

Scheda di approfondimento

L'Analisi delle Mutazioni BRCA1 e BRCA2 per i test genetici dei tumori mammari *La procedura messa a punto presso il Campus IFOM-IEO*

Introduzione ai Tumori Ereditari

Le diverse manifestazioni patologiche, collettivamente indicate come cancro, sono caratterizzate dalla crescita incontrollata e invasiva di cellule geneticamente "danneggiate"; la trasformazione neoplastica avviene per l'accumulo in momenti o stadi successivi di un numero critico di mutazioni in due categorie di geni coinvolti nella crescita e nel differenziamento cellulare: questi geni sono detti "proto-oncogeni" e geni "oncosoppressori".

Tali geni controllano normalmente la crescita cellulare in modo rispettivamente positivo e negativo: i proto-oncogeni favoriscono naturalmente la crescita delle cellule e, se alterati, agiscono da "acceleratore" sul tumore facilitandone la formazione e lo sviluppo; gli oncosoppressori normalmente ostacolano la proliferazione e, se alterati, perdono la capacità di agire da "freno". Un terzo gruppo di geni coinvolti nei processi di cancerogenesi è costituito dai geni del riparo del DNA, che controllano la fedeltà della sua replicazione e la sua integrità durante la trascrizione.

Nella grande maggioranza dei casi le mutazioni genetiche avvengono a livello somatico (cioè nelle cellule adulte), rafforzando il concetto che la maggior parte dei tumori sono riconducibili a fattori di rischio di tipo ambientale (questi fattori comprendono l'esposizione a sostanze nocive, quali il fumo, gli inquinanti atmosferici e le radiazioni, ma anche certi comportamenti, come ad esempio una cattiva alimentazione). Si parla, in questo caso, di tumori "sporadici". Tuttavia, in alcuni casi, stimati globalmente attorno al 5-10% di tutti gli individui affetti da tumore, una delle lesioni genetiche necessarie per il compimento della cancerogenesi a stadi multipli è già presente in tutte le cellule dell'individuo e può essere trasmessa ai figli attraverso la linea germinale. In questi casi si parla di tumori "ereditari".

Rispetto alla più comune controparte sporadica, i tumori ereditari si caratterizzano per l'età precoce d'insorgenza, la presenza di lesioni neoplastiche in diversi organi (bilaterali in caso di organi pari) e l'associazione con patologie (neoplastiche e non) utilizzabili come "marcatori" dello stato di portatore della lesione genetica.

Introduzione ai test genetici

L'isolamento dei geni responsabili della suscettibilità ereditaria ai tumori permette, analogamente a quanto avviene per altre malattie genetiche, di identificare i portatori di tale suscettibilità mediante l'esecuzione di analisi molecolari mirate.

L'analisi molecolare svolge un ruolo imprescindibile nella diagnosi presintomatica dei soggetti portatori di un rischio genetico per tumore. Infatti, una volta identificato il difetto genetico (mutazione) in un soggetto affetto, è possibile verificare la presenza di tale alterazione negli altri componenti della famiglia, identificando i portatori della mutazione che presentano un elevato rischio di sviluppare un tumore, e non portatori che invece hanno un rischio paragonabile a quello della popolazione generale di ammalarsi (cosiddetti test predittivi). Nei casi in cui siano disponibili dei programmi di sorveglianza e prevenzione primaria, ciò permetterà di indirizzare tali misure esclusivamente a coloro che presentino un reale rischio, evitando ai non portatori la necessità di doversi sottoporre ad esami strumentali o ad interventi profilattici inutili. Se dunque da una parte questi test consentono di accertare il rischio di cancro (probabilità di sviluppare la malattia) dei singoli soggetti, dall'altro, permettendo di selezionare in maniera accurata coloro che riceveranno un effettivo beneficio dai programmi di prevenzione, migliorano l'efficacia di tali programmi.

Carcinoma familiare della mammella e dell'ovaio

La maggior parte dei tumori della mammella sono sporadici, ovvero insorgono in donne che non hanno una significativa storia familiare di cancro. In un certo numero di famiglie però, tale neoplasia è riscontrabile con una frequenza più elevata che nella popolazione generale. Studi epidemiologici hanno rilevato che avere un parente di primo grado affetto da carcinoma della mammella rappresenta un fattore di rischio per questo tumore, rischio tanto maggiore quanto più precoce è l'età alla diagnosi del parente affetto. Uno studio condotto negli anni Ottanta negli Stati Uniti, denominato Cancer and Steroid Hormone (CASH) Study, dimostrò che il 5-10% circa dei tumori della mammella è dovuto alla presenza di geni di predisposizione ereditaria; questo significa che nei paesi occidentali, assumendo un rischio medio di incidenza del 10% sul totale della popolazione, una donna su 200 potrebbe essere portatrice di un gene di suscettibilità ereditaria al carcinoma della mammella.

A questi potenziali portatori, individuabili sulla base della storia familiare per mezzo di un adeguato percorso di counseling genetico, è possibile proporre un test di analisi molecolare che evidenzia mutazioni nei geni BRCA1 e BRCA2, responsabili complessivamente del 20-25% del totale dei tumori della mammella e dell'ovaio ereditari. Nelle donne con suscettibilità ereditaria dovuta a BRCA1, il rischio per tumore della mammella a 50 anni è stimato intorno al 50%, e sale all'85% a 70 anni, mentre alle stesse età quello per il carcinoma ovarico è di circa il 20% e 60%, rispettivamente. Le mutazioni di BRCA2 conferiscono un rischio cumulativo per questo tumore simile a quello di BRCA1, mentre il rischio per il carcinoma ovarico è sensibilmente minore (20% circa), seppure superiore a quello della popolazione generale. I soggetti di sesso maschile portatori di mutazioni germinali di BRCA2 presentano un rischio per tumore della mammella del 5%, corrispondente a circa 200 volte il rischio nei non portatori.

Analisi delle Mutazioni BRCA1 e BRCA2 (IFOM-IEO-Campus Systems)

In questi ultimi anni lo sviluppo di nuove tecniche nel campo della biologia molecolare ha permesso, nei laboratori di diagnostica clinica, l'utilizzo di nuovi strumenti e metodologie per identificare e caratterizzare agenti patogeni, marker tumorali e mutazioni genetiche che predispongono allo sviluppo di patologie genetiche e di malattie congenite, al fine di effettuare diagnosi prenatale precoce e per valutare l'interazione di farmaci, alimentazione ed ambiente sul genoma e sul proteoma.

Nel caso del tumore familiare della mammella, la nuova metodica di diagnosi molecolare messa a punto nei nostri laboratori consente di rilevare in un tempo molto rapido (da 48 ore a una settimana, contro i diversi mesi necessari per le metodiche convenzionali) eventuali mutazioni sui geni BRCA1 e BRCA2. Basandosi sulle ricerche delle mutazioni presenti nei due geni, questa metodica associa a ogni donna che si sottoponga all'analisi, una percentuale di rischio di sviluppare un tumore al seno o all'ovario. Il test identifica quindi gli individui che hanno una predisposizione genetica al cancro ovarico o alla mammella.

La ragione dei tempi estremamente lunghi fino a questo momento necessari per effettuare i test BRCA1 e BRCA2 risiede nella grande dimensione di questi geni. Per effettuare il test, infatti, è necessario prima amplificare i frammenti "codificanti" (cioè i frammenti che veicolano l'informazione necessaria alla sintesi delle proteine) dei due geni e successivamente sequenziare gli stessi frammenti. Queste operazioni, fino a questo momento, dovevano però essere fatte individualmente per tutti i frammenti codificanti – complessivamente sono circa settanta – dei due geni. Nei nostri laboratori siamo riusciti a mettere a punto un sistema in grado di amplificare simultaneamente tutti i frammenti provenienti da un singolo paziente e, successivamente, di sequenziarli – ancora una volta simultaneamente. Dalle sequenze, per mezzo di un apposito software, è possibile identificare le eventuali mutazioni dei geni. E, a partire dalle mutazioni, viene effettuata infine la valutazione del rischio. Il tutto in un tempo effettivo di sole 48 ore, che può arrivare al massimo di una settimana se si tiene conto anche del prelievo, della consegna del campione presso il nostro centro e della consegna del risultato finale.