



UNIVERSITA POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITAE DELL'AMBIENTE

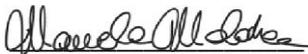
Scienze Biologiche

---

**BRCA1 BRCA2: GENI RESPONSABILI DELLA PREDISPOSIZIONE  
GENETICA AL CANCRO**

**BRCA1 BRCA2: GENES RESPONSIBLE FOR GENETIC  
PREDISPOSITION TO CANCER**

Tesi di Laurea di: Manuela Malandra  
di:



Docente Referente  
Chiar.mo Prof.



Sessione estiva

Anno Accademico **2021/2022**



UNIVERSITÀ  
POLITECNICA  
DELLE MARCHE

Corso di laurea triennale in scienze biologiche

---

# BRCA1 BRCA2: GENI RESPONSABILI DELLA PREDISPOSIZIONE GENETICA AL CANCRO

---

Manuela Malandra

Anno accademico 2021/2022

Relatore

Marco Barucca



Figura 1: I migliori medici, Quando cambia la genetica sulla salute cardiaca?, DNA, 17 febbraio 2020

# Introduzione

Le **malattie oncologiche**, riscontrate ogni anno, rappresentano una grave problematica al giorno d'oggi.

Secondo quanto riportato dall'Associazione Italiana Registri Tumori (**AIRTUM**), ogni giorno vengono scoperti circa 1.000 nuovi casi di cancro.

Questa elevata incidenza giornaliera di neoplasie, non viene riscontrata solo nel nostro paese, ma nei paesi di tutto il mondo, rappresentando una delle **principali cause di morte**.



Figura 2: Dreamstime, Serie Di Icone A Colori Piatte Per Il Cancro. Leucemia Del Sarcoma Oncologico E Altro Ancora. Illustrazione Vettoriale - Illustrazione di piano, elemento: 214788550, DNA con icona linea oncologica. 30 marzo 2021



Figura 3: La voce di Asti, Il Consiglio regionale Piemonte aderisce alla "21 giorni challenge" per combattere il cancro, il cancro sulla pagina di un giornale, 04 febbraio 2021

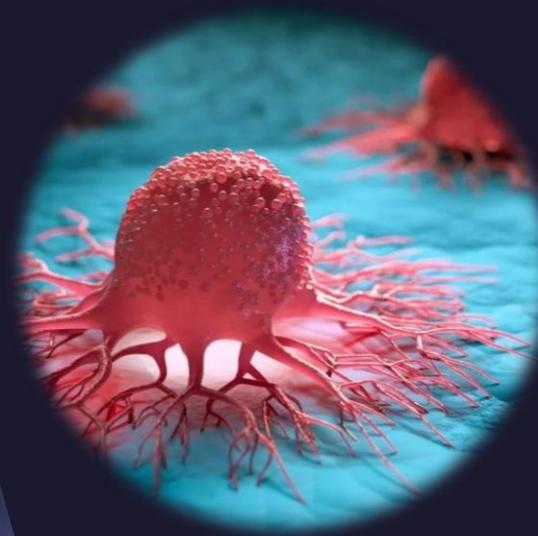


Figura 4: SaluteLab, Cancro, scoperto come trasformare le cellule malate in cellule sane, cellula tumorale al computer, 2 luglio 2022



# Come si sviluppa un tumore?



- I tumori hanno origine da cellule che subiscono **PROGRESSIONE TUMORALE**
- Nel ciclo cellulare hanno ruolo di primaria importanza gli **ONCOSOPPRESSORI**
- All'origine dello sviluppo dei tumori, vi sono alterazioni genetiche dette **MUTAZIONI**
- L'accumulo di mutazioni può dare origine a **MASSE TUMORALI**

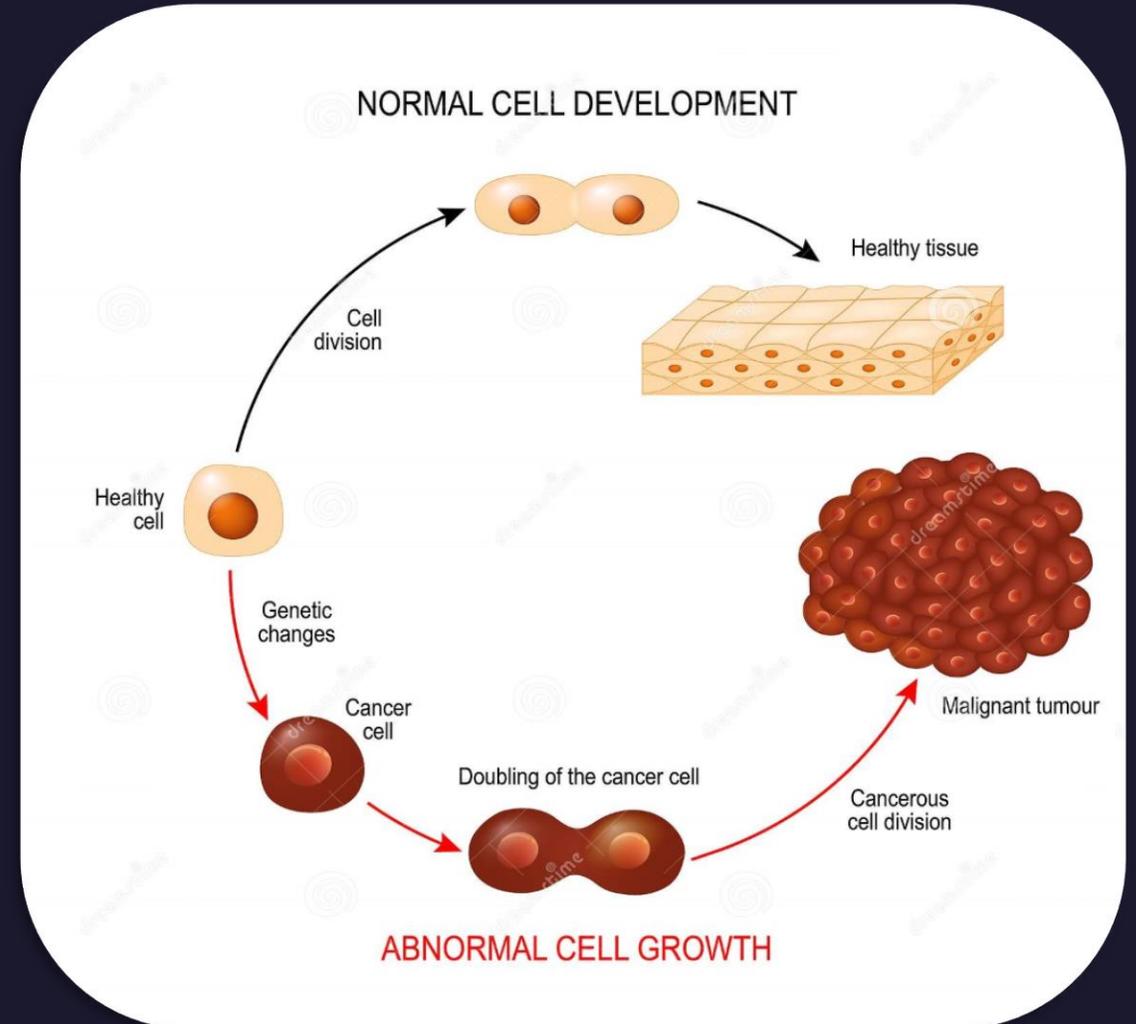


Figura 5: Alamy, Cancer cell and normal cell. Healthy tissue and Malignant tumour. illustration showing cancer disease development. Vector diagram for your design Stock Vector Image & Ar

# Distinguiamo le mutazioni in:



## SPORADICHE

Fattori scatenanti:

- **Stile di vita**
- **Ambiente**

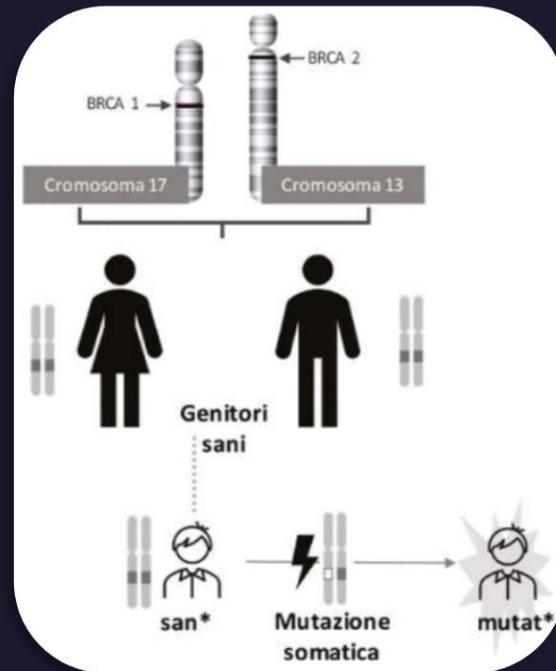


Figura 6: BRCA: dal “gene Jolie” all’appropriatezza...-  
Fondazione The Bridge, mutazioni somatiche.

In questo caso parliamo di **TUMORI SPORADICI**

## EREDITARIE

Mutazioni **trasmissibili alla progenie.**

Fattori rilevati nelle  
neoplasie familiari:

- Elevati casi di tumori
- Sviluppo tumori rari
- Insorgenza in età giovanile

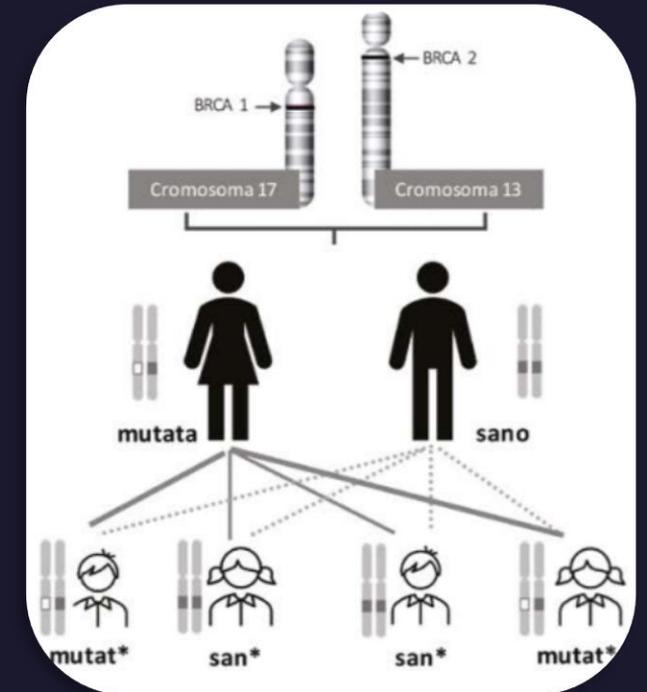


Figura 7: BRCA: dal “gene Jolie” all’appropriatezza...-  
Fondazione The Bridge, mutazioni ereditarie.

In questo caso parliamo di **TUMORI FAMILIARI**

# Soffermiamoci sui tumori familiari

**Cancro al seno/ovaie** : cancro più frequentemente diagnosticato nelle donne di tutto il mondo.



Figura 8: Pazienti.it, In quanto tempo si sviluppa il tumore al seno?, tumore al seno.

Secondo quanto riportato dall'articolo «The role of BRCA1/2 in hereditary and familial breast and ovarian cancers»

Dati riscontrati:

➤ **Stati Uniti** nel 2015 sono stati segnalati 200.000 nuovi casi con circa 40.000 decessi

➤ **Arabia Saudita** il cancro al seno rappresenta 20% decessi femminili



# Qual è il fattore scatenante alla base dello sviluppo del tumore al seno/ovaie?

RUOLI IN CUI SONO COINVOLTI:

## BRCA1

Risposta al danno del DNA

Progressione ciclo cellulare

Regolazione dei processi di trascrizione genica

## BRCA2

Esercita meccanismi di riparo del DNA attraverso le interazioni con RAD51

LOCALIZZAZIONE:

➤ BRCA1 : braccio lungo cromosoma 17

➤ BRCA2 : braccio lungo cromosoma 13

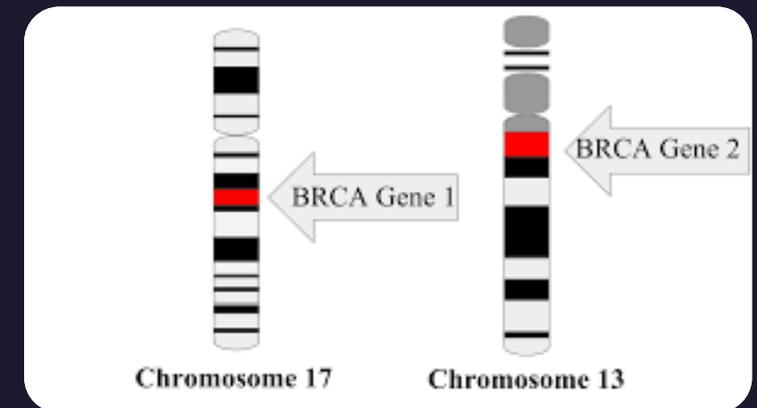


Figura 9: La differenza tra oggetti simili e termini, Differenza tra mutazione BRCA1 e BRCA2 / Genetica , localizzazione geni BRCA1 e BRCA2

# Geni BRCA

Modalità di trasmissione: **AUTOSOMICA DOMINANTE**

Causano gravi problematiche alla progenie



Quindi se mutati

Il rischio di sviluppare tumori associati a BRCA1 e BRCA2 non è limitato al seno e/o ovaie, ma le forme patogene di questi geni aumentano il rischio:

- **DONNA** : cancro peritoneale e cancro alle tube di Falloppio
- **UOMO** : cancro alla prostata
- **In entrambi i sessi** : cancro al pancreas

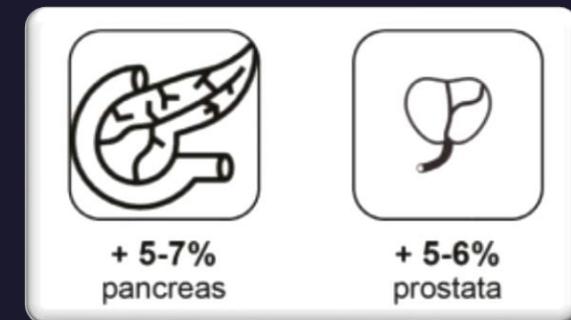


Figura 10: BRCA: dal “gene Jolie” all'appropriatezza..- Fondazione The Bridge , casi in percentuale di cancro al pancreas e alla prostata

# Studi

Con l'incremento  
dei malati  
oncologici

- Vengono offerti screening annuali (Risonanza magnetica mammaria)



Più  
recentemente



Vengono offerti  
test genetici e  
analisi molecolari

- Rilevano la presenza di alterazione dei geni BRCA1 BRCA2 influenzando la terapia di cura del cancro



Gli screening genetici vengono offerti a:

- Donne affette
- Donne **probabili portatrici della mutazione** (con storia familiare di cancro al seno e/o ovaie)

# Studi

---

La prevenzione al giorno d'oggi è possibile grazie a nuovi strumenti di sequenziamento all'avanguardia basate sui **Next Generation Sequencing (NGS)**.

NGS hanno portato alla scoperta di **nuove varianti**



---

## PROBLEMATICHE

Non tutte le varianti forniscono l'evidenza di un effetto patogeno per questo vengono classificati come **VUS** (Varianti di significato incerto).

## MOLTO IMPORTANTE

- Non sottovalutarli
- Valutare la probabilità che un VUS sia causa della malattia



# Analisi dei geni BRCA1 BRCA2 in 132 pazienti italiani con esordio precoce o storia familiare di cancro al seno/ovaie

In particolare:

- **11 senza storia familiare** di cui:
  - 5 portatrici di PV note
  - 2 portatrici di VUS
- **121 con storia familiare** di cui:
  - 86 con carcinoma mammario unilaterale
  - 14 con carcinoma mammario bilaterale
  - 9 con carcinoma mammario e cancro ovarico
  - 12 con cancro ovarico
- In generale in **34 soggetti** sono state rilevate **37 varianti** patogene
  - 24 varianti deleterie in BRCA1
  - 13 varianti in BRCA2

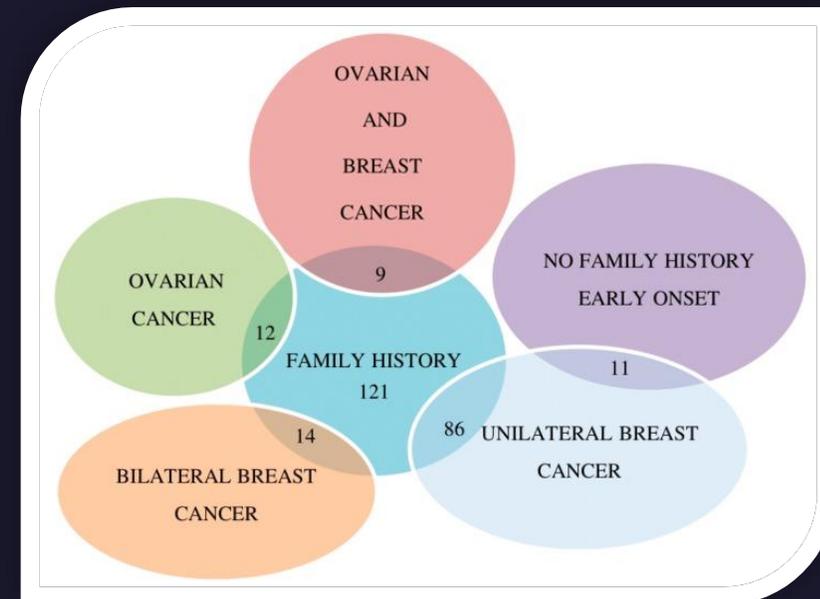


Figura II: BRCA1 and BRCA2, Testing through Next Generation Sequencing in a Small Cohort of Italian Breast/Ovarian Cancer Patients: Novel Pathogenic and Unknown Clinical Significance Variants, diagramma dei pazienti studiati, 12 luglio 2019

# Alcuni pazienti e le loro varianti

PAZIENTE CG98-18: Carcinoma mammario bilaterale

- Variante frameshift nel gene **BRCA2** (c.4899\_4902delCTTT) che porta alla **terminazione prematura della proteina**, quindi una proteina non funzionante. p.(Phe1634Ter)

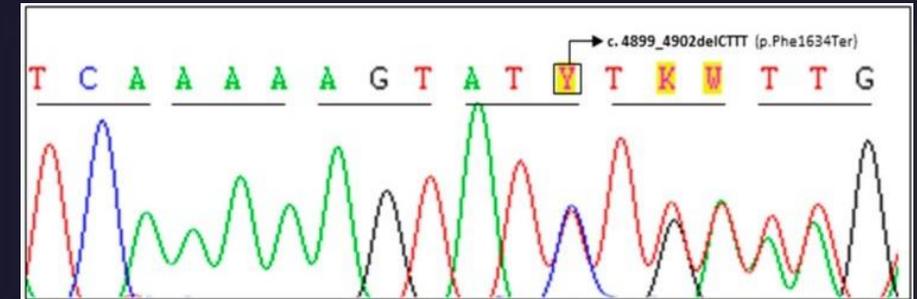


Figura 12: BRCA1 and BRCA2, Testing through Next Generation Sequencing in a Small Cohort of Italian Breast/Ovarian Cancer Patients: Novel Pathogenic and Unknown Clinical Significance Variants, elettroferogramma, 12 luglio 2019

STORIA  
FAMILIARE:

- Padre morto per cancro ai polmoni
- Zia paterna morta per cancro al seno
- Cugino con cancro al seno positivo al test BRCA

PAZIENTE FG65-19: Carcinoma mammario unilaterale

- Variante nel gene **BRCA2** (c.6590\_6591 insA). p.(Glu2198Ter)
- Classificato: Patogeno di CLASSE 5

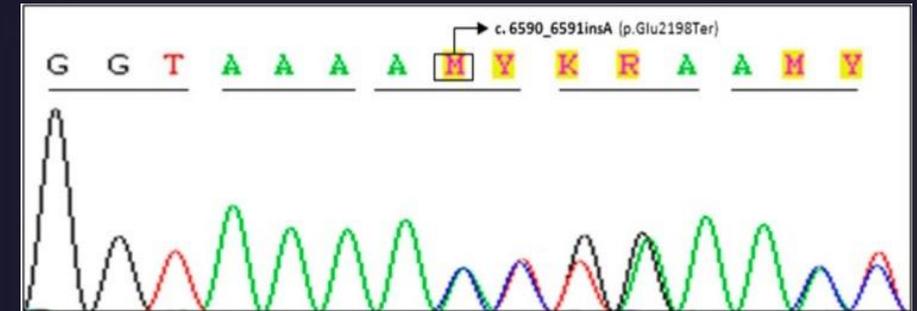


Figura13: BRCA1 and BRCA2, Testing through Next Generation Sequencing in a Small Cohort of Italian Breast/Ovarian Cancer Patients: Novel Pathogenic and Unknown Clinical Significance Variants, elettroferogramma, 12 luglio 2019

STORIA FAMILIARE: due sorelle affette

# Alcuni pazienti e le loro varianti

PAZIENTE DP97-18:

Carcinoma mammario

- Variante BRCA1 (c.5095C>T)  
p.(Arg1699Trp)
- **Delezione deleteria** del gene BRCA2  
(c.1238delT). p.(Leu413HisfsTer17)

Caso di **DOPPIA**

**MUTAZIONE:**

- BRCA2 ereditato dal padre
- BRCA1 ereditato dalla madre

STORIA

FAMILIARE:

- Soggetto III.6 (cugina del probando materno) diagnosi di carcinoma ovarico metastatico
- Soggetto III.1 (cugina paterna) diagnosi di carcinoma mammario, positiva alla variazione deleteria del gene BRCA2

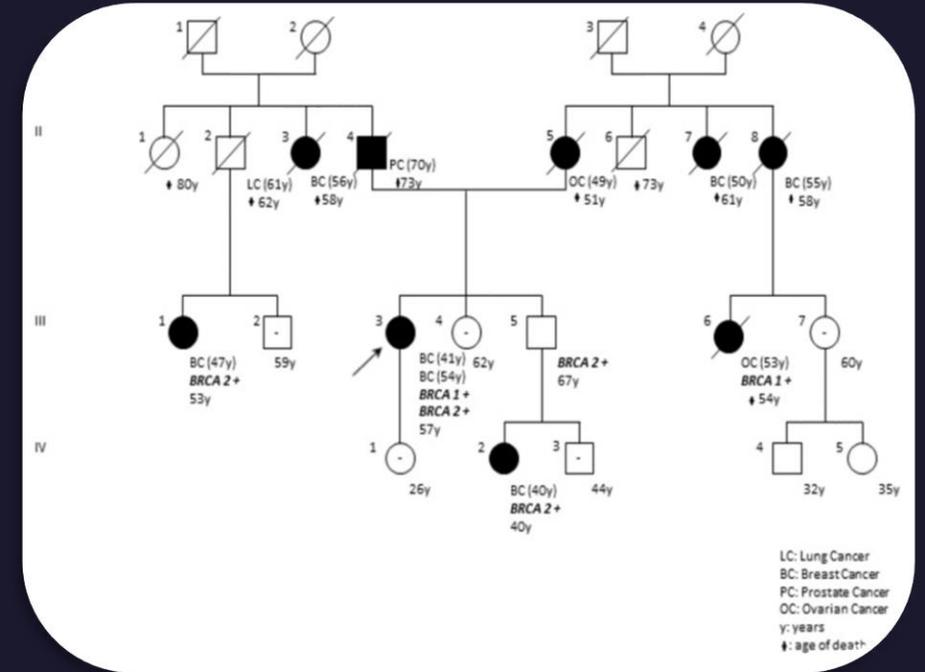


Figura 14: BRCA1 and BRCA2, Testing through Next Generation Sequencing in a Small Cohort of Italian Breast/Ovarian Cancer Patients: Novel Pathogenic and Unknown Clinical Significance Variants, albero genealogico, 12 luglio 2019

DOPPIA MUTAZIONE: frequentemente riscontrato nella popolazione ebraica Ashkenazita (**EFFETTO FONDATARE**).

# Alcuni pazienti e le loro varianti

Nuove varianti identificate:

➤ PAZIENTE OA78-18: Cancro al seno

Rilevata variante (c.7225C>T) in BRCA2

Classificato dal software Varsome: **VUS**

Sostituzione AA (Pro2490Ser)

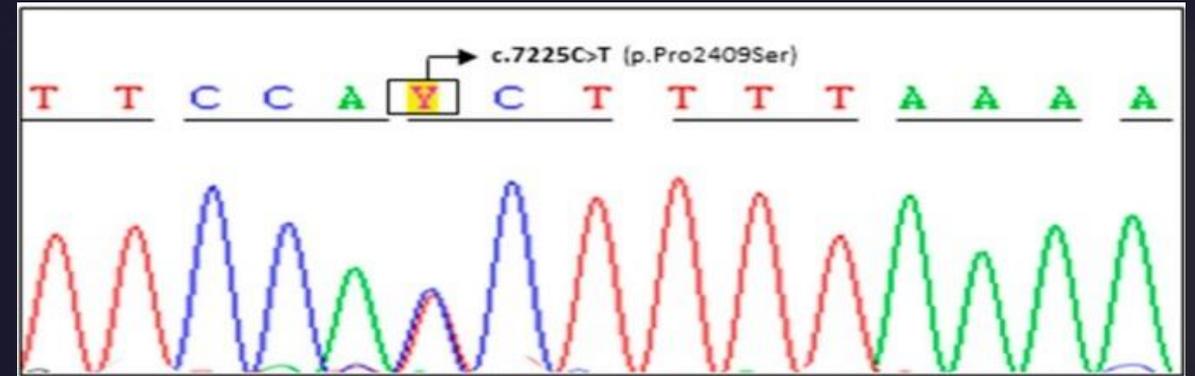


Figura 15: BRCA1 and BRCA2, Testing through Next Generation Sequencing in a Small Cohort of Italian Breast/Ovarian Cancer Patients: Novel Pathogenic and Unknown Clinical Significance Variants, elettroferograma, 12 luglio 2019

➤ PAZIENTE RR56-18:

rilevata **variante missenso** (c.5308G>T) in BRCA1  
p.(Gly1770Trp)

Classificata dal software Varsome: **PROBABILE  
PATOGENA**

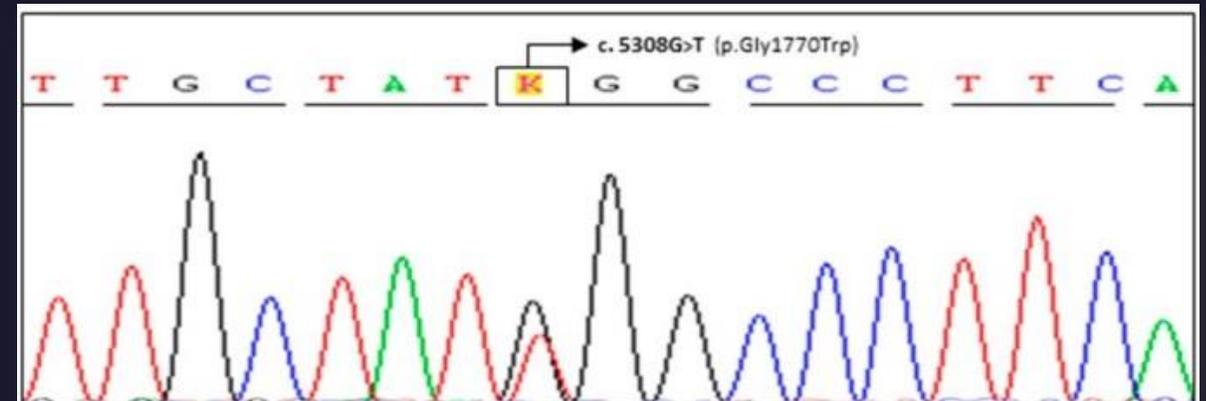


Figura 16: : BRCA1 and BRCA2, Testing through Next Generation Sequencing in a Small Cohort of Italian Breast/Ovarian Cancer Patients: Novel Pathogenic and Unknown Clinical Significance Variants, elettroferograma, 12 luglio 2019

Mutazioni da tenere in considerazione in quanto riscontrate in pazienti affetti da cancro

# Analisi molecolari

## STRUMENTI E METODICHE UTILIZZATE:

1. Estrazione DNA
2. Frammentazione DNA
3. I frammenti di DNA a singola elica si legano ad un substrato piatto mediante degli adattatori
4. Esecuzione PCR ponte
5. DENATURAZIONE
6. I fasci di DNA ottenuti vengono sequenziati mediante l'attacco di **NULCEOTIDI LEGATI A FLUOROCROMI**
7. I fluorocromi vengono sottoposti a: **FASCIO DI LUCE LASER**

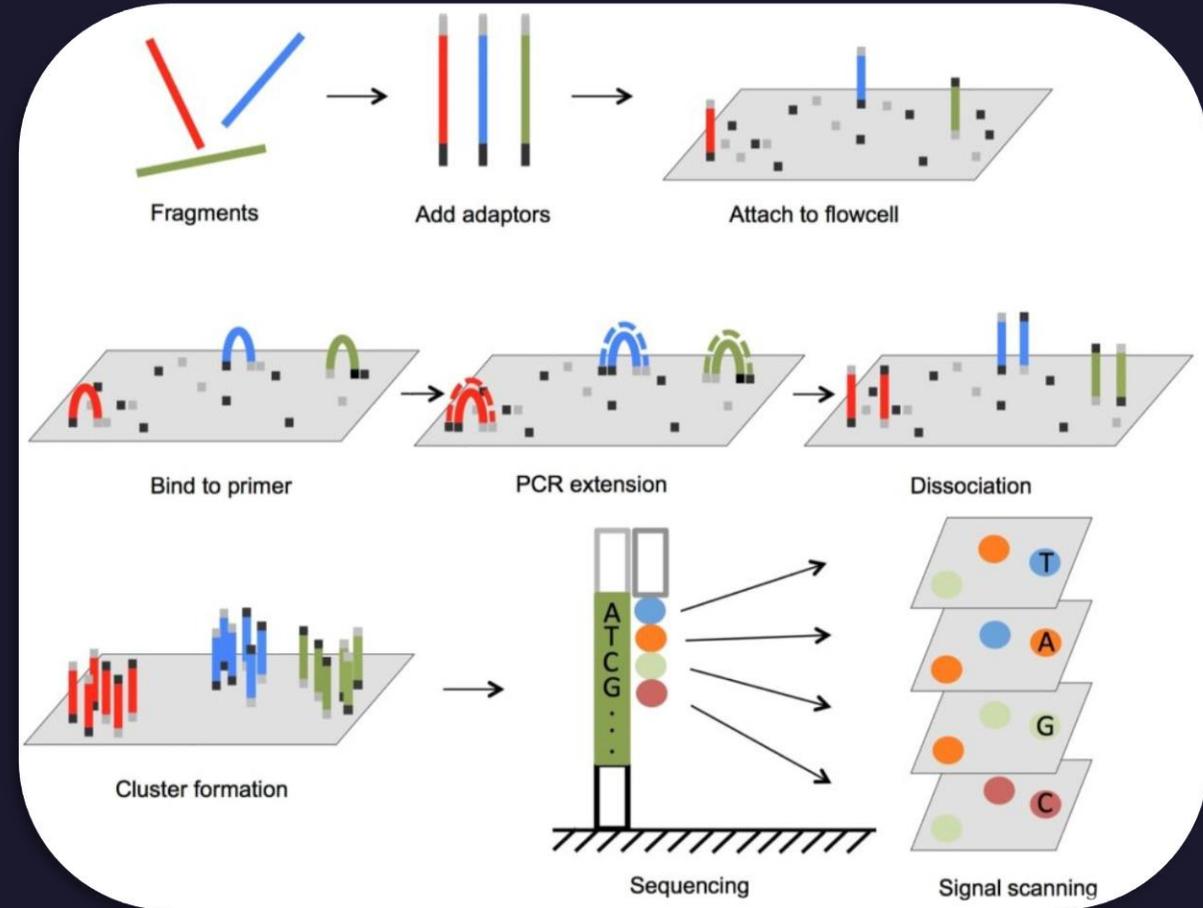


Figura 17: IntechOpen, Next Generation Sequencing in Aquatic Models, sequenziamento

# Conclusioni



- Correlazione sviluppo del cancro al seno/ovaie e mutazione dei geni BRCA
- Importanza nell'essere informati circa la propria storia familiare
- Estendere i test genetici e molecolari a tutti gli individui indipendentemente dal sesso
- Non ignorare il rischio
- Giusta classificazione dei VUS



# Grazie per l'attenzione



Figura 18: CDI Centro Diagnostico Italiano, Analisi di laboratorio e esami del sangue, biologa in laboratorio, 1 luglio 2022



Figura 19: Humanitas Gavazzeni, Esami di laboratorio, un'arma per la prevenzione, provette, 7 settembre 2021

# In sintesi



Le malattie oncologiche rappresentano una delle principali cause di morte al giorno d'oggi, per questo motivo sono oggetto di studio approfondito.

La ricerca si basa sull'analisi delle mutazioni genetiche e in particolare come quest'ultime possano essere trasmesse alla progenie aumentando il rischio dello sviluppo di neoplasie.

Dagli studi è stato osservato che i principali responsabili dello sviluppo di cancro al seno/ovaie sono le mutazioni a carico dei geni BRCA1 e BRCA2.

I geni vengono trasmessi alla progenie in modalità autosomica dominante, per questo motivo vengono offerti screening genetici ad individui probabili portatori della mutazione, ovvero che presentano storia familiare positiva di cancro al seno e alle ovaie.

Il sequenziamento di questi geni è possibile grazie all'utilizzo di nuove strumentazioni all'avanguardia basate sui NGS. A favore di ciò sono stati condotti studi dal dipartimento di Scienze di Laboratorio e Infettivologiche del Policlinico Gemelli, in collaborazione con ricercatori del Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche dell'università di Roma e Napoli.

Sono stati esaminati 132 pazienti italiani con carcinoma mammario/ovarico e sono state rilevate varianti di significato incerto (VUS), ancora al giorno d'oggi oggetto di studio, e 37 varianti patogene nei geni BRCA1 e BRCA2 in 34 soggetti. Da questi studi si evince l'importanza di conoscere la storia familiare al fine di individuare l'eventuale predisposizione genetica allo sviluppo di neoplasie e dare una giusta classificazione dei VUS così da permettere una corretta gestione dei pazienti.



Figura 1: “Le Ultime Notizie Di Salute e Benessere a Cura Dei Migliori Esperti.” Top Doctors, <https://www.topdoctors.it/articoli-medici/malattie-cardiache-quanto-influisce-la-genetica>.

Figura 2: Drypsiak, Oleksandra. “Serie Di Icone a Colori Piatte per Il Cancro. Leucemia Del Sarcoma Oncologico e Altro Ancora. Illustrazione Vettoriale - Illustrazione Di Piano, Elemento: 214788550.” Dreamstime, 30 Mar. 2021, <https://it.dreamstime.com/serie-di-icone-colori-piatte-per-il-cancro-leucemia-del-sarcoma-oncologico-e-altro-ancora-la-chemioterapia-tumori-al-torace-image214788550>.

Figura 3: Stampa, Comunicato. “Il Consiglio Regionale Piemonte Aderisce Alla ‘21 Giorni Challenge’ per Combattere Il Cancro.” La Voce Di Asti, Lavocediasti.it, 4 Feb. 2021, <https://www.lavocediasti.it/2021/02/04/leggi-notizia/argomenti/solidarieta-5/articolo/il-consiglio-regionale-piemonte-aderisce-alla-21-giorni-challenge-per-combattere-il-cancro.html>.

Figura 4: Corsale, Simona. “Cancro, Scoperto Come Trasformare Le Cellule Malate in Cellule Sane.” SaluteLab, 16 June 2022, [https://www.salutelab.it/cancro-scoperto-come-trasformare-cellule-malate-sane/?refresh\\_ce](https://www.salutelab.it/cancro-scoperto-come-trasformare-cellule-malate-sane/?refresh_ce).

Figura 5: Limited, Alamy. “Cancer Cell and Normal Cell. Healthy Tissue and Malignant Tumour. Illustration Showing Cancer Disease Development. Vector Diagram for Your Design Stock Vector Image & Art.” Alamy, <https://www.alamy.com/cancer-cell-and-normal-cell-healthy-tissue-and-malignant-tumour-illustration-showing-cancer-disease-development-vector-diagram-for-your-design-image389332547.html>.

Figura 6: BRCA: Dal “Gene Jolie” All’Appropriatezza ... - Fondazione the Bridge. [https://www.fondazionethebridge.it/wp-content/uploads/2019/09/QUADERNO-DIGITALE-BRCA-8\\_-1-apr.pdf](https://www.fondazionethebridge.it/wp-content/uploads/2019/09/QUADERNO-DIGITALE-BRCA-8_-1-apr.pdf).

Figura 7: BRCA: Dal “Gene Jolie” All’Appropriatezza ... - Fondazione the Bridge. [https://www.fondazionethebridge.it/wp-content/uploads/2019/09/QUADERNO-DIGITALE-BRCA-8\\_-1-apr.pdf](https://www.fondazionethebridge.it/wp-content/uploads/2019/09/QUADERNO-DIGITALE-BRCA-8_-1-apr.pdf).



Figura 8: Pazienti.it. “In Quanto Tempo Si Sviluppa Un Tumore Al Seno?” Pazienti.it, <https://www.pazienti.it/news-di-salute/in-quanto-tempo-si-sviluppa-un-tumore-al-seno-0110202>.

Figura 9: “Differenza Tra Mutazione Brcal e BRCA2 / Genetica.” La Differenza Tra Oggetti Simili e Termini., <https://it.sawakinome.com/articles/genetics/difference-between-brcal-and-brca2-mutation.html>.

Figura 10: BRCA: Dal “Gene Jolie” All’Appropriatezza ... - Fondazione the Bridge. [https://www.fondazionethebridge.it/wp-content/uploads/2019/09/QUADERNO-DIGITALE-BRCA-8\\_-1-apr.pdf](https://www.fondazionethebridge.it/wp-content/uploads/2019/09/QUADERNO-DIGITALE-BRCA-8_-1-apr.pdf).

Figura 11: Concolino, Paola, et al. “brcal And brca2 Testing through next Generation Sequencing in a Small Cohort of Italian Breast/Ovarian Cancer Patients: Novel Pathogenic and Unknown Clinical Significance Variants.” International Journal of Molecular Sciences, MDPI, 12 July 2019, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6678297/>.

Figura 12: Concolino, Paola, et al. “brcal And brca2 Testing through next Generation Sequencing in a Small Cohort of Italian Breast/Ovarian Cancer Patients: Novel Pathogenic and Unknown Clinical Significance Variants.” International Journal of Molecular Sciences, MDPI, 12 July 2019, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6678297/>.

Figura 13: Concolino, Paola, et al. “brcal And brca2 Testing through next Generation Sequencing in a Small Cohort of Italian Breast/Ovarian Cancer Patients: Novel Pathogenic and Unknown Clinical Significance Variants.” International Journal of Molecular Sciences, MDPI, 12 July 2019, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6678297/>.



Figura 14: Concolino, Paola, et al. “brca1 And brca2 Testing through next Generation Sequencing in a Small Cohort of Italian Breast/Ovarian Cancer Patients: Novel Pathogenic and Unknown Clinical Significance Variants.” *International Journal of Molecular Sciences*, MDPI, 12 July 2019, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6678297/>.

Figura 15: Concolino, Paola, et al. “brca1 And brca2 Testing through next Generation Sequencing in a Small Cohort of Italian Breast/Ovarian Cancer Patients: Novel Pathogenic and Unknown Clinical Significance Variants.” *International Journal of Molecular Sciences*, MDPI, 12 July 2019, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6678297/>.

Figura 16: Concolino, Paola, et al. “brca1 And brca2 Testing through next Generation Sequencing in a Small Cohort of Italian Breast/Ovarian Cancer Patients: Novel Pathogenic and Unknown Clinical Significance Variants.” *International Journal of Molecular Sciences*, MDPI, 12 July 2019, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6678297/>.

Figura 17: “Next Generation Sequencing in Aquatic Models.” IntechOpen, <https://www.intechopen.com/chapters/49419>.

Figura 18: “Analisi Di Laboratorio e Esami Del Sangue.” CDI Centro Diagnostico Italiano, 1 July 2022, <https://www.cdi.it/analisi-di-laboratorio/>.

Figura 19: “Esami Di Laboratorio, Un'arma per La Prevenzione.” Humanitas Gavazzeni, 7 Sept. 2021, <https://www.gavazzeni.it/news/esami-di-laboratorio-arma-prevenzione/>.

# BIBLIOGRAFIA

---



Concolino, Paola, et al. “BRCA1 And BRCA2 Testing through next Generation Sequencing in a Small Cohort of Italian Breast/Ovarian Cancer Patients: Novel Pathogenic and Unknown Clinical Significance Variants.” *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 20, no. 14, 2019, p. 3442., <https://doi.org/10.3390/ijms20143442>.

Hawsawi, Yousef M., et al. “The Role of brca1/2 in Hereditary and Familial Breast and Ovarian Cancers.” *Molecular Genetics & Genomic Medicine*, vol. 7, no. 9, 2019, <https://doi.org/10.1002/mgg3.879>.

“Benvenuti Nel Sito Dell' AIRTUM: Associazione Italiana Registri Tumori.” *Benvenuti Nel Sito Dell' AIRTUM | Associazione Italiana Registri Tumori*, 5 July 2022, <https://www.registri-tumori.it/cms/>.

Brogonzoli, Luisa, et al. *BRCA: Dal “Gene Jolie” All’Appropriatezza ... - Fondazione the Bridge*. [https://www.fondazionethebridge.it/wp-content/uploads/2019/09/QUADERNO-DIGITALE-BRCA-8\\_-1-apr.pdf](https://www.fondazionethebridge.it/wp-content/uploads/2019/09/QUADERNO-DIGITALE-BRCA-8_-1-apr.pdf).

