, N. Yu, S. Xu, and X. Fan, 'Common BRCA1 and BRCA2 mutations in breast cancer families: A meta-analysis from systematic review', *Molecular Biology Reports*, vol. 39, no. 3, pp. 2109–2118, Mar. 2012. doi: 10.1007/s11033-011-0958-0.

- [24] W. J. Gradishar *et al.*, 'Breast Cancer, Version 3.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology', *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, vol. 20, no. 6, pp. 691–722, Jun. 2022, doi: 10.6004/jnccn.2022.0030.
- [25] Y. C. Tai, S. Domchek, G. Parmigiani, and S. Chen, 'Breast Cancer Risk Among Male BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers', *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, vol. 99, no. 23, pp. 1811–1814, Dec. 2007, doi: 10.1093/jnci/djm203.
- [26] D. A. Levine *et al.*, 'Fallopian Tube and Primary Peritoneal Carcinomas Associated With BRCA Mutations', *Journal of Clinical Oncology*, vol. 21, no. 22, pp. 4222–4227, Nov. 2003, doi: 10.1200/JCO.2003.04.131.
- [27] C. J. Reade *et al.*, 'The Fallopian Tube as the Origin of High Grade Serous Ovarian Cancer: Review of a Paradigm Shift', *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*, vol. 36, no. 2, pp. 133–140, Feb. 2014, doi: 10.1016/S1701-2163(15)30659-9.
- [28] M. L. Gasparri, S. Bellaminutti, A. A. Farooqi, I. Cuccu, V. Di Donato, and A. Papadia, 'Endometrial Cancer and BRCA Mutations: A Systematic Review', *Journal of Clinical Medicine*, vol. 11, no. 11. MDPI, Jun. 01, 2022. doi: 10.3390/jcm11113114.
- [29] C. Messina *et al.*, 'BRCA Mutations in Prostate Cancer: Prognostic and Predictive Implications', *J Oncol*, vol. 2020, pp. 1–7, Sep. 2020, doi: 10.1155/2020/4986365.
- [30] K. Abe, M. Kitago, Y. Kitagawa, and A. Hirasawa, 'Hereditary pancreatic cancer', *Int J Clin Oncol*, vol. 26, no. 10, pp. 1784–1792, Oct. 2021, doi: 10.1007/s10147-021-02015-6.

- [31] K. N. Maxwell *et al.*, 'BRCA locus-specific loss of heterozygosity in germline BRCA1 and BRCA2 carriers', *Nat Commun*, vol. 8, no. 1, p. 319, Aug. 2017, doi: 10.1038/s41467-017-00388-9.
- [32] R. Roy, J. Chun, and S. N. Powell, 'BRCA1 and BRCA2: Different roles in a common pathway of genome protection', *Nature Reviews Cancer*, vol. 12, no. 1, pp. 68–78, Jan. 2012. doi: 10.1038/nrc3181.
- [33] M. Mijit, V. Caracciolo, A. Melillo, F. Amicarelli, and A. Giordano, 'Role of p53 in the Regulation of Cellular Senescence', *Biomolecules*, vol. 10, no. 3, p. 420, Mar. 2020, doi: 10.3390/biom10030420.
- [34] K. Yoshida and Y. Miki, 'Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, transcription, and cell cycle in response to DNA damage', *Cancer Science*, vol. 95, no. 11, pp. 866–871, Nov. 2004. doi: 10.1111/j.1349-7006.2004.tb02195.x.
- [35] H. Sasanuma *et al.*, 'BRCA1 ensures genome integrity by eliminating estrogen-induced pathological topoisomerase II-DNA complexes', *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 115, no. 45, pp. E10642–E10651, Nov. 2018, doi: 10.1073/pnas.1803177115.
- [36] S. Richards *et al.*, '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', *Genetics in Medicine*, vol. 17, no. 5, pp. 405–424, May 2015, doi: 10.1038/gim.2015.30.
- [37] O. Anczuków *et al.*, 'Does the nonsense-mediated mRNA decay mechanism prevent the synthesis of truncated BRCA1, CHK2, and p53

- proteins?', *Hum Mutat*, vol. 29, no. 1, pp. 65–73, Jan. 2008, doi: 10.1002/humu.20590.
- [38] C. Mighton *et al.*, 'Variant classification changes over time in BRCA1 and BRCA2', *Genetics in Medicine*, p. 21, 2019, doi: 10.1038/s41436.
- [39] N. Mavaddat *et al.*, 'Cancer Risks for BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers: Results From Prospective Analysis of EMBRACE', *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, vol. 105, no. 11, pp. 812–822, Apr. 2013, doi: 10.1093/jnci/djt095.
- [40] S. Chen and G. Parmigiani, 'Meta-Analysis of BRCA1 and BRCA2 Penetrance', *Journal of Clinical Oncology*, vol. 25, no. 11, pp. 1329–1333, Apr. 2007, doi: 10.1200/JCO.2006.09.1066.
- [41] A. Antoniou *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', *The American Journal of Human Genetics*, vol. 72, no. 5, pp. 1117–1130, May 2003, doi: 10.1086/375033.
- [42] J. P. Struewing *et al.*, 'The Risk of Cancer Associated with Specific Mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews', *New England Journal of Medicine*, vol. 336, no. 20, pp. 1401–1408, May 1997, doi: 10.1056/NEJM199705153362001.
- [43] D. F. Easton, D. Ford, and D. T. Bishop, 'Breast and ovarian cancer incidence in BRCA1-mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium.', *Am J Hum Genet*, vol. 56, no. 1, pp. 265–71, Jan. 1995.

- [44] S. Chen and G. Parmigiani, 'Meta-Analysis of *BRCA1* and *BRCA2* Penetrance', *Journal of Clinical Oncology*, vol. 25, no. 11, pp. 1329–1333, Apr. 2007, doi: 10.1200/JCO.2006.09.1066.
- [45] S. Chen and G. Parmigiani, 'Meta-Analysis of *BRCA1* and *BRCA2* Penetrance'. [Online]. Available: <http://seer.cancer.gov/canques/mortality.html>
- [46] J. R. McLaughlin *et al.*, 'Long-Term Ovarian Cancer Survival Associated With Mutation in *BRCA1* or *BRCA2*', *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, vol. 105, no. 2, pp. 141–148, Jan. 2013, doi: 10.1093/jnci/djs494.
- [47] N. Mavaddat *et al.*, 'Pathology of Breast and Ovarian Cancers among *BRCA1* and *BRCA2* Mutation Carriers: Results from the Consortium of Investigators of Modifiers of *BRCA1* / 2 (CIMBA)', *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, vol. 21, no. 1, pp. 134–147, Jan. 2012, doi: 10.1158/1055-9965.EPI-11-0775.
- [48] M. Moschetta, A. George, S. B. Kaye, and S. Banerjee, 'BRCA somatic mutations and epigenetic BRCA modifications in serous ovarian cancer', *Annals of Oncology*, vol. 27, no. 8. Oxford University Press, pp. 1449–1455, Aug. 01, 2016. doi: 10.1093/annonc/mdw142.
- [49] R. L. Hollis, M. Churchman, and C. Gourley, 'Distinct implications of different BRCA mutations: Efficacy of cytotoxic chemotherapy, PARP inhibition and clinical outcome in ovarian cancer', *Onco Targets Ther*, vol. 10, pp. 2539–2551, May 2017, doi: 10.2147/OTT.S102569.
- [50] P. A. Konstantinopoulos *et al.*, 'Germline and somatic tumor testing in epithelial ovarian cancer: ASCO guideline', *Journal of Clinical Oncology*, vol. 38, no. 11, pp. 1222–1245, Apr. 2020, doi: 10.1200/JCO.19.02960.

- [51] K. P. Pennington *et al.*, 'Germline and somatic mutations in homologous recombination genes predict platinum response and survival in ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinomas', *Clinical Cancer Research*, vol. 20, no. 3, pp. 764–775, 2014, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2287.
- [52] K. Alsop *et al.*, 'BRCA Mutation Frequency and Patterns of Treatment Response in BRCA Mutation–Positive Women With Ovarian Cancer: A Report From the Australian Ovarian Cancer Study Group', *Journal of Clinical Oncology*, vol. 30, no. 21, pp. 2654–2663, Jul. 2012, doi: 10.1200/JCO.2011.39.8545.
- [53] H. Li, Z.-Y. Liu, N. Wu, Y.-C. Chen, Q. Cheng, and J. Wang, 'PARP inhibitor resistance: the underlying mechanisms and clinical implications', *Mol Cancer*, vol. 19, no. 1, p. 107, Dec. 2020, doi: 10.1186/s12943-020-01227-0.
- [54] S. Pignata *et al.*, 'Carboplatin plus paclitaxel once a week versus every 3 weeks in patients with advanced ovarian cancer (MITO-7): a randomised, multicentre, open-label, phase 3 trial', *Lancet Oncol*, vol. 15, no. 4, pp. 396–405, Apr. 2014, doi: 10.1016/S1470-2045(14)70049-X.
- [55] S. Liu and Y. Wang, 'Mass spectrometry for the assessment of the occurrence and biological consequences of DNA adducts', *Chem Soc Rev*, vol. 44, no. 21, pp. 7829–7854, 2015, doi: 10.1039/C5CS00316D.
- [56] F. Y. Alqahtani, F. S. Aleanizy, E. El Tahir, H. M. Alkahtani, and B. T. AlQuadeib, 'Paclitaxel', 2019, pp. 205–238. doi: 10.1016/bs.podrm.2018.11.001.
- [57] D. Yang *et al.*, 'Association of BRCA1 and BRCA2 Mutations With Survival, Chemotherapy Sensitivity, and Gene Mutator Phenotype in Patients With

- Ovarian Cancer', *JAMA*, vol. 306, no. 14, p. 1557, Oct. 2011, doi: 10.1001/jama.2011.1456.
- [58] J. M. de Murcia *et al.*, 'Requirement of poly(ADP-ribose) polymerase in recovery from DNA damage in mice and in cells', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 94, no. 14, pp. 7303–7307, Jul. 1997, doi: 10.1073/pnas.94.14.7303.
- [59] T. A. Yap, S. K. Sandhu, C. P. Carden, and J. S. de Bono, 'Poly(ADP-Ribose) polymerase (PARP) inhibitors: Exploiting a synthetic lethal strategy in the clinic', *CA Cancer J Clin*, vol. 61, no. 1, pp. 31–49, Jan. 2011, doi: 10.3322/caac.20095.
- [60] S. Wright and T. Dobzhansky, 'GENETICS OF NATURAL POPULATIONS. XII. EXPERIMENTAL REPRODUCTION OF SOME OF THE CHANGES CAUSED BY NATURAL SELECTION IN CERTAIN POPULATIONS OF DROSOPHILA PSEUDOOBSCURA', *Genetics*, vol. 31, no. 2, pp. 125–156, Mar. 1946, doi: 10.1093/genetics/31.2.125.
- [61] A. D. D'Andrea, 'Mechanisms of PARP inhibitor sensitivity and resistance', *DNA Repair*, vol. 71. Elsevier B.V., pp. 172–176, Nov. 01, 2018. doi: 10.1016/j.dnarep.2018.08.021.
- [62] C. Dulaney, S. Marcrom, J. Stanley, and E. S. Yang, 'Poly(ADP-ribose) polymerase activity and inhibition in cancer', *Seminars in Cell and Developmental Biology*, vol. 63. Academic Press, pp. 144–153, Mar. 01, 2017. doi: 10.1016/j.semcdb.2017.01.007.
- [63] P. M. L. H. Vencken *et al.*, 'Chemosensitivity and outcome of BRCA1- and BRCA2-associated ovarian cancer patients after first-line chemotherapy compared with sporadic ovarian cancer patients', *Annals of Oncology*, vol. 22, no. 6, pp. 1346–1352, Jun. 2011, doi: 10.1093/annonc/mdq628.

- [64] K. Xu, S. Yang, and Y. Zhao, 'Prognostic significance of *BRCA* mutations in ovarian cancer: an updated systematic review with meta-analysis', *Oncotarget*, vol. 8, no. 1, pp. 285–302, Jan. 2017, doi: 10.18632/oncotarget.12306.
- [65] Y. Ben David *et al.*, 'Effect of *BRCA* Mutations on the Length of Survival in Epithelial Ovarian Tumors', *Journal of Clinical Oncology*, vol. 20, no. 2, pp. 463–466, Jan. 2002, doi: 10.1200/JCO.2002.20.2.463.
- [66] F. J. Candido-dos-Reis *et al.*, 'Germline Mutation in *BRCA1* or *BRCA2* and Ten-Year Survival for Women Diagnosed with Epithelial Ovarian Cancer', *Clinical Cancer Research*, vol. 21, no. 3, pp. 652–657, Feb. 2015, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2497.
- [67] P. Disilvestro *et al.*, 'Overall Survival With Maintenance Olaparib at a 7-Year Follow-Up in Patients With Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer and a *BRCA* Mutation: The SOLO1/GOG 3004 Trial', *J Clin Oncol*, vol. 41, pp. 609–617, 2022, doi: 10.1200/JCO.22.
- [68] H. Li, Z.-Y. Liu, N. Wu, Y.-C. Chen, Q. Cheng, and J. Wang, 'PARP inhibitor resistance: the underlying mechanisms and clinical implications', *Mol Cancer*, vol. 19, no. 1, p. 107, Dec. 2020, doi: 10.1186/s12943-020-01227-0.
- [69] J. A. Ledermann, Y. Drew, and R. S. Kristeleit, 'Homologous recombination deficiency and ovarian cancer', *Eur J Cancer*, vol. 60, pp. 49–58, Jun. 2016, doi: 10.1016/j.ejca.2016.03.005.
- [70] N. Y. L. Ngoi and D. S. P. Tan, 'The role of homologous recombination deficiency testing in ovarian cancer and its clinical implications: do we need it?', *ESMO Open*, vol. 6, no. 3. Elsevier B.V., Jun. 01, 2021. doi: 10.1016/j.esmoop.2021.100144.

- [71] D. K. Owens *et al.*, 'Risk Assessment, Genetic Counseling, and Genetic Testing for *BRCA* -Related Cancer', *JAMA*, vol. 322, no. 7, p. 652, Aug. 2019, doi: 10.1001/jama.2019.10987.
- [72] J. L. Berliner, S. A. Cummings, B. Boldt Burnett, and C. N. Ricker, 'Risk assessment and genetic counseling for hereditary breast and ovarian cancer syndromes—Practice resource of the National Society of Genetic Counselors', *J Genet Couns*, vol. 30, no. 2, pp. 342–360, Apr. 2021, doi: 10.1002/jgc4.1374.
- [73] C. Sessa *et al.*, 'Risk reduction and screening of cancer in hereditary breast-ovarian cancer syndromes: ESMO Clinical Practice Guideline ☆', *Annals of Oncology*, vol. 34, no. 1, pp. 33–47, Jan. 2023, doi: 10.1016/j.annonc.2022.10.004.
- [74] M. B. Daly *et al.*, 'Genetic/familial high-risk assessment: Breast, ovarian, and pancreatic, version 2.2021', *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, vol. 19, no. 1. Harborside Press, pp. 77–102, Jan. 01, 2021. doi: 10.6004/JNCCN.2021.0001.
- [75] P. Pujol *et al.*, 'Clinical practice guidelines for *BRCA1* and *BRCA2* genetic testing', *European Journal of Cancer*, vol. 146. Elsevier Ltd, pp. 30–47, Mar. 01, 2021. doi: 10.1016/j.ejca.2020.12.023.
- [76] S. Gallagher *et al.*, 'Comprehensive Breast Cancer Risk Assessment for *CHEK2* and *ATM* Pathogenic Variant Carriers Incorporating a Polygenic Risk Score and the Tyrer-Cuzick Model', *JCO Precis Oncol*, no. 5, pp. 1073–1081, Nov. 2021, doi: 10.1200/PO.20.00484.
- [77] L. Knabben, F. Siegenthaler, S. Imboden, and M. D. Mueller, 'Fertility in *BRCA* mutation carriers: Counseling *BRCA*-mutated patients on reproductive issues', *Hormone Molecular Biology and Clinical*

Investigation, vol. 43, no. 2. De Gruyter Open Ltd, pp. 171–177, Jun. 01, 2022. doi: 10.1515/hmbci-2020-0005.

- [78] I. Rzepka-Górska, B. Tarnowski, A. Chudecka-Głaz, B. Górski, D. Zielińska, and A. Tołoczko-Grabarek, 'Premature Menopause in Patients with BRCA1 Gene Mutation', *Breast Cancer Res Treat*, vol. 100, no. 1, pp. 59–63, Oct. 2006, doi: 10.1007/s10549-006-9220-1.
- [79] F. A. Peccatori *et al.*, 'Fertility preservation in women harboring deleterious BRCA mutations: Ready for prime time?', *Human Reproduction*, vol. 33, no. 2, pp. 181–187, Feb. 2018, doi: 10.1093/humrep/dex356.
- [80] Dwyer and Mary, 'NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines[®]) Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast, Ovarian, and Pancreatic', 2023. [Online]. Available: <https://www.nccn.org/home/member->
- [81] K. K. Ludwig, J. Neuner, A. Butler, J. L. Geurts, and A. L. Kong, 'Risk reduction and survival benefit of prophylactic surgery in BRCA mutation carriers, a systematic review', *The American Journal of Surgery*, vol. 212, no. 4, pp. 660–669, Oct. 2016, doi: 10.1016/j.amjsurg.2016.06.010.
- [82] S. M. Domchek *et al.*, 'Association of risk-reducing surgery in BRCA1 or BRCA2 mutation carriers with cancer risk and mortality', *JAMA*, vol. 304, no. 9, pp. 967–975, Sep. 2010, doi: 10.1001/jama.2010.1237.
- [83] 'ACOG Practice Bulletin No. 103: Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome', *Obstetrics & Gynecology*, vol. 113, no. 4, pp. 957–966, Apr. 2009, doi: 10.1097/AOG.0b013e3181a106d4.

- [84] L. S. Matan, T. Perri, L. Kogan, B. Brandt, R. Meyer, and G. Levin, 'Ovarian cancer risk management in BRCA-mutation carriers: A comparison of six international and national guidelines', *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, vol. 278, pp. 166–171, Nov. 2022, doi: 10.1016/j.ejogrb.2022.09.035.
- [85] A. Doren, A. Vecchiola, B. Aguirre, and P. Villaseca, 'Gynecological–endocrinological aspects in women carriers of BRCA1/2 gene mutations', *Climacteric*, vol. 21, no. 6. Taylor and Francis Ltd, pp. 529–535, Nov. 02, 2018. doi: 10.1080/13697137.2018.1514006.
- [86] A. S. Nitschke, H. A. do Valle, L. Dawson, J. S. Kwon, and G. E. Hanley, 'Long-Term Non-Cancer Risks in People with BRCA Mutations following Risk-Reducing Bilateral Salpingo-Oophorectomy and the Role of Hormone Replacement Therapy: A Review', *Cancers (Basel)*, vol. 15, no. 3, p. 711, Jan. 2023, doi: 10.3390/cancers15030711.
- [87] C. Sessa *et al.*, 'Risk reduction and screening of cancer in hereditary breast-ovarian cancer syndromes: ESMO Clinical Practice Guideline', *Annals of Oncology*, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.annonc.2022.10.004.
- [88] J. S. Chapman *et al.*, 'Surveillance of survivors: Follow-up after risk-reducing salpingo-oophorectomy in BRCA 1/2 mutation carriers', *Gynecol Oncol*, vol. 122, no. 2, pp. 339–343, Aug. 2011, doi: 10.1016/j.ygyno.2011.04.004.
- [89] T. R. Rebbeck, N. D. Kauff, and S. M. Domchek, 'Meta-analysis of Risk Reduction Estimates Associated With Risk-Reducing Salpingo-oophorectomy in BRCA1 or BRCA2 Mutation Carriers', *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, vol. 101, no. 2, pp. 80–87, Jan. 2009, doi: 10.1093/jnci/djn442.

- [90] N. D. Kauff *et al.*, 'Risk-Reducing Salpingo-Oophorectomy for the Prevention of BRCA1- and BRCA2-Associated Breast and Gynecologic Cancer: A Multicenter, Prospective Study', *Journal of Clinical Oncology*, vol. 26, no. 8, pp. 1331–1337, Mar. 2008, doi: 10.1200/JCO.2007.13.9626.
- [91] A. P. M. Finch *et al.*, 'Impact of Oophorectomy on Cancer Incidence and Mortality in Women With a BRCA1 or BRCA2 Mutation', *Journal of Clinical Oncology*, vol. 32, no. 15, pp. 1547–1553, May 2014, doi: 10.1200/JCO.2013.53.2820.
- [92] C. B. Powell *et al.*, 'Risk-reducing salpingo-oophorectomy (RRSO) in BRCA mutation carriers experience with a consecutive series of 111 patients using a standardized surgical-pathological protocol', *International Journal of Gynecological Cancer*, vol. 21, no. 5, pp. 846–851, Jul. 2011, doi: 10.1097/IGC.0b013e31821bc7e3.
- [93] M. P. Steenbeek *et al.*, 'Risk of Peritoneal Carcinomatosis After Risk-Reducing Salpingo-Oophorectomy: A Systematic Review and Individual Patient Data Meta-Analysis', *J Clin Oncol*, vol. 40, pp. 1879–1891, 2022, doi: 10.1200/JCO.21.
- [94] V. Loizzi *et al.*, 'The Role of Hormonal Replacement Therapy in BRCA Mutated Patients: Lights and Shadows', *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 24, no. 1. MDPI, Jan. 01, 2023. doi: 10.3390/ijms24010764.
- [95] C. B. Powell, A. Alabaster, A. Le, N. Stoller, M. A. Armstrong, and T. Raine-Bennett, 'Sexual function, menopausal symptoms, depression and cancer worry in women with BRCA mutations', *Psychooncology*, vol. 29, no. 2, pp. 331–338, Feb. 2020, doi: 10.1002/pon.5253.
- [96] V. Talaulikar, 'Menopause transition: Physiology and symptoms', *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*, vol. 81.

Bailliere Tindall Ltd, pp. 3–7, May 01, 2022. doi:
10.1016/j.bpobgyn.2022.03.003.

- [97] A. Stuursma, C. M. G. van Driel, N. J. Wessels, G. H. de Bock, and M. J. E. Mourits, 'Severity and duration of menopausal symptoms after risk-reducing salpingo-oophorectomy', *Maturitas*, vol. 111, pp. 69–76, May 2018, doi: 10.1016/j.maturitas.2018.01.012.
- [98] M. Hickey *et al.*, 'What happens after menopause? (WHAM): A prospective controlled study of vasomotor symptoms and menopause-related quality of life 12 months after premenopausal risk-reducing salpingo-oophorectomy', *Gynecol Oncol*, vol. 163, no. 1, pp. 148–154, Oct. 2021, doi: 10.1016/j.ygyno.2021.07.029.
- [99] E. Hall *et al.*, 'Effects of bilateral salpingo-oophorectomy on menopausal symptoms and sexual functioning among women with a BRCA1 or BRCA2 mutation', *Gynecol Oncol*, vol. 152, no. 1, pp. 145–150, Jan. 2019, doi: 10.1016/j.ygyno.2018.10.040.
- [100] S. Gordhandas, B. M. Norquist, K. P. Pennington, R. L. Yung, M. B. Laya, and E. M. Swisher, 'Hormone replacement therapy after risk reducing salpingo-oophorectomy in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations; a systematic review of risks and benefits', *Gynecologic Oncology*, vol. 153, no. 1. Academic Press Inc., pp. 192–200, Apr. 01, 2019. doi: 10.1016/j.ygyno.2018.12.014.
- [101] E. Hogervorst, J. Craig, and E. O'Donnell, 'Cognition and mental health in menopause: A review', *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*, vol. 81. Bailliere Tindall Ltd, pp. 69–84, May 01, 2022. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2021.10.009.

- [102] F. Gaba and R. Manchanda, 'Systematic review of acceptability, cardiovascular, neurological, bone health and HRT outcomes following risk reducing surgery in BRCA carriers', *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*, vol. 65. Bailliere Tindall Ltd, pp. 46–65, May 01, 2020. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2020.01.006.
- [103] G. Grandi *et al.*, 'BRCA mutation carriers' perceptions on postmenopausal hormone therapy: An Italian study', *Psychooncology*, vol. 30, no. 10, pp. 1711–1719, Oct. 2021, doi: 10.1002/pon.5714.
- [104] M. Gerhard and P. Ganz, 'How Do We Explain the Clinical Benefits of Estrogen?', *Circulation*, vol. 92, no. 1, pp. 5–8, Jul. 1995, doi: 10.1161/01.CIR.92.1.5.
- [105] G. A. Woodard, M. M. Brooks, E. Barinas-Mitchell, R. H. MacKey, K. A. Matthews, and K. Sutton-Tyrrell, 'Lipids, menopause, and early atherosclerosis in Study of Women's Health Across the Nation Heart women', *Menopause*, vol. 18, no. 4, pp. 376–384, Apr. 2011, doi: 10.1097/gme.0b013e3181f6480e.
- [106] F. Atsma, M.-L. E. L. Bartelink, D. E. Grobbee, and Y. T. van der Schouw, 'Postmenopausal status and early menopause as independent risk factors for cardiovascular disease: a meta-analysis', *Menopause*, vol. 13, no. 2, pp. 265–279, Mar. 2006, doi: 10.1097/01.gme.0000218683.97338.ea.
- [107] E. Yong and S. Logan, 'Menopausal osteoporosis: screening, prevention and treatment', *Singapore Med J*, vol. 62, no. 4, pp. 159–166, Apr. 2021, doi: 10.11622/smedj.2021036.
- [108] G. A. Greendale *et al.*, 'Bone mineral density loss in relation to the final menstrual period in a multiethnic cohort: Results from the Study of

Women's Health Across the Nation (SWAN)', *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 27, no. 1, pp. 111–118, Jan. 2012, doi: 10.1002/jbmr.534.

- [109] J. Challberg *et al.*, 'Menopausal symptoms and bone health in women undertaking risk reducing bilateral salpingo-oophorectomy: significant bone health issues in those not taking HRT', *Br J Cancer*, vol. 105, no. 1, pp. 22–27, Jun. 2011, doi: 10.1038/bjc.2011.202.
- [110] J. Gandhi *et al.*, 'Genitourinary syndrome of menopause: an overview of clinical manifestations, pathophysiology, etiology, evaluation, and management', *Am J Obstet Gynecol*, vol. 215, no. 6, pp. 704–711, Dec. 2016, doi: 10.1016/j.ajog.2016.07.045.
- [111] T. Yoshida, K. Takahashi, H. Yamatani, K. Takata, and H. Kurachi, 'Impact of surgical menopause on lipid and bone metabolism', *Climacteric*, vol. 14, no. 4, pp. 445–452, Aug. 2011, doi: 10.3109/13697137.2011.562994.
- [112] M. R. Sowers *et al.*, 'Changes in Bone Resorption Across the Menopause Transition: Effects of Reproductive Hormones, Body Size, and Ethnicity', *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 98, no. 7, pp. 2854–2863, Jul. 2013, doi: 10.1210/jc.2012-4113.
- [113] H. A. Do Valle, P. Kaur, J. S. Kwon, R. Cheifetz, L. Dawson, and G. E. Hanley, 'Bone health after RRBSO among BRCA1/2 mutation carriers: a population-based study', *J Gynecol Oncol*, vol. 33, no. 4, Jul. 2022, doi: 10.3802/jgo.2022.33.e51.
- [114] O. Svejme, H. G. Ahlborg, J. Å. Nilsson, and M. K. Karlsson, 'Early menopause and risk of osteoporosis, fracture and mortality: A 34-year prospective observational study in 390 women', *BJOG*, vol. 119, no. 7, pp. 810–816, Jun. 2012, doi: 10.1111/j.1471-0528.2012.03324.x.

- [115] E. Ingelsson, C. Lundholm, A. L. V. Johansson, and D. Altman, 'Hysterectomy and risk of cardiovascular disease: a population-based cohort study', *Eur Heart J*, vol. 32, no. 6, pp. 745–750, Mar. 2011, doi: 10.1093/eurheartj/ehq477.
- [116] M. Barton, 'Cholesterol and atherosclerosis', *Curr Opin Lipidol*, vol. 24, no. 3, pp. 214–220, Jun. 2013, doi: 10.1097/MOL.0b013e3283613a94.
- [117] Sz. Abbas, V. Sangawan, A. Das, and A. Pandey, 'Assessment of cardiovascular risk in natural and surgical menopause', *Indian J Endocrinol Metab*, vol. 22, no. 2, p. 223, 2018, doi: 10.4103/ijem.ijem_620_17.
- [118] A. Dørum, S. Tonstad, A. H. Liavaag, T. M. Michelsen, B. Hildrum, and A. A. Dahl, 'Bilateral oophorectomy before 50 years of age is significantly associated with the metabolic syndrome and Framingham risk score: A controlled, population-based study (HUNT-2)', *Gynecol Oncol*, vol. 109, no. 3, pp. 377–383, Jun. 2008, doi: 10.1016/j.ygyno.2008.02.025.
- [119] J. V. Cohen *et al.*, 'Non-cancer endpoints in BRCA1/2 carriers after risk-reducing salpingo-oophorectomy', *Fam Cancer*, vol. 11, no. 1, pp. 69–75, Mar. 2012, doi: 10.1007/s10689-011-9480-8.
- [120] R. Lindsay, 'The Menopause: Sex Steroids and Osteoporosis', *Clin Obstet Gynecol*, vol. 30, no. 4, pp. 847–859, Dec. 1987, doi: 10.1097/00003081-198712000-00008.
- [121] E. Løkkegaard, Z. Jovanovic, B. L. Heitmann, N. Keiding, B. Ottesen, and A. T. Pedersen, 'The association between early menopause and risk of ischaemic heart disease: Influence of Hormone Therapy', *Maturitas*, vol. 53, no. 2, pp. 226–233, Jan. 2006, doi: 10.1016/j.maturitas.2005.04.009.

- [122] H. N. Hodis and W. J. Mack, 'The Timing Hypothesis and Hormone Replacement Therapy: A Paradigm Shift in the Primary Prevention of Coronary Heart Disease in Women. Part 2: Comparative Risks', *J Am Geriatr Soc*, vol. 61, no. 6, pp. 1011–1018, Jun. 2013, doi: 10.1111/jgs.12281.
- [123] H. N. Hodis *et al.*, 'Vascular Effects of Early versus Late Postmenopausal Treatment with Estradiol', *New England Journal of Medicine*, vol. 374, no. 13, pp. 1221–1231, Mar. 2016, doi: 10.1056/NEJMoa1505241.