

DEDNA OBLIKA MALIGNEGA MELANOMA

Barbara Perić¹, Magdalena Avbelj², Marko Hočevar¹

¹ Onkološki inštitut Ljubljana

² Klinični center Ljubljana

Uvod

Maligni melanom kože je vse do osemdesetih let veljal tako v svetu kot v Sloveniji za relativno redko bolezen. V zadnjih dvajsetih letih pa incidenca raste s podvojitvijo vsakih 6 do 10 let. Incidenca malignega melanoma kože torej narašča hitreje kot incidenca drugih oblik raka. V Sloveniji je bila v letu 2001 incidenca malignega melanoma kože 13,2 na 100.000 prebivalcev, kar nas v primerjavi z drugimi evropskimi državami uvršča v zgornjo polovico. Višjo incidenco imajo v ZDA, v letu 2004 18 na 100.000 prebivalcev, in v Avstraliji, kjer je incidenca v letu 2004 kar 35 na 100.000 prebivalcev. Vzporedno z incidenco pa narašča tudi umrljivost. 5-letno preživetje bolnikov z malignim melanomom kože pade s 96% na 12% v primeru napredovale bolezni. Ker zbolijo pogosto mladi ljudje in zaradi omejenih možnosti zdravljenja v primeru napredovale oblike bolezni, je vse več raziskav usmerjenih v preventivo in zgodnje odkrivanje bolezni.

Dejavniki tveganja za pojav malignega melanoma so tako dejavniki okolja, kot tudi spremembe genoma. Na incidenco vplivajo geografska lokacija, izpostavljenost sončnim žarkom in tip kože. 10% bolnikov z malignim melanomom ima pozitivno družinsko anamnezo. Na splošno predstavlja pozitivna družinska anamneza 2-krat večje tveganje za pojav malignega melanoma.

Ko govorimo o družinski obliki malignega melanoma, to lahko razdelimo v tri skupine: sporadične primere melanoma, ki se naključno kopičijo v določenih družinah, družinsko obliko melanoma, ki je posledica nizko penetrantnih alelov, in družinsko obliko, ki je posledica visoko penetrantnih alelov. To zadnjo obliko imenujemo tudi dedna oblika malignega melanoma in je relativno redka, v to skupino sodi približno 1% vseh melanomov. O dedni obliki malignega melanoma govorimo, ko se ta pojavi pri dveh ali več posameznikih znotraj družine, značilno 10 do 20 let prej kot pri sporadičnih primerih, poleg tega pa imajo posamezniki pogosto multiple primarne melanome. V primeru družin, katerih člani imajo maligni melanom kože in/ali atipične nevuse, govorimo o FAMMM (Familial Atypical Multiple Mole/Melanoma) sindromu .

Visoko penetranten CDKN2A gen

CDKN2A gen na lokusu 9p21 je tumor supresorski gen, povezan z dedno obliko malignega melanoma. Produkt gena sta proteina p16 in p14ARF. Oba

proteina imata skupen drugi in tretji ekson, prvi ekson pa je različen. Ob nastanku p16 se prepiše ekson 1a, ob nastanku p14ARF pa ekson 1b. p16 inhibira kompleks ciklina D in kinaze 4 (CDK 4) ali kinaze 6 (CDK 6), kar posledično zavre fosforilacijo proteina Rb (protein retinoblastoma), celični cikel pa se ustavi v fazi G₁. Okvarjen protein p16 omogoči fosforilacijo proteina Rb, vstop v S fazo in prezgodnje nadaljevanje celičnega cikla. p14ARF prepreči razgradnjo p53, kar zaustavi tako fazo G₁ kot G₂. Poleg tega vpliva tudi na transkripcijske faktorje, na katere se veže protein Rb. Večina mutacij se nahaja na eksonu 1a ali na drugem eksonu. Pogostost teh mutacij naraste s približno 0.01% v splošni populaciji na 40% v družinah z dedno obliko malignega melanoma. Mutacije na drugem eksonu inaktivirajo tako p16 kot p14ARF. Do sedaj so odkrite le tri mutacije, ki se nahajajo na eksonu 1b. Pri bolniku z multiplimi primarnimi melanomi je bila dokazana insercija na eksonu 1b, v družini s štirimi obolelimi člani delecija, opisana pa je tudi substitucija pri dveh članih družine z malignim melanomom.

Spremenjen CDKN2A najdemo pri 50% družin s FAMM sindromom, a povezava gena s številom in displazijo nevusov še ni povsem jasna. CDKN2A je visoko penetranten gen, saj je tveganje za pojav malignega melanoma pri nosilcih mutacije, do osemdesetega leta starosti v Evropi 53%, v ZDA 76%, v Avstraliji pa kar 91%. Podatek kaže, da na penetranco mutacije gena CDKN2A znatno vpliva tudi količina UV žarkov v okolju, v katerem živimo.

Pri majhnem številu družin je opisana mutacija visoko penetrantnega CDK4 gena na kromosomu 12, ki inhibira vezavo proteina p16, v zadnjem času pa so raziskave pokazale da se na kratki ročici kromosoma 1 (1p22) nahaja lokus, ki je prav tako udeležen pri nastanku malignega melanoma (1,2).

Nizko penetrantni aleli, gen MC1R

Tudi nizko penetrantni aleli zvečajo tveganje za pojav malignega melanoma. Eden od teh genov je gen za receptor melanokortina (MC1R gen). Izpostavljenost UV žarkom zveča tvorbo melanina prek slabo poznanih mehanizmov, ki vključujejo direkten učinek žarkov na melanocite, MSH (melanocit stimulirajoči hormon ali melanotropin), aktivacijo melanocitov ter parakrini učinek dušikovega monoksida, ki ga izločajo keratinociti. MSH se veže na melanokortin-1-receptor melanocitov (MC1R) in stimulira tvorbo melanina. Ta je sestavljen iz dveh kemično različnih oblik pigmenta. Evmelanin, prevladujoč pigment pri ljudeh s temnejšo poltjo, je rjavo-črn in deluje fotoprotektivno. Rdeče-rumen feomelanin ima šibek fotoprotektivni učinek, ob fotoaktivaciji pa nastanejo kisikovi prosti radikali, ki delujejo citotoksično in mutageno. Razmerje evmelanin/feomelanin v koži posameznika je odgovorno za različne tipe kože. Pri rdečelascih je prevladujoč pigment v koži in laseh feomelanin, poleg tega pa tvorijo manj evmelanina, zato je njihova koža ob izpostavljenosti soncu hitro opečena in le malo porjavi. Kakšno bo razmerje pigmentov v koži, je odvisno od oblike MC1R. Gen za MC1R se nahaja na lokusu 16q24.3. Za ta gen je značilna visoka stopnja polimorfizma v populaciji, tveganje za pojav melano-

ma pa se pri nosilcu določenega alela zveča za 2 do 4-krat, a je znatno manjše kot v primeru mutacije CDKN2A. Določeni aleli so povezani z različnimi fenotipi oz. različnimi kliničnimi tipi kože. Trije aleli (Arg151Cys, Arg160Trp in Asp294His) so povezani s fenotipom, katerega značilnosti so rdeči lasje, pege in svetla polt, ki ne porjavi, ter predstavlja večje tveganje za nastanek malignega melanoma. Pri nosilcih enega od teh alelov se zveča tveganje kljub temnejši, olivni polti. Poleg tega so nekateri aleli MC1R gena verjetno udeleženi pri nastanku malignega melanoma, neodvisno od njihovega učinka na fenotip. Največje tveganje je morda povezano z alelom Asp84Glu. V avstralski populaciji je 72% bolnikov z melanomom nosilcev vsaj enega od opisanih alelov, v Veliki Britaniji pa 28% preiskovancev. Poleg tega so raziskave pokazale, da naraste penetranca mutacije CDKN2A v prisotnosti enega od opisanih alelov s 50% na 84%, ob tem pa se zniža povprečna starost pojava bolezni z 58 na 37 let (3,4).

Družinska oblika malignega melanoma v Sloveniji

V Sloveniji je predstavljalo začetek raziskav določanje prisotnosti mutacije na eksonih gena CDKN2A, ki kodirajo protein p16, pri osebah z družinsko obliko malignega melanoma. Raziskovalno delo poteka v sodelovanju z genetskim laboratorijem Pediatrične klinike v Ljubljani od leta 2002. Sprva je bilo preiskanih 10 družin z družinsko obliko melanoma. V 50% preiskovanih družin je bila dokazana prisotnost funkcionalno pomembne mutacije CDKN2A gena, kar je več kot je opisano v raziskavah na drugih populacijah. Pri vsaki od petih družin je prisotna druga mutacija, dve od teh do sedaj še nista bili opisani.

V družini s tremi bolniki je bila odkrita nova točkovna mutacija, substitucija v drugem eksonu, ki spremeni aminokislinsko zaporedje proteina p16. Prva bolnica je zbolela v starosti 57 let s štirimi sinhronimi primarnimi melanomi, v naslednjih dveh letih pa je bil odkrit še peti primarni melanom. Poleg nje so heterozigotni nosilci mutacije še štirje sorodniki. Mlajši sorodnik v drugem kolenu je zbolel v starosti 30 let, kar velja za zgoden začetek bolezni, poleg tega pa smo pred kratkim odkrili melanom tudi pri sorodniku v prvem kolenu, ki je zbolel v starosti 41 let.

Pri drugi družini je bila ugotovljena substitucija na področju izrezovalnega zaporedja na meji drugega eksona. Do sedaj je bila opisana le podobna mutacija na istem mestu, ki povzroči moteno izrezovanje drugega eksona in nastanek nefunkcionalnih proteinov p16 in p14ARF.

V tretji družini je bolnik z multiplimi primarnimi melanomi, ki je homozigot za točkovno mutacijo v prvem eksonu, ki povzroči zamenjavo aminokislin in je opisana pri dveh družinah v Italiji in Franciji.

Četrta odkrita mutacija je bila pogosto opisana predvsem v Franciji ter v centralni in severni Italiji. Tudi v tem primeru gre za mutacijo drugega eksona in zamenjavo aminokislin.

Mutacija, odkrita pri peti družini, je prisotna tudi drugje v Evropi in v Avstraliji. Najdemo jo na prvem eksonu, posledica pa je zamenjava aminokislin (5).

Trenutno na Onkološkem inštitutu poteka določanje prisotnosti mutacij genov CDKN2A in MC1R na do sedaj zbranih vzorcih DNK 44 bolnikov z družinsko obliko melanoma. Preiskujemo eksone, ki so potrebni za nastanek proteina p16, in ekson 1b, kjer se lahko nahaja mutacija, ki prizadene izključno delovanje p14ARF. Poleg tega skušamo ugotoviti, kateri od opisanih alelov gena MC1R, ki so povezani z večjim tveganjem za razvoj melanoma, so prisotni v slovenskih družinah. S pomočjo rezultatov bomo določili prevalenco in penetranco gena CDKN2A in gena MC1R pri slovenskih družinah z malignim melanomom.

Ker želimo naše znanje in rezultate primerjati z rezultati raziskovalnih skupin z vsega sveta, smo leta 2005 postali člani GenoMELA. Organizacija, ki je bila ustanovljena leta 1996, se je sprva imenovala Melanoma Genetics Consortium in je združevala le inštitute iz Velike Britanije, Švedske, Pensilvanije in Avstralije. Njen namen je bil predvsem odkriti visoko penetrantne gene malignega melanoma. Da pa bi lahko pojasnili, kako se spreminjajoča količina sončnih žarkov, različni tipi kože in prisotnost mutacije enega ali več genov združijo v nastanek melanoma, je potrebno združiti podatke številnih bolnikov z različnih geografskih leg. Melanoma Genetics Consortium je zato razširil svoje članstvo in se preimenoval v GenoMEL, kar označuje projekt, ki združuje številne ustanove iz Evrope, ZDA in Avstralije. Namen tega je pojasniti genetsko osnovo nastanka melanoma, pojasniti interakcijo odkritih genov z okoljem, oceniti tveganje, ki ga predstavljajo navade povezane s sončenjem, ter vse to predstaviti na svetovnem spletu. Naša udeležba bo omogočila slovenskim bolnikom, njihovim svojcem in širši javnosti dostop do kvalitetnih podatkov o dejavnih tveganja in preprečevanju ter odkrivanju in zdravljenju malignega melanoma.

Zaključek

Kljub velikemu napredku na področju zdravljenja malignega melanoma sta zgodnje odkritje in kirurško zdravljenje še vedno najpomembnejša dejavnika, ki vplivata na preživetje. Poznavanje genov, ki so povezani z večjim tveganjem za nastanek malignega melanoma, nudi možnost genskega testiranja, pri odkritih osebah z visokim tveganjem pa zgodnje odkritje malignega melanoma. Trenutno se gensko testiranje izvaja le v raziskovalne namene. Odsotnost znane mutacije v neki družini namreč ne izključuje zvečanega tveganja za nastanek melanoma, saj so lahko vključeni še neznani geni. Poleg tega v primeru odkrite mutacije ne moremo predvideti, kdaj se bo pojavila bolezen in v kakšen bo njen potek. Kljub temu je smiselno ponuditi testiranje bolnikom z dvema ali več obolelimi člani družine in bolnikom z več kot dvema primarnima melanomoma. Žal enotnega priporočila za nadaljnjo obravnavo nosilcev mutacij še nimamo. Bolnika, ki je nosilec mutacije, je potrebno poučiti o pomenu samopregledovanja. Svetujejo se tudi polletni pregledi pri specialistu, v primeru klinično sumljivih kožnih sprememb, pa se je bolje odločiti za zgodnjo odstranitev, kot za spremljanje in opazovanje. Pomembna je seveda tudi

uporaba zaščitnih sredstev in izogibanje pretirani izpostavljenosti sončnim žarkom.

Kljub temu, da je zaporedje dogodkov, ki pripeljejo do nastanka melanoma šele pred nekaj leti postalo predmet raziskav upamo, da bodo rezultati teh izboljšali predvsem preprečevanje bolezni in zaustavili naraščajočo incidenco melanoma.

Viri in literatura

1. Tsao H, Sober AJ, Niendorf BK, Zembowicz A. Case 6-2004: a 48-year-old woman with multiple pigmented lesions and a personal and family history of melanoma. *N Engl J Med* 2004; 350: 924-932.
2. de Snoo FA, Bergman W, Gruis NA. Familial melanoma: a complex disorder leading to controversy on DNA testing. *Fam Cancer* 2003; 2(2): 109-116.
3. Gibbs P, Brady BM, Robinson WA. The genes and genetics of malignant melanoma. *J Cutan Med Surg* 2002; 6(3): 229-235.
4. Kennedy C, Huurne J, Berkhout M, Gruis N, Bastiaens M, Bergman W et al. Melanocortin 1 receptor (MC1R) gene variants are associated with an increased risk for cutaneous melanoma which is largely independent of skin type and hair color. *J Invest Dermatol* 2001; 117(2): 294-300.
5. Avbelj M, Hocevar M, Trebusak-Podkrajsek K, Krzisnik C, Battelino T. A novel L94Q mutation in the CDKN2A gene in a melanoma kindred. *Melanoma Res* 2003; 13(6): 567-570.