

Rodzinny rak jajnika. Rola dysfunkcji genu *BRCA1* w odpowiedzi na leczenie chemiczne

Hereditary ovarian cancer. The role of *BRCA1* gene dysfunction in response to chemotherapy

Blecharz Paweł, Karolewski Kazimierz, Urbański Krzysztof

Klinika Ginekologii Onkologicznej, Centrum Onkologii, Instytut im. M.Skłodowskiej-Curie, Oddział Kraków, 31-115 Kraków, Polska

Streszczenie

Rodzinny rak jajnika przez wielu badaczy jest uważany za odrębną jednostkę chorobową. W porównaniu z jego sporadyczną formą postać dziedziczna ujawnia się wcześniej, częściej ma postać raka surowiczego, zwykle bardziej zaawansowanego. Za uwarunkowanie dziedzicznego raka jajnika odpowiedzialne są geny *BRCA1*, *BRCA2* oraz geny *MMR* (*MLH1*, *MSH2*, *PMS1*, *PMS2*).

Nosicielki mutacji wymagają regularnych badań profilaktycznych oraz procedur medycznych zmniejszających ryzyko zachorowania. Pomimo tego większość doniesień wskazuje na korzystniejsze rokowanie chorych na rodzinnego raka jajnika w porównaniu z postacią sporadyczną. Prawdopodobnie ma to związek z korzystną, z punktu widzenia działania cytostatyków platynopochodnych, dysfunkcją genu *BRCA1*. Takie zjawisko, nazywane profilem *BRCA1*-podobnym, spotykane jest również w niedziedzicznych rakach jajnika i wynika z mutacji somatycznej lub hipermetylacji promotora genu *BRCA1*. Powoduje ono upośledzenie procesów naprawy komórki.

Obecnie nowe grupy leków wykorzystujących dysfunkcje *BRCA1* są wprowadzane do praktyki klinicznej.

Słowa kluczowe: **rak jajnika / *BRCA1* / leczenie / chemioterapia /
ryzyko zachorowania / rokowanie /**

Summary

Hereditary ovarian cancer is often believed to be as a distinct disease. It is diagnosed earlier than its sporadic type; serous subtypes and more advanced stages are usually observed. Mutations of genes like *BRCA1*, *BRCA2*, *MMR* (*MLH1*, *MSH2*, *PMS1*, *PMS2*) are strictly associated with the heredity of ovarian and also breast cancer.

Systematic controls and specific procedures to lower the risk of those tumors are required for mutation carriers. Most authors emphasize better prognosis for patients with inherited type of ovarian cancer when comparing to sporadic one. It probably results from dysfunction of *BRCA1* gene, inducing better response to platinum-based cytostatic drugs. This phenomenon, called "BRCAness profile", is also observed in non-hereditary ovarian cancers and it arises from somatic mutation or hypermethylation of *BRCA1* promoter. Thus, the process of DNA repair is defective. Currently new groups of drugs using the *BRCA1* dysfunctions are being introduced into clinical practice.

Key words: **ovarian cancer / *BRCA1* / chemotherapy / risk / prognosis /**

Adres korespondencyjny:

Paweł Blecharz
Klinika Ginekologii Onkologicznej, Centrum Onkologii,
Instytut im. M.Skłodowskiej-Curie, Oddział Kraków,
31-115 Kraków, ul. Garncarska 11, Polska
tel. 501223772
e-mail: pawel.blecharz@interia.pl

Otrzymano: 10.01.2011
Zaakceptowano do druku: 20.02.2011

Wprowadzenie

W krajach środkowej i zachodniej Europy nabłonkowy rak jajnika (NRJ) jest nowotworem żeńskich narządów płciowych obarczonym największym odsetkiem zgonów [1]. Od kilku lat zachorowalność na NRJ rośnie, zajmując obecnie 2 miejsce za rakiem trzonu macicy [2]. Ryzyko populacyjne zachorowania na NRJ w ciągu całego życia wynosi 1,5-1,7% [3, 4]. Wykrywalność wczesnych stadiów jest niewielka, brakuje również skutecznego skryningu raka jajnika. Trzy czwarte przypadków NRJ jest wykrywane w III i IV wg FIGO stopniu zaawansowania a całkowite przeżycia 5-letnie w tych stadiach wynoszą 20-30% [5]. Wszystko to czyni obecnie raka jajnika jednym z największych wyzwań ginekologii onkologicznej w krajach cywilizacji zachodniej.

Spośród wszystkich NRJ około 11-15% stanowią przypadki o podłożu dziedzicznym, związanym z autosomalną dominującą predyspozycją o wysokiej penetracji, określane mianem rodzinnego NRJ [6, 7].

Ryzyko zachorowania na nowotwór jajnika w tych rodzinach jest podwyższone w różnym stopniu, w zależności od mutacji prowadzącej do wzrostu ryzyka choroby, ewentualnie, jeśli nie można zidentyfikować mutacji, od wywiadu rodzinnego [8]. U kobiet z obciążonym wywiadem rodzinnym, u których nie stwierdza się znanych germinalnych mutacji genetycznych związanych z NRJ ryzyko tej choroby pozostaje trudne do dokładnego określenia.

W tych wypadkach korzysta się z modeli matematycznych, bazujących na danych rodowodowych. I tak np. dla krewnej 1 stopnia kobiety z rakiem jajnika ryzyko wzrasta 3-krotnie; jeśli 2 krewne 1 stopnia cierpiały na tę chorobę – 11-krotnie [8].

Ta grupa kobiet powinna korzystać ze specjalnych programów opieki opartych na częstszej niż w ogólnej populacji diagnostyce narządu rodowego oraz piersi, jako że szczególna predyspozycja do zachorowania na NRJ jest związana również z podwyższonym ryzykiem raka piersi [9].

Istnieje wiele czynników modulujących ryzyko wystąpienia NRJ, takich jak liczba ciąż, karmienie piersią, stosowanie antykoncepcji hormonalnej [10]. Należy jednak zauważyć, że ich wpływ na ryzyko sporadycznego i rodzinnego NRJ jest różny. Nie zauważono np. wpływu karmienia piersią na ryzyko NRJ wśród kobiet z rodzinną predyspozycją, nie ma również dowodów na wpływ wieloródtwa na redukcję ryzyka NRJ w tej grupie kobiet [11,12, 13]

Wiele doniesień wskazuje na odmienną reakcję rodzinnego NRJ na leczenie, w porównaniu ze sporadycznym NRJ [14, 15, 16, 17].

Różnica ta widoczna jest zwłaszcza w reakcji na chemioterapię stosowaną jako standartowe leczenie uzupełniające, jakim są pochodne platyny w połączeniu z paklitaksemem. Podobne zjawisko, dotyczące chemioterapii indukcyjnej opisano w rodzinnym raku piersi związanym z mutacją *BRCA1* [18, 19].

Obecnie w piśmiennictwie zaczyna przeważać pogląd, że *BRCA1*-zależne raki jajnika roją lepiej, nierzadko obserwuje się nawet 10-letnie przeżycia w zaawansowanych stadiach [20].

Powyższe zagadnienia wskazują, że rodzinny NRJ stanowi odrębną podjednostkę wśród nowotworów ginekologicznych.

Celem poniższej pracy jest omówienie odmienności populacyjnej, klinicznej i patologicznej rodzinnego raka jajnika w porównaniu z jego sporadyczną postacią.

Definicja rodzinnego raka jajnika – rola genów *BRCA1/2* i *MMR*

Mianem rodzinnego raka jajnika zwykle określać się 3 zespoły nowotworowe:

1. Rodzinny rak jajnika (*site specific hereditary ovarian cancer; SSHOC*).
2. Rodzinny rak piersi i jajnika (*hereditary breast/ovarian cancer; HBOC*).
3. Rodzinny rak jajnika związany z zespołem Lynch'a (*rodzinny niepolipowaty rak jelita grubego, herediary non-polyposus colorectal cancer; HNPCC*).

Przypadki rodzinnego występowania raka jajnika opisano również w takich rzadkich zespołach jak zespół Peutz-Jeghersa, zespół Olliera czy Gorlina [3, 4].

Jak wspomniano wcześniej cechy rodzinnego występowania nowotworu stwierdza się około 10% wszystkich chorych na NRJ. W tej grupie nawet 90% stanowią przypadki związane z mutacją genów *BRCA1/BRCA2*, które są odpowiedzialne za SSHOC i HBOC. Natomiast poniżej 10% stanowią pacjentki z mutacją genów *MSH, MLH, PMS*, odpowiedzialnych za HNPCC [3].

Związek genu *BRCA1* z rodzinnym rakiem piersi i jajnika opisał po raz pierwszy w 1994 roku Miki i wsp. [21]. *BRCA1* jest genem supresorowym odpowiedzialnym za naprawę uszkodzeń podwójnej nici DNA, regulację transkrypcji i cyklu podziału komórki. Znajduje się na chromosomie 17q21. Białko *BRCA1* współdziała z innymi proteinami, takimi jak p53 czy RAD51, które pełnią istotną rolę w rekombinacji homologicznej i w naprawie uszkodzeń podwójnej helisy DNA. W ten sposób nie dopuszcza do powstania trwałych uszkodzeń helisy DNA i utraty kontroli nad komórką

W sytuacji uszkodzenia genu *BRCA1* dochodzi do aktywacji funkcji punktu kontrolnego (*check-point kontrole*) cyklu komórkowego, co powoduje skierowanie komórki na ścieżkę apoptozy lub zatrzymanie cyklu mitotycznego. Jeżeli dodatkowo dojdzie do dezaktywacji genu *p53* mechanizm ten nie działa i dochodzi do dalszej proliferacji komórki oraz kumulacji uszkodzeń DNA, co może prowadzić do rozwoju nowotworu [22].

Wpływ germinalnej mutacji genu *BRCA1* na rozwój raka piersi i jajnika opisano dokładnie i nie pozostawiono wątpliwości, co do skali ryzyka jakie powoduje jego wrodzona dysfunkcja. Chore z uszkodzonym genem *BRCA1* mają podwyższone 10-krotnie życiowe ryzyko raka piersi i nawet 25-krotnie – raka jajnika [23]. Ryzyko zaczyna przewyższać ryzyko populacyjne około 25-30 r.ż. i rośnie wraz z wiekiem.

W większości opisywanych w literaturze populacji, np. w populacji Żydów Aszkenazyjskich, w populacji polskiej czy norweskiej występuje tzw. efekt założyciela [24]. Oznacza to, że u ponad 90% nosicieli mutacji spotyka się zaledwie kilka charakterystycznych dla danej populacji uszkodzeń. Wynika to z jednorodności genetycznej populacji, czego przykładem są jednolite pochodzeniowo wyżej wymienione społeczności. Zidentyfikowanie mutacji założycielskich pozwoliło znacznie obniżyć koszty testu *BRCA1* w tych populacjach.

Aktualnie koszt testu *BRCA1* w Polsce wynosi od 200 do 400 złotych. Ponieważ w rodzinach z uszkodzeniem *BRCA1* spotyka się również wiele innych nowotworów niektórzy badacze sugerują jego wpływ na rozwój innych niż rak piersi i jajnika nowotworów.

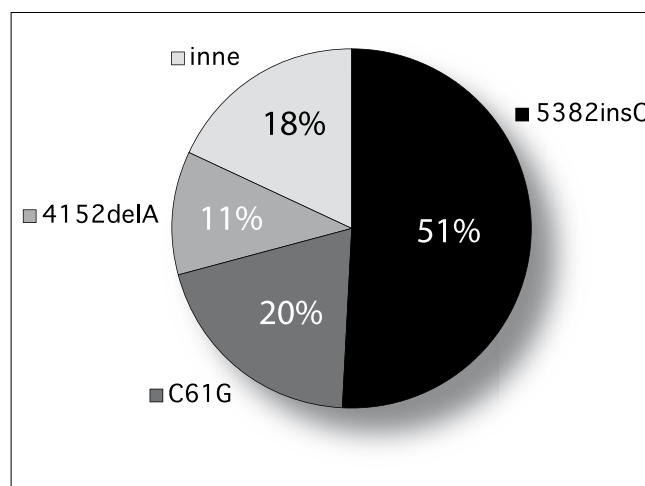
Istnieją doniesienia o wpływie mutacji BRCA1 rozwój raka prostaty czy *endometrium* [25, 26]. Nikt dotąd jednoznacznie nie potwierdził takiego związku. Rodzaje mutacji założycielskich genu *BRCA1* w populacji polskiej przedstawia rycina 1.

Ponieważ mutację *BRCA1* stwierdza się jedynie w 45% przypadków rodzinnego raka piersi i jajnika powstało pytanie, jakie czynniki powodują powstanie pozostałego odsetka przypadków [28]. Dalsze badania doprowadziły do zidentyfikowania kolejnego genu podatności na raka piersi i jajnika, jakim jest *BRCA2* [29]. Gen znajduje się na chromosomie 13q12-13. Jego funkcja i działanie produktu białkowego są prawdopodobnie zbliżone do działania produktu genu *BRCA1*. W przypadku mutacji genu *BRCA2* nie obserwuje się występowania „efektu założyciela”, co utrudnia jego badania na szeroką skalę, ponieważ pełne sekwencjonowanie jest kosztowne i wynosi około 6000 złotych. Dlatego badając gen *BRCA2* szuka się zwykle jego polimorfizmu, czyli różniących się od większości populacji, odmian genu. Obniża to znacznie koszty ale także czułość i swoistość testu. W populacji polskiej mutacje *BRCA2* są rzadkie i trudne do wykrycia, dlatego nie stosuje się ich do identyfikacji rodzin wysokiego ryzyka. Ponadto nie został dotąd – w przeciwieństwie do genu *BRCA1* – precyzyjnie określony wpływ mutacji *BRCA2* na wzrost ryzyka raka jajnika czy raka piersi wśród polskich kobiet [30].

Odmiernym zespołem dziedzicznym z punktu widzenia przyczyny, wywiadu rodzinnego i spektrum nowotworów jest rodzinny niepolipowaty rak jelita grubego, (*hereditary non-polyposus colorectal cancer, HNPCC*), zwany zespołem Lyncha, opisany po raz pierwszy w 1966 roku [31]. Charakterystycznymi dla zespołu Lyncha są zachorowania na niepolipowatego raka jelita grubego, raka żołądka, raka nerki, raka dróg moczowych z nabłonka przejściowego, raka dróg żółciowych, raka jajnika i *endometrium*, raka dwunastnicy i jelita cienkiego oraz glejaka. Mechanizm rozwoju raka jajnika w zespole Lyncha (HNPCC) jest spowodowany niestabilnością mikrosatelitarną (*microsatellite instability – MSI*) czyli nieodwracalną mutacją krótkich, powtarzalnych sekwencji DNA, o nie do końca poznanej dotąd funkcji, w obrębie tzw. genów *MMR (mismatch repair genes)*. Geny te należą do grupy genów naprawczych (mutatorowych) korygujących błędy w nici DNA tak, aby zachować prawidłowy układ par zasad. W HNPCC takie mutacje spotyka się w genach *MSH2, MLH1, PMS1, PMS2*. Niestabilność mikrosatelitarna występuje w większości przypadków HNPCC (55-86%) a różnice w doniesieniach wynikają najpewniej z różnej ilości badanych *loci* mikrosatelitarnych [32].

Prawdopodobieństwo rozwoju NRJ wśród nosicielek mutacji w genach naprawy wynosi 9-12%, jednak ze względu na niewielki materiał spotykany w piśmiennictwie dotyczący rodzinnego NRJ związanego z mutacją genów *MMR*, nie jest dokładnie określone [3, 4]. Ponadto ryzyko wystąpienia NRJ może podlegać modyfikacji przez inne czynniki, np. częstość występowania NRJ wśród krewnych lub polimorfizm innych genów. Podobne zjawiska obserwuje się również wśród nosicielek mutacji *BRCA1* [12].

Zarówno w przypadku NRJ związanego z mutacją *BRCA1* jak i *MMR*, niezbędna do rozwoju nowotworu jest tzw. utrata heterozygotyczności (*LOH – lost of heterozygosity*). Zgodnie z teorią „dwóch uszkodzeń” Knudsona, komórka z germinalną mutacją („pierwsze uszkodzenie”) taką, jak np. mutacja *BRCA1*, funkcjonuje normalnie dopóki aktywny jest drugi, prawidłowy



Rycina 1. Najczęstsze mutacje genu *BRCA1* w Polsce [27].

allel. Mutacja somatyczna tego allelu („drugie uszkodzenie”) spowodowana przez czynniki środowiskowe, powoduje całkowitą utratę funkcji genu i w przypadku genów supresorowych doprowadza do kumulacji uszkodzeń DNA i w konsekwencji do utraty kontroli nad komórką [33].

Postępowanie z członkami rodzin wysokiego ryzyka raka jajnika

Piśmiennictwo dotyczące oceny ryzyka choroby wśród nosicielek opisanych powyżej mutacji, schematów opieki na kobietami z rodzin wysokiego ryzyka, czynników zmniejszających szansę rozwoju nowotworów jajnika i piersi w tej populacji jest bardzo szerokie [34, 35, 36].

Dla populacji polskiej wytyczne dotyczące badań genetycznych oraz profilaktyki w rodzinach wysokiego ryzyka zostały określone w Narodowym Programie Zwalczenia Chorób Nowotworowych (NPZCN), finansowanym ze środków Ministerstwa Zdrowia. Zgodnie z nim w Polsce obowiązują następujące zalecenia dotyczące kwalifikacji do badań genu *BRCA1*:

Do badań kwalifikują się kobiety:

- z rodzin w których wystąpiły 3 lub więcej zachorowań na raka piersi i/lub jajnika wśród krewnych I i II° (włączając probantkę),
- krewnie I stopnia pacjentek u których rozpoznano zarówno zachorowanie na raka piersi i na raka jajnika (syn- lub metachronicznie),
- w rodzinach, których – niezależnie od wywiadu rodzinnego – wykryto patogenną mutację genów *BRCA1* lub *BRCA2*,
- z rodzin, w których wystąpiły 2 zachorowania na te nowotwory wśród krewnych I i II° (lub 2 zachorowania wśród krewnych II i III° ze strony ojca) - w tym zwłaszcza gdy przynajmniej u jednej chorej rozpoznano raka jajnika, a jedno zachorowanie wystąpiło przed 50 r.ż.,
- u bliskich krewnych chorych u których rozpoznano obustronnego raka piersi,
- wśród kobiet których matki lub siostry zachorowały na raka piersi przed 40 r.ż.

Badanie stanu genu *BRCA1* powinno wykonać się u pacjentki z rozpoznąną chorobą nowotworową piersi lub

jajnika – wtedy ocena statusu genu w rodzinie jest jednoznaczna. Jedynie w sytuacji, gdy żadna z chorych nie żyje, badanie należy przeprowadzić u krewnej I stopnia kobiety z rakiem piersi i/lub jajnika. W tej jednak sytuacji wynik negatywny nie wyklucza obecności mutacji u innych członków rodziny.

Podobne wytyczne spotyka się w piśmiennictwie światowym oraz w zaleceniach międzynarodowych towarzystw naukowych (ASCO, ESMO, USPSTF) [37, 38, 39].

Należy podkreślić, że nie zaleca się rutynowego stosowania testu *BRCA1* jako badania przesiewowego wśród kobiet niespełniających wyżej wymienionych kryteriów.

Zgodnie z zaleceniami NPZCN nosicielki mutacji genu *BRCA1* wymagają następującego postępowania profilaktycznego:

- 2 razy w roku badanie lekarskie i obrazowe piersi (mammografia/USG na przemian z MRI piersi) od 25 r.ż.,
- 2 razy w roku badanie ginekologiczne wraz z USG transwaginalnym i badaniem poziomu markera,
- CA125 w surowicy krwi od 30 r.ż.,
- wykonanie profilaktycznej adnektomii, najlepiej przed 40 r.ż.,
- ewentualna chemoprewencja raka piersi tamoksifenem lub raloksyfenem.

Zgodnie ze wspomnianymi powyżej zaleceniami pacjentki z rodzin wysokiego ryzyka, u których nie stwierdzono mutacji *BRCA1* także powinny być zakwalifikowane do następującego reżimu badań profilaktycznych:

- 1 raz w roku badanie lekarskie i obrazowe piersi (mammografia/USG na przemian z MRI piersi) od 25 r.ż.,
- 1 raz w roku badanie ginekologiczne wraz z USG transwaginalnym i badaniem poziomu markera
- CA125 w surowicy krwi od 30 r.ż.

Odmienności kliniczne rodzinnego raka jajnika

W porównaniu z przypadkami sporadycznymi rodzinnego NRJ wykazuje odrębności kliniczne, patologiczne i populacyjne. Wśród chorych na NRJ związanego z mutacją genu *BRCA1* wyjątkowo spotyka się śluzową postać raka. Również guzy o granicznej złośliwości nie są związane z dziedzicznym uszkodzeniem tego genu, podobnie jak raki płaskonabłonkowe, mięsaki oraz rozrodczaki jajnika. Raki jajnika spowodowane mutacją *BRCA1* są zwykle źle zróżnicowane, mają przewagę komponenty lityj nad torbielowatą; rzadko są diagnozowane we wczesnych stadiach a mediana wieku występowania jest około 10 lat mniejsza niż w przypadku sporadycznego NRJ. W badaniach immunohistochemicznych stwierdza się częściej nadekspresję p53 oraz wyższy indeks mitotyczny [40, 41, 3, 4, 13, 42].

Niezależnie od powyższego, najbardziej istotnym pytaniem pozostaje, czy chore na rodzinnego NRJ wymagają takiego samego postępowania jak przypadki sporadyczne i czy uszkodzenie genetyczne, powodujące tą chorobę jest czynnikiem predykcyjnym i prognostycznym. Wydaje się, że kluczowym problemem, związanym z poszukiwaniem odpowiedzi na to pytanie jest ocena platynowrażliwości nowotworu. Pochodne związków platyny od wczesnych lat 80-tych są standardem w leczeniu raka jajnika [43, 44]. Najpierw cisplatyna, a od roku 1995 – karboplatyna, są związkami o największej jak dotąd aktywności wobec NRJ. Nie budzi więc wątpliwości stosowanie ich w pierwszej linii leczenia chemicznego. Wiadomo jednak, że część chorych odpowiada na

Tabela 1. Nowe grupy leków działające na *BRCA1*-zależny szlak naprawy DNA w komórce nowotworowej.

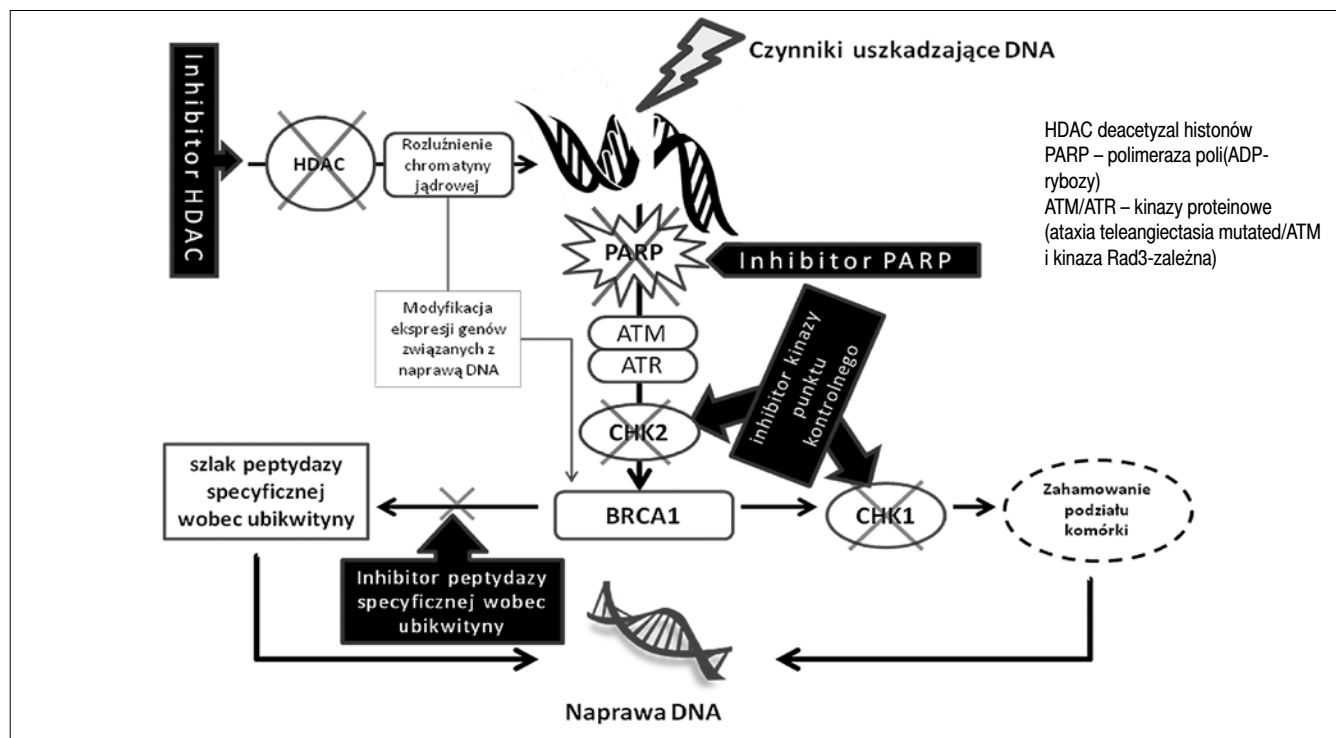
Klasa leków	Mechanizm działania
Inhibitory polimerazy poli (ADP-rybozy).	Zahamowanie PARP-zależnego szlaku naprawy DNA.
Wektory retrowirusowe zawierające prawidłowy gen <i>BRCA1</i> .	Przywrócenie prawidłowej ekspresji białka <i>BRCA</i> w komórkach guza w celu naprawy uszkodzeń DNA w komórkach guza – zahamowanie proliferacji.
Inhibitory HDAC (deacetylaz histonów) np. trichostyna A, vorinostat.	Rozluźnienie chromatyny jądrowej – ułatwienie dostępu cytotostatyków uszkadzających nie DNA; spadek ekspresji <i>BRCA1</i> mRNA i jego produktu białkowego – brak naprawy uszkodzonego DNA – apoptoza.
Inhibitory CHK1/2 (kinaz punktu kontrolnego 1 i 2).	Brak naprawy uszkodzonego DNA – skierowanie komórki na drogę apoptozy.
Inhibitory peptydazy specyficznej wobec ubikwityny.	Brak naprawy uszkodzonego DNA – skierowanie komórki na drogę apoptozy.

takie leczenie gorzej niż pozostałe [45]. Poddano ocenie wiele czynników mogących mieć potencjalny wpływ na odpowiedź na terapię związkami platyny. Były to między innymi ekspresja p53, bcl2, ERCC1 czy MMR-DNA [17]. Właśnie znalezienie markerów przewidujących platynowrażliwość nowotworu wydaje się być kluczowe w doborze odpowiedniej terapii chorych z NRJ [46]. Jak przedstawiono dalej, jednym z nich jest prawdopodobnie ekspresja białka *BRCA1/2*.

Ponieważ historia badań nad genem *BRCA1* jest stosunkowo krótka dopiero niedawno zaczęły ukazywać się doniesienia dotyczące wyników leczenia chorych na raka jajnika spowodowanego uszkodzeniem tego genu. W 2000 roku opisano retrospektywnie serię 34 chorych na raka jajnika nosicielek mutacji *BRCA1/BRCA2* i porównano ją z grupą 101 chorych na NRJ bez mutacji. Obserwacja dotyczyła Żydówek Aszkenazyjskich, ponieważ w tej populacji mutacje genów *BRCA* występują u 45-48% chorych na NRJ [14]. Badanie zwróciło uwagę na wyższy odsetek przeżyć wśród nosicielek mutacji oraz czas wolny od choroby. Zanotowano w tym badaniu wyższy odsetek odpowiedzi na leczenie wśród nosicielek mutacji. W tym samym roku ukazała się retrospektywna praca Boyda i wsp. porównująca zarówno cechy kliniczne jak i wyniki leczenia chorych na sporadycznego i *BRCA*-zależnego NRJ. Wyniki wskazywały na brak różnic w klinicznych i patologicznych cechach nowotworów lecz potwierdziły statystycznie istotną różnicę w czasie do nawrotu choroby, dłuższym dla chorych z nowotworem rodzinnym (mediana 7 vs. 14 m-cy) [41].

Kolejni autorzy również wskazują na korzystne prognostycznie znaczenie mutacji genów *BRCA1*, sugerując, że względne ryzyko nawrotu choroby i śmierci z powodu NRJ jest niższe w grupie nosicielek mutacji w porównaniu ze sporadycznym NRJ (OR odpowiednio 0,52 i 0,38). Warto zaznaczyć, że te dane dotyczą populacji polskiej [15].

Rodzinny rak jajnika. Rola dysfunkcji genu BRCA1 w odpowiedzi na leczenie chemiczne.



Rycina 2. Mechanizm działania leków działających na BRCA1 – zależny szlak naprawy DNA w komórce nowotworowej.

HDAC deacetylaza histonów, PARP – polimeraza poli (ADP-rybozy), ATM/ATR – kinazy proteinowe (ataxia teleangiectasia mutated/ATM i kinaza Rad3-zależna)

Największą jak dotąd grupę chorych na NRJ nosicieli mutacji *BRCA1* przeanalizowano w Izraelu dzięki stworzeniu narodowego rejestru chorych [47]. Jak wspomniano wcześniej nawet 35-50% chorych na NRJ Żydówkę Aszkenazyjskich jest nosicielkami mutacji *BRCA*. W grupie 392 kobiet z germinálną mutacją *BRCA1/2* stwierdzono wyższy 5-letni odsetek przeżyć całkowitych, zarówno w zaawansowanych jak i niezaawansowanych postaciach NRJ ($p=0,002$). Odsetek 5-letnich przeżyć dla nosicieli mutacji *BRCA1*, *BRCA2* i nienosicieli wynosił odpowiednio 45,1%, 52,5% oraz 33,5%. Różnice w przeżyciach pomiędzy nosicielkami mutacji *BRCA1* i *BRCA2* nie były istotne statystycznie choć inni autorzy wskazują na lepsze rokowanie wśród nosicieli mutacji *BRCA2* [20].

Następne prace potwierdziły wyższy odsetek 5-letnich przeżyć a także lepszą odpowiedź na terapię związkami platyny NRJ związanych z mutacją *BRCA1*, zarówno w pierwszym jak i w drugim i trzecim rzucie leczenia chemicznego [48].

Nowe leki stosowane w rodzinnym raku jajnika

Od kilku lat trwają badania nowych, aktywnych wobec nowotworów *BRCA*-zależnych, związków jakimi są inhibitory polimerazy poli (ADP-rybozy) w skrócie inhibitory PARP. Odgrywają rolę w hamowaniu jednego ze szlaków naprawy pojedynczej nici DNA. W komórce z prawidłową funkcją genu *BRCA* (tj. z przynajmniej 1 prawidłową kopią) ten szlak jest prawdopodobnie rezerwowym, natomiast jego przerwanie w komórce z uszkodzonym mechanizmem *BRCA*-zależnym (czyli homozygotą *BRCA1*-dodatnią) powoduje zahamowanie procesów naprawy, replikację uszkodzonej nici DNA, prowadząc w konsekwencji do apoptozy i śmierci komórki. Badania I i II fazy wykazały dobry

profil toksyczności i wysoką aktywność inhibitora PARP, olaparibu, wobec różnych nowotworów rozwijających się u nosicieli mutacji *BRCA* [49, 50]. W badaniu 50 chorych na NRJ związanego z mutacją *BRCA* wykazano wysoką aktywność olaparibu, w połączeniu z niską toksycznością, zwłaszcza wobec raków płatynowrażliwych [51].

Obok inhibitorów PARP poddane zostały badaniom inne związki, wykorzystujące mechanizm działania *BRCA1* jako cel terapeutyczny. Efekt terapeutyczny tych związków w teorii powinien nasilać się, podobnie jak w przypadku inhibitorów PARP, w komórkach z dysfunkcją genu *BRCA1* jako kluczowego punktu szlaku naprawy uszkodzeń podwójnej nici DNA. Konsekwencją ich działania ma być nieodwracalne uszkodzenie DNA komórki nowotworowej, powodujące uniemożliwienie dalszych mitoz i prowadzące do apoptozy.

Tabela 1 przedstawia zestawienie tych związków wraz krótkim opisem, a rycina 2 pokazuje schemat ich działania.

Jak dotąd większość związków należących do wyżej wymienionych grup nie ukończyła badań II fazy. Wydaje się, że do fazy III badań w nabłonkowym raku jajnika zostaną dopuszczone niektóre związki z grupy inhibitorów PARP (olaparib) i inhibitorów HDAC (walproinian hydralazy, worinostat).

Pojęcie profilu BRCA-podobnego

W pracy z 2004 roku Turner wprowadził pojęcie *BRCAness profile* (profil *BRCA*-podobny – tłumaczenie autora), określające fenotypowe i molekularne cechy wspólne zarówno dla *BRCA*-zależnych jak i sporadycznych raków jajnika, będących fenokopiami dla tych pierwszych [52]. Cechą podstawową raków wykazujących profil *BRCA*-podobny jest niska ekspresja białka *BRCA*, wynikającą bądź to z somatycznej mutacji jednego z genów *BRCA*,

a znacznie częściej z epigenetycznej hipermetylacji promotora genu BRCA, prowadzącej do spadku produkcji jego produktu białkowego. Podsumowując, komórka może być funkcjonalnie „BRCA-podobna”, pomimo braku mutacji, zarówno somatycznej jak i germlinalnej. Taka komórka nie jest zdolna do skutecznej naprawy uszkodzeń DNA spowodowanych m.in. przez pochodne platyny.

Charakterystyczną cechą kliniczną raków posiadających profil BRCA-podobny jest lepsza odpowiedź na związki platyny oraz inhibitory PARP i inne leki wymienione wcześniej. Profil genowy nowotworu określany jest metodą analizy mikromacierzy [53]. Oceniana jest ekspresja około 60 genów, takich jak TNF, APEX nukleaza 1 czy peptydaza specyficzna wobec ubikwityny, następnie wyniki analizowane są i porównywane algorytmami komputerowymi. W pracy Konstantinopoulou i wsp. z 2010 roku porównano odpowiedź *in vitro* na leczenie związkami platyny oraz inhibitorem PARP a także *in vivo* przeżycia całkowite (OS) oraz wolne od choroby (DFS) pomiędzy rakami wykazującymi fenotyp BRCA-podobny i pozostałymi [54]. Stwierdzono lepszą odpowiedź na terapię opartą na związkach platyny lub PARP dla raków o profilu BRCA-podobnym, choć liczba próbek *in vitro* była zbyt mała do osiągnięcia istotności statystycznej. Ponadto analiza porównawcza przeżyć w grupie 50 chorych o BRCA-podobnym NRJ (w tym 35 nosicieli mutacji BRCA1/2) z 20 chorymi na NRJ nie wykazującymi fenotypu BRCA pokazała istotną statystycznie różnicę w przeżyciach całkowitych OS i wolnych od choroby DFS (mediana odpowiednio 72 vs. 41 m-cy i 34 vs. 15 m-cy). Wysoki odsetek odpowiedzi na leczenie inhibitorami PARP uzasadnia się także wysoką proporcją mutacji somatycznych BRCA1/2 (około 40%) w sporadycznych rakach jajnika. Takie zjawisko oraz brak różnic klinicznych i patologicznych pomiędzy NRJ spowodowanymi somatycznymi i germlinalnymi mutacjami BRCA opisano w 2010 roku [55].

Podsumowując, można stwierdzić, że dotychczasowe doniesienia wskazują, że niski poziom ekspresji białka BRCA w NRJ koreluje z lepszą odpowiedzią na leczenie pochodnymi platyny i inhibitorami PARP oraz pozwala na uzyskanie większego odsetka czasu wolnego od wznowy i przeżyć całkowitych. Dotyczy to zarówno rodzinnych jak i sporadycznych raków jajnika, wykazujących profil BRCA-podobny. Równocześnie badania *in vitro* wskazują, że niska ekspresja BRCA1/2 powoduje spadek wrażliwości na inhibitory wrzeciona kariokinetycznego (mikrotubul), jakimi są powszechnie stosowane, stanowiące „złoty standard” w leczeniu uzupełniającym NRJ, taksany [16, 17].

Odwrotna sytuacja ma miejsce w wypadku prawidłowej, wysokiej ekspresji produktu genu BRCA1 – wtedy nowotwór jest platynooporny i taksanowrażliwy [17]. Wydaje się, że dotychczasowe dane kliniczne pozwalają na rozpoczęcie randomizowanych badań prospektywnych odnoszących się do tego problemu, tym bardziej, że są dowody na taką zależność w rodzinnym raku piersi [18, 56].

Podsumowanie

Diagnoza rodzinnej predyspozycji do zachorowania na raka jajnika oznacza, dla wielu wciąż zdrowych kobiet należących do grupy ryzyka, życie w strachu przed śmiertelną chorobą. Nosicielstwo mutacji genów BRCA1/2 dla wielu z nich związane jest z wysokim poziomem lęku przed nowotworem, co wpływa istotnie na jakość ich życia [57].

Z drugiej jednak strony wiele kobiet postrzega tę informację jako owocną do radzenia sobie ze stresem spowodowanym przeżywaną, na podstawie wywiadu rodzinnego, wrodzoną skłonnością do zachorowania na nowotwór [58].

Badania nad wrodzoną mutacją genów BRCA1/2 pozwoliły określić mechanizmy regulujące chemowrażliwość dziedzicznych nowotworów, dając nadzieję na skuteczniejsze leczenie nie tylko nosicieli mutacji ale również chorych na sporadycznego raka jajnika. Kolejne obserwacje potwierdziły lepsze rokowanie pacjentek z nowotworem rodzinnym, ponadto pozwoliły znaleźć nowe leki, mogące zwiększyć szansę wyleczenia w tej grupie chorych. Badania nad BRCA-zależnym rakiem piersi dostarczyły dowodów na różnice w chemowrażliwości nowotworów w zależności od ich statusu genetycznego [18, 19]. Wyniki tych doświadczeń są kolejnym krokiem rozwoju chemioterapii „skrojonej na miarę”, opartej o profil genetyczny nowotworu. Po badaniach mutacji germlinalnych u chorych na nowotwory rodzinne następnym etapem jest szersze wykorzystanie mikromacierzy w diagnostyce profilu genetycznego nowotworu oraz jego znaczenia predykcyjnego i prognostycznego.

Chociaż odsetek dziedzicznego raka jajnika stanowi jedynie 10-15% wszystkich przypadków tej choroby, to biorąc pod uwagę wzrost zachorowań na ten nowotwór w krajach cywilizacji zachodniej, rodzinny rak jajnika stanie się istotnym problemem klinicznym.

Znamy już skuteczne sposoby obniżenia ryzyka choroby u zdrowych nosicieli mutacji genów BRCA. Należy mieć nadzieję, że odkrycia ostatnich lat, pokazujące związek między ekspresją genu BRCA1 a wrażliwością nowotworu na stosowane leki pomogą opanować tą chorobę także po jej wystąpieniu.

Piśmiennictwo

1. Sant M, Allemani C, Santaquilani M, [et al.]. EUROCARE Working Group. EUROCARE-4. Survival of cancer patients diagnosed in 1995-1999. Results and commentary. *Eur J Cancer*. 2009, 45, 931-991.
2. Wojciechowska U, Didkowska J, Zatoński W. Nowotwory złośliwe w Polsce w 2006 roku. *Biuletyn Centrum Onkologii, Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Warszawa*, 2008.
3. Russo A, Calò V, Bruno L, [et al.]. Hereditary ovarian cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2009, 69, 28-44.
4. Prat J, Ribé A, Gallardo A. Hereditary ovarian cancer. *Hum Pathol*. 2005, 36,861-870.
5. Harmandayan G, Gao F, Mutch D, Virgo K, [et al.]. Ovarian cancer patient surveillance after curative-intent initial treatment. *Gynecol Oncol*. 2010, 120, 205-208.
6. Risch H, McLaughlin J, Cole D, [et al.]. Prevalence and penetrance of germline BRCA1 and BRCA2 mutations in a population series of 649 women with ovarian cancer. *Am J Hum Genet*. 2001, 68, 700-710.
7. Pal T, Permuth-Wey J, Betts J, [et al.]. BRCA1 and BRCA2 mutations account for a large proportion of ovarian carcinoma cases. *Cancer*. 2005, 104, 2807-2816.
8. Stratton J, Pharoah P, Smith S, [et al.]. A systematic review and meta-analysis of family history and risk of ovarian cancer. *Br J Obstet Gynaecol*. 1998, 105, 493-499.
9. Bergfeldt K, Nilsson B, Einhorn S, Hall P. Breast cancer risk in women with a primary ovarian cancer-a case-control study. *Eur J Cancer*. 2001, 37, 2229-2234.
10. Booth M, Beral V, Smith P. Risk factors for ovarian cancer: a case-control study. *Br J Cancer*. 1989, 60, 592-598.

Rodziny rak jajnika. Rola dysfunkcji genu BRCA1 w odpowiedzi na leczenie chemiczne.

11. Godard B, Foulkes W, Provencher D, [et al.]. Risk factors for familial and sporadic ovarian cancer among French Canadians: a case-control study. *Am J Obstet Gynecol.* 1998, 179, 403-410.
12. Narod S, Goldgar D, Cannon-Albright L, [et al.]. Risk modifiers in carriers of BRCA1 mutations. *Int J Cancer.* 1995, 64, 394-398.
13. Majdak E, Debniak J, Emerich J. Hereditary ovarian cancer as a separate clinical entity. *Ginekol Pol.* 2003, 74, 557-564.
14. Cass I, Baldwin RL, Varkey T, [et al.]. Improved survival in women with BRCA-associated ovarian carcinoma. *Cancer.* 2003, 97, 2187-2195.
15. Majdak E, Debniak J, Milczek T, [et al.]. Prognostic impact of BRCA1 pathogenic and BRCA1/BRCA2 unclassified variant mutations in patients with ovarian carcinoma. *Cancer.* 2005, 104, 1004-1012.
16. Quinn J, James C, Stewart G, [et al.]. BRCA1 mRNA expression levels predict for overall survival in ovarian cancer after chemotherapy. *Clin Cancer Res.* 2007, 13, 7413-7420.
17. Quinn J, Carser J, James C, [et al.]. BRCA1 and implications for response to chemotherapy in ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2009, 113, 134-142.
18. Byrski T, Gronwald J, Huzarski T, [et al.]. Polish Hereditary Breast Cancer Consortium. Response to neo-adjuvant chemotherapy in women with BRCA1-positive breast cancers. *Breast Cancer Res Treat.* 2008, 108, 289-296.
19. Byrski T, Gronwald J, Huzarski T, [et al.]. Pathologic complete response rates in young women with BRCA1-positive breast cancers after neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol.* 2010, 28, 375-379.
20. Vencken P, Kriege M, Hoogwerf D, [et al.]. Chemosensitivity and outcome of BRCA1 and BRCA2-associated ovarian cancer patients after first line chemotherapy compared with sporadic ovarian cancer patients. *Ann Oncol.* 2011, Jan 12. [epub ahead of print].
21. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, [et al.]. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science.* 1994, 266, 66-71.
22. Scully R, Livingston D. In search of the tumour-suppressor functions of BRCA1 and BRCA2. *Nature.* 2000, 408, 429-432.
23. Antoniou A, Pharoah P, Narod S. 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. *Am J Hum Genet.* 2003, 72, 1117-1130.
24. Ferla R, Calò V, Cascio S, [et al.]. Founder mutations in BRCA1 and BRCA2 genes. *Ann Oncol.* 2007, 18, Suppl 6, 93-98.
25. Beiner M, Finch A, Rosen B, [et al.]. The risk of endometrial cancer in women with BRCA1 and BRCA2 mutations. A prospective study. *Gynecol Oncol.* 2007, 104, 7-10.
26. Cybulski C, Górski B, Gronwald J, [et al.]. BRCA1 mutations and prostate cancer in Poland. *Eur J Cancer Prev.* 2008, 17, 62-66.
27. Górski B, Byrski T, Huzarski T, [et al.]. Founder mutations in the BRCA1 gene in Polish families with breast-ovarian cancer. *Am J Hum Genet.* 2000, 66, 1963-1968.
28. Reedy M, Gallion H, Fowler J, [et al.]. Contribution of BRCA1 and BRCA2 to familial ovarian cancer: a gynecologic oncology group study. *Gynecol Oncol.* 2002, 85, 255-259.
29. Wooster R, Bignell G, Lancaster J, [et al.]. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature.* 1995, 378, 789-792.
30. Gronwald J, Byrski T, Huzarski T, [et al.]. Hereditary breast and ovarian cancer. *J Hered Cancer Clin Pract.* 2008, 6, 88-98.
31. Lynch H, Shaw M, Magnuson C, [et al.]. Hereditary factors in cancer. Study of two large midwestern kindreds. *Arch Intern Med.* 1996, 117, 206-212.
32. Kordek R, Bartkowiak J. Niestabilność mikrosatelitarna w nowotworach człowieka. *Onkol Pol.* 1999, 2, 109-112.
33. Knudson A. Retinoblastoma: a prototypic hereditary neoplasm. *Semin Oncol.* 1978, 5, 57-60.
34. Heisey R, Carroll J, Warner E, [et al.]. Hereditary breast cancer. Identifying and managing BRCA1 and BRCA2 carriers. *Can Fam Physician.* 1999, 45, 114-124.
35. Kuschel B, Lux M, Goecke T, Beckmann M. Prevention and therapy for BRCA1/2 mutation carriers and women at high risk for breast and ovarian cancer. *Eur J Cancer Prev.* 2000, 9, 139-150.
36. Palma M, Ristori E, Ricevuto E, [et al.]. BRCA1 and BRCA2: the genetic testing and the current management options for mutation carriers. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2006, 57, 1-23.
37. Robson M, Storm C, Weitzel J, [et al.]. American Society of Clinical Oncology Policy Statement Update: genetic and genomic testing for cancer susceptibility. *J Clin Oncol.* 2010, 28, 893-901.
38. Balmaña J, Diez O, Rubio I, Castiglione M. BRCA in breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol.* 2010, 21, suppl 5, 20-22.
39. U.S. Preventive Services Task Force: Genetic risk assessment and BRCA mutation testing for breast and ovarian cancer susceptibility: recommendation statement. *Ann Intern Med.* 2005, 143, 355.
40. Lakhani S, Manek S, Penault-Llorca F, [et al.]. Pathology of ovarian cancers in BRCA1 and BRCA2 carriers. *Clin Cancer Res.* 2004, 10, 2473-2481.
41. Boyd J, Sonoda Y, Federici M, [et al.]. Clinicopathologic features of BRCA-linked and sporadic ovarian cancer. *JAMA.* 2000, 283, 2260-2265.
42. Menkiszak J, Górski B, Jakubowska A, [et al.]. Clinical characteristics of hereditary ovarian cancer (HOC) in Poland. *Ginekol Pol.* 2002, 73, 733-739.
43. Gershenson D, Wharton J, Herson J, [et al.]. Single-agent cis-platinum therapy for advanced ovarian cancer. *Obstet Gynecol.* 1981, 58, 487-496.
44. Hall D, Diasio R, Goplerud D. Cis-Platinum in gynecologic cancer. I. Epithelial ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol.* 1981, 141, 299-2304.
45. Lawton F, Kelly K, Sant Cassia L, Blackledge G. Speed of response to platinum-based chemotherapy: implications for the management of epithelial ovarian cancer. *Eur J Cancer Clin Oncol.* 1987, 23, 1071-1075.
46. Nguyen T, Wright J, Powell M, [et al.]. Prognostic factors associated with response in platinum retreatment of platinum-resistant ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2008, 18, 1194-1199.
47. Chetrit A, Hirsh-Yechezkel G, Ben-David Y, [et al.]. Effect of BRCA1/2 mutations on long-term survival of patients with invasive ovarian cancer: the national Israeli study of ovarian cancer. *J Clin Oncol.* 2008, 26, 20-25.
48. Tan D, Rothermundt C, Thomas K, [et al.]. BRCAness" syndrome in ovarian cancer: a case-control study describing the clinical features and outcome of patients with epithelial ovarian cancer associated with BRCA1 and BRCA2 mutations. *J Clin Oncol.* 2008, 26, 5530-5536.
49. Audeh M, Carmichael J, Penson R, [et al.]. Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and recurrent ovarian cancer: a proof-of-concept trial. *Lancet.* 2010, 376, 245-251.
50. Ratnam K, Low J A. Current development of clinical inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase in oncology. *Clin Cancer Res.* 2007, 13, 1383-1388.
51. Fong P, Yap T, Boss D, [et al.]. Poly(ADP-ribose) polymerase inhibition: frequent durable responses in BRCA carrier ovarian cancer correlating with platinum-free interval. *J Clin Oncol.* 2010, 28, 2512-2519.
52. Turner N, Tutt A, Ashworth A. Hallmarks of 'BRCAness' in sporadic cancers. *Nat Rev Cancer.* 2004, 10, 814-819.
53. Tonin P, Hudson T, Rodier F, [et al.]. Microarray analysis of gene expression mirrors the biology of an ovarian cancer model. *Oncogene.* 2001, 20, 6617-6626.
54. Konstantinopoulos P, Spentzos D, Karlan B, [et al.]. Gene expression profile of BRCAness that correlates with responsiveness to chemotherapy and with outcome in patients with epithelial ovarian cancer. *J Clin Oncol.* 2010, 28, 3555-3561.
55. Hennessy B, Timms K, Carey M, [et al.]. Somatic mutations in BRCA1 and BRCA2 could expand the number of patients that benefit from poly (ADP ribose) polymerase inhibitors in ovarian cancer. *J Clin Oncol.* 2010, 28, 3570-3576.
56. Wysocki P, Korski K, Lamperska K, [et al.]. Primary resistance to docetaxel-based chemotherapy in metastatic breast cancer patients correlates with a high frequency of BRCA1 mutations. *Med Sci Monit.* 2008, 14, 7-10.
57. Crotser C, Dickerson S. Women receiving news of a family BRCA1/2 mutation: messages of fear and empowerment. *J Nurs Scholarsh.* 2010, 42, 367-378.
58. Gronwald J, Huzarski T, Byrski T, [et al.]. Direct-to-patient BRCA1 testing: the Twoj Styl experience. *Breast Cancer Res Treat.* 2006, 100, 239-245.