

НАСЛЕДНИ КАНЦЕР: МОЛЕКУЛАРНИ МАРКЕРИ И ЊИХОВА ДЕТЕКЦИЈА

Мирјана Бранковић-Магић, Јелена Ракобрадовић, Ана Кривокућа,
Дијана Драча

Институт за онкологију и радиологију Србије, Београд

Апстракт. Док већина канцера настаје као последица стечених генских промена, као тзв. случајни или спорадични канцер, пропорционално мали део малигних тумора настаје као последица мутација у герминативним ћелијама у генима који се наслеђују по Менделовом закону, преносе се вертикално са родитеља на децу и представљају наследни канцер. За разлику од спорадичног канцера исте анатомске локализације, наследни канцер се предоминантно јавља у млађем животном добу и због тога, иако није чест, носи велики медицински и социоекономски значај. До данас је откривено да велики број малигних тумора различитих анатомских локализација, пре свега карцинома, може да носи наследну предиспозицију, а међу њима су карцином дојке, карцином јајника, фамилијарна полипоза, неполипозни карцином дебелог црева, медуларни карцином штитасте жлезде, наследни карцином бубрега, карцином желуца итд. Већина гена који дефинишу наследну предиспозицију спада у групу тумор супресорних гена. У генима одговорним за настанак наследне предиспозиције пронађен је велики број мутација и стално се откривају нове генске варијанте. Због тога је метода избора за детекцију наследних канцера провера структуре ДНК која чини дати ген, тј. метода секвенцирања. Могућност да оболеле окарактеришемо на основу поремећаја у важним ћелијским процесима који су последица мутација гена даће и могућност боље превенције малигних болести као и развитака циљаних терапија које треба да допринесу индивидуализацији антиканцерског лечења.

HEREDITARY CANCER: MOLECULAR MARKERS AND THEIR DETECTION

Abstract. Majority of cancers arise as a result of acquired genetic alterations and are considered as sporadic or random. However, proportionally small part of the malignant tumors arises as a consequence of inherited germline mutations which are transmitted according to Mendel's laws, vertically from parents to offspring. This type of cancer is called hereditary cancer. Unlike sporadic cancers of the same anatomic localization, hereditary cancer predominantly occurs in younger age and therefore has great medical and socioeconomic importance. It has been discovered that a large number of different malignant tumors (especially carcinomas) have strong inherited component, including breast cancer, ovarian cancer, familial polyposis, nonpolyposis colorectal cancer, medullary thyroid cancer, hereditary renal cell carcinoma, diffuse gastric cancer etc. Most of the genes responsible for hereditary predisposition belong to the tumor suppressor genes. A large number of mutations have been reported in these genes, but new gene variants have constantly been discovered. Therefore, sequencing the whole coding regions of these genes still represents the method of choice for hereditary cancer detection. The ability to characterize patients based on alterations in important cellular processes that result from gene mutations enables better prevention and development of targeted therapies for specific malignant diseases, which should contribute to the individualization of anticancer treatment.

Увод

Опште је прихваћено да сваки канцер настаје као последица генских мутација. Као резултат промена у одређеним категоријама гена у појединачним ћелијама долази до губитка контроле раста чиме започиње процес малигне трансформације ћелије.

Три основне категорије гена чије генске мутације доприносе настанку малигног фенотипа у ћелији јесу онкогени, тумор супресорни гени и гени за поправку ДНК.

Канцерогенеза може да буде резултат стечених али и наследних генетичких поремећаја. Већина малигнух тумора настаје као последица стечених генских мутација које се дешавају у соматским ћелијама различитих органа и са аспекта наследне предиспозиције то су тзв. случајни или спорадични канцери. Појава наследних болести у онкологији је ретка, па се може рећи да већина канцера свих анатомских локализација настаје случајно као спорадични канцер.

Међутим, пропорционално мали део малигних тумора настаје као последица мутација у герминативним ћелијама у генима који се наслеђују по Менделовом закону, преносе се вертикално са родитеља на децу и представљају наследни канцер. Наследна предиспозиција која носи високи или умерени ризик од обољевања пронађена је за читав низ анатомских локализација малигних тумора. Наследни канцер најчешће се манифестује накупљањем оболелих у појединим породицама и може се детектовати на основу присуства мутација у генима одговорним за ову предиспозицију. Сматра се да наследну предиспозицију са високим ризиком за обољевање носи, у зависности од анатомске локализације, око 5–10% свих оболелих. Међутим, код медуларног карцинома штитасте жлезде наследну предиспозицију носи чак 20% оболелих (1). За разлику од спорадичног канцера исте анатомске локализације, наследни канцер се предоминантно јавља у млађем животном добу.

Већина гена који дефинишу наследну предиспозицију за различите канцерске синдроме спада у групу тумор супресорних гена. Током малигне трансформације ови гени се инактивишу. Тумор супресори на фенотипском нивоу делују као рецесивни, што подразумева да обе копије гена морају бити мутиране да би дошло до развоја канцера. Кнудсонова хипотеза претпоставила је да је код наследних канцера једна копија гена (алел) већ измењена због наслеђене мутације у герминативним ћелијама (први догађај), док други генски алел бива измењен у соматским ћелијама током живота. Хипотеза предвиђа да је вероватноћа да се деси соматска мутација као други догађај у некој од ћелија организма много већа код носилаца мутације у герминативним ћелијама, него вероватноћа да се десе два догађаја у соматским ћелијама особа које нису носиоци мутација у герминативним ћелијама. Тиме се повећава ризик за обољевање код особа које су носиоци мутација у герминативним ћелијама (2).

Откриће повезаности између два *BRCA* гена (*BReast CAncer gene 1 and 2*) и настанка наследне форме карцинома дојке средином деведесетих година прошлог века (3, 4), заједно са развојем метода за детекцију мутација у овим генима, омогућило је тестирање наследне предиспозиције за настанак карцинома дојке, али омогућило је и карактеризацију гена одговорних за настанак наследних малигних тумора других анатомских локализација. До данас је откривено да велики број малигних тумора различитих анатомских локализација, пре свега карцинома, може да носи наследну предиспозицију, а међу њима су карцином дојке, карцином јајника, фамилијарна полипоза, неполипозни карцином дебелог црева, медуларни карцином штитасте жлезде, наследни карцином бубрега, карцином желуца итд. (Табела 1). Наслеђивање предиспозиције за настанак најчешћих наследних канцерских синдрома је моногенско, што значи да ове болести настају као последица герминативних мутација у једном гену. У већини канцерских синдрома наслеђивање саме мутације не значи и да ће особа

обавезно оболети од малигне болести, али вишеструко увећава ризик од обољевања.

Методологија за одређивање мутација у генима одговорним за настанак наследне предиспозиције

Детекција наследног канцера омогућена је увођењем техника молекуларне биологије у клиничку дијагностику – PCR реакције, секвенцирања, фрагментне анализе итд. Ове технике омогућиле су да се у дијагностичким лабораторијама могу одредити мутације (промене у структури ДНК која чини ген) у генима одговорним за настанак наследне предиспозиције као што су *BRCA1* и *BRCA2* за наследни карцином дојке и/или јајника, *APC* за фамилијарну аденоматозну полипозу, *RET* за *MEN2A* итд. Детекција наследног канцера у лабораторији је део комплексног процеса генског тестирања за наследни канцер. С обзиром на то да се ово тестирање односи на строго селектовану популацију оболелих и њихових сродника, неопходно је да се прво, према већ утврђеним критеријумима, одреде прави кандидати за тестирање. Методолошки гледано, извођење ових тестова је веома комплексно, али и интерпретација истих захтева високу обученост.

Оно што карактерише молекуларне маркере за већину наследних канцерских синдрома јесте чињеница да је у генима одговорним за настанак наследне предиспозиције пронађен велики број генских варијанти – мутација и да се стално откривају нове варијанте. Наравно да све пронађене мутације немају исти значај у односу на наследну предиспозицију за дати канцерски синдром већ се у тим генима могу открити, осим штетних мутација, и полиморфизми који немају штетан ефекат, али и тзв. неklasификоване варијанте (5).

Посебан проблем у тумачењу резултата генског тестирања за наследни канцер представља појава неklasификованих варијанти која означава присуство мутације која би могла бити штетна на основу позиције коју има у гену, тј. која може да утиче на неку од функција протеинског продукта гена. Међутим, без адекватног клиничког праћења релевантног броја носилаца овакве мутације и корелације са настанком малигне болести, оваква мутација не може се сврстати у штетне. По правилу, ова категорија резултата односи се на мале промене у генима *missense* типа, где у протеинском продукту долази до замене једне аминокиселине другом (5).

Због тога је метода избора за детекцију наследних канцера провера структуре ДНК која чини дати ген. Метода која се користи за одређивање мутација које доприносе наследној предиспозицији је метода секвенцирања.

Табела 1. Најчешћи канцери са наследном комјоненцијом

Главне туморске локализације	Ген	Учесталост мутације	Пенетрабилност (до 70. године живота)	Препорука за праћење и методе за редукацију ризика
Дојка, јајник, простата, дебело црево (колон)	<i>BRCA1</i>	Око 1 у 300	Женски карцином дојке 65–85% EMBRACE, 2013: 60% Билатерални карцином дојке 40–80% EMBRACE, 2013: 83% Карцином јајника 39–45% EMBRACE, 2013: 59%	Профилактичка хирургија (мастектомија/оофоректомија) Медикаментозна превенција (тамоксифен, ралоксифен, инхибитори ароматазе) Скрининг за дојку/јајник (мамографија, MRI; СА 125 и ултразвук јајника)
Дојка (укључујући и мушку дојку), јајник, простата, панкреас	<i>BRCA2</i>	Око 1 у 800	Женски карцином дојке 45–80% EMBRACE, 2013: 55% Билатерални карцином дојке 62% Карцином јајника 20% EMBRACE, 2013: 16,5% Мушки карцином дојке 6% Карцином простате 7,5%	Исто као и за <i>BRCA1</i>
Мултипли полипи са малигним потенцијалом на дебелом цреву (FAP)	<i>APC</i>	Око 1 у 14.000	Око 100%	Скрининг за дебело црево (колоноскопија, преглед горњег ГИ тракта) Профилактичка хирургија (колектомија) Медикаментозна превенција (COX-2 инхибитори)

Колоректум, ендометријум, јајник, можда и дојка (HNPCC)	Гени за „mismatch“ поправку ДНК, већином <i>MLH1</i> , <i>MSH2</i> , <i>MSH6</i>	Различите процене од 1 у 200 до 1 у 3000	Карцином дебелог црева код мушкараца до 80%, нешто нижи код жена Карцином ендометријума 40-60%	Скрининг за дебело црево (колоноскопија) Скрининг за ендометријум/ јајник (ултразвук/ биопсија) Профилактичка хирургија (колектомија, одстрањивање полипа) Медикаментозна превенција (COX-2 инхибитори)
Меланом и панкреас	<i>CDKN2A</i> <i>CDK4</i> <i>MC1R</i> ?	Непозната у општој популацији 20–40% фамилијарног меланома Око 75% у породицама са 4 или више случајева меланома	Меланом око 40% (већа пенетрабилност у Аустралији и САД)	Самопрегледи коже и дерматолошки прегледи Ексцизија суспектних лезија Модификација начина живота (редуковано излагање сунцу)
Желудац, лобуларни карцином дојке	Е-кадхерин (<i>CDH1</i>)	Непозната у општој популацији Испод 1% од свих канцера гастроинтести- налног тракта	Око 70%	Скрининг (ендоскопија) Профилактичка хирургија (гастректомија)
Мултипли полипи са малигним потенцијалом на дебелом цреву (FAP)	<i>APC</i>	Око 1 у 14.000	Око 100%	Скрининг за дебело црево (колоноскопија, прегледи горњег ГИ тракта) Профилактичка хирургија (колектомија) Хемопревенција (COX-2 инхибитори, дијететски фактори)
Медуларни карцином штитасте жлезде (MEN2A)	<i>RET</i>	98% MEN-2A, 98% MEN-2B 95% FMTC	Око 100%	Тиреоидектомија

Секвенцирање ДНК

Секвенцирање је метода којом се утврђује тачан редослед нуклеотида у ДНК.

Једна од првих метода одређивања секвенце ДНК је Сангерова метода употребом дидеокси-нуклеотида (ddNTP). Заснива се на чињеници да ДНК полимераза у растући ланац може да уграђује и аналоге нуклеотидних база, као и да се синтеза ДНК зауставља након уградње ddNTP. Аутоматизована Сангерова метода на аутоматском ДНК секвенатору подразумева употребу ddNTP од којих је сваки обележен једном од четири флуоресцентне боје које након екситације ласером емитују светлост на различитим таласним дужинама. Након уградње ddNTP, услед недостатка 3' хидроксилне групе на ddNTP, онемогућена је уградња следећег нуклеотида у тај молекул ДНК и тај фрагмент остаје обележен флуоресцентном бојом на ddNTP на свом 3' крају. Резултат реакције је смеша фрагмената ДНК различитих дужина, који на својим 3' крајевима имају уграђен ddNTP обележен флуоресцентном бојом. Да би се ишчитала секвенца ДНК потребно је фрагменте раздвојити по дужини и ишчитати редослед ddNTP на њиховим 3' крајевима. То се постиже раздвајањем компонената смеше на основу дужине капиларном електрофорезом на аутоматском ДНК секвенатору. Фрагменти под утицајем електричног поља путују кроз капилару испуњену полимером. Краћи фрагменти стићи ће пре до прозора за детекцију, прозирног дела капиларе на њеном супротном крају. Када фрагменти стигну до прозора за детекцију, ласерским зраком се екситују боје којима су ddNTP обележени. При враћању из екситованог у основно непобуђено стање боја емитује светлост одређене таласне дужине која је специфична за сваку од четири боје. CCD камером (енгл. *Charge-coupled device* – CCD) детектује се емитована светлост и редослед и јачина тих сигнала меморише у компјутеру. Обрадом података софтвером добија се редослед нуклеотида почетног ДНК молекула.

Технологије секвенцирања нове генерације (Next generation sequencing – NGS)

Нове технологије секвенцирања омогућавају много већу проходност узорака и добијање веће количине резултата за краће време.

Постоји неколико различитих платформи које се базирају на различитим методама секвенцирања. Заједничко за нове технологије секвенцирања јесте припрема ДНК библиотека пре самог секвенцирања. Припрема библиотека врши се фрагментацијом ДНК (сонификацијом или применом ензима), лигацијом адаптера и прајмера или бар-кодова и селекцијом фрагмената на основу величине. Након тога фрагменти се умножавају

PCR реакцијом, и то у емулзији за пиросеквенцирање у Ion Torrent систему и помоћу тзв. „polony” PCR за Illuminu и SOLiD.

„Polony” PCR подразумева PCR на слајду на чијој су површини везани адаптери. Фрагменти ДНК библиотеке везују се за адаптере својим комплементарним адаптерима који су им додати приликом припреме библиотеке. Овоме се додају компоненте потребне за PCR реакцију која се одиграва тако што се фрагмент ДНК савије и формира „мост” између два адаптера на слајду. Дволанчани продукти PCR реакције денатуришу се чиме се ослобађа једна њихова страна и добијају се групације умножених фрагмената ДНК који су једним својим крајем везани за слајд.

Технологија секвенцирања за Illuminu базира се на секвенцирању путем синтезе (енгл. *sequencing by synthesis* – SBS), односно на реверзибилној терминацији секвенцирања. Узорак припремљен „polony” PCR-ом садржи групације (кластере) истих ДНК фрагмената (ДНК фрагмената добијених амплификацијом једног од фрагмената из библиотеке). Тако припремљеном узорку додају се четири различита нуклеотида обележена различитим флуоресцентним бојама и блокирајућим групама (групе које блокирају уградњу следећег нуклеотида). Обележени нуклеотиди уграђују се наспрам комплементарних нуклеотида фрагмента који се секвенцира, а сигнал са уграђеног нуклеотида детектује се помоћу CCD камере. Затим се са уграђеног нуклеотида уклања флуоресцентна боја и блокирајућа група омогућавајући уградњу следећег нуклеотида и читавање његове боје итд. Тиме се мноштво фрагмената ДНК распоређених у кластерима паралелно секвенцира. Кластери омогућавају амплификацију сигнала и спречавају њихово мешање са околним сигнаlima са суседних фрагмената ДНК (6).

Наследни колоректални канцерски синдроми

Мање од 10% свих пацијената са колоректалним карциномом има изражену наследну предиспозицију за обољевање. У већини оваквих случајева идентификоване су узрочне генетичке варијанте које леже у основи болести (наследни колоректални карцином). Око 25% оболелих од колоректалног карцинома има изражену породичну историју болести али се не може сврстати у неки од познатих наследних канцерских синдрома па се стога и обележава као фамилијарни колоректални карцином (7, 8). Поред присуства ових облика болести и даље је најчешћи спорадични карцином колоректума од којег оболи чак 1,2 милиона људи годишње и код кога се не уочава накупљање оболелих у породици као ни изражена генетичка предиспозиција.

FAP (Фамилијарна адемајтозна полипоза)

FAP карактерише стотине и хиљаде аденоматозних колоректалних полипа који се јављају око 30. године живота. Чини око 1% свих случајева колоректалног карцинома (9). Заступљен је једнако код мушкараца и код жена (инциденце 1/10.000–30.000) и чини 1% свих случајева карцинома колоректума.

FAP је аутозомно доминантна болест узрокована герминативним мутацијама у APC (енгл. *Adenomatous Polyposis Coli*) гену. Већина пацијената има породичну историју болести али се код око 25% случајева јављају *de novo* мутације у овом гену (9). APC ген је тумор супресорни ген лоциран на дугом краку хромозома 5 у региону q21. Пронађено је преко 1500 мутација у овом гену у оквиру FAP. Највећи број чине *nonsense* (последица је престанак синтезе протеина) (28%) или *frameshift* мутације (мутације које доводе до померања оквира читања) (мале делеције- 46%, инсерције- 10%) које продукују скраћен нефункционални протеин. Велике делеције или дупликације APC гена чине 10–15% свих мутација (7). Пенеграбилност APC мутација је скоро 100%. Мутације у APC гену имају улогу и у развоју спорадичног колоректалног карцинома.

HNPCC (*Hereditary nonpolyposis colon cancer* – наследни неполипозни карцином дебелог црева)

HNPCC се другачије назива и *Lynch* синдром (LS) и представља најчешћи аутозомно доминантни канцерски синдром одговоран за око 3% свих карцинома (7). Пацијенти са LS имају 80% животни ризик за обољевање од колоректалног карцинома, а жене имају 60% ризик за обољевање од карцинома ендометријума (7). Повећан је и ризик за карциноме желуца, јајника, жучне кесе, танког црева, мозга, коже и урогениталне карциноме (9).

Мутације у 5 *missmatch repair* (MMR) гена укључене су у патогенезу ове болести: *MLH1* (3p21.3) одговоран је за 50% случајева, *MSH2* (2p22) за око 40% случајева, *MSH6* (2p16) за 7% случајева, *PMS2* (7p22) за мање од 5% случајева и ген одговоран за епителијални адхезиони протеин (*Epcam* ген) (2p21) одговоран је за 1–3% случаја и води наследном епигенетичком утишавању *MSH2* гена (7). Мутације у обе копије MMR гена воде акумулацији грешака у ДНК преобладајуће у сегментима ДНК који садрже кратке мултипле поновке познате као микросателити. Карциноме код пацијената са LS карактерише управо микросателитска нестабилност (MSI) (8, 9). Чак 90% LS карцинома и 80% аденома показују микросателитску нестабилност што може помоћи у ранијој дијагнози ове

болести. Тестирање присуства MSI подразумева поређење туморског и нетуморског ткива у смислу постојања промена у дужини полинуклеотида који су подложни истим типовима инсерција/делеција. Тестирање присуства мутација односи се на секвенцирање поменутих гена (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*...).

Наследни канцерски синдроми штитасте жлезде

Карциноми штитасте жлезде су ретке малигне неоплазме, чине 1% свих малигнитета и представљају најчешће малигнитете ендокриног система.

Медуларни карцином штитасте жлезде (МТС) обухвата око 5% од свих канцера штитасте жлезде (10). Наследна форма болести присутна је у око 20% случајева и може се појавити у оквиру мултипле ендокрине неоплазије 2А или 2В или као фамилијарни медуларни карцином штитасте жлезде, а базира се на присуству специфичних мутација герминативних ћелија у *RET* прото-онкогену (енгл. – *REarranged during Transfection* – *RET*). *MEN2* се преноси на аутозомно доминантан начин са комплетном пенетрабилношћу. Мутације *RET* прото-онкогена идентификоване су у 98% пацијената са *MEN-2A*, у преко 98% пацијената са *MEN-2B* и у 95% фамилија са *FMTC* (11).

Оно што карактерише мутације у *RET* прото-онкогену је изразито висока пенетрабилност, тако да су животни ризици за обољевање скоро апсолутни.

Агресивност медуларног карцинома штитасте жлезде зависи од специфичних *RET* мутација. У основи *MEN-2* је активирајућа мутација у *RET* прото-онкогену. Свака клиничка форма *MEN-2* резултат је специфичне мутације *RET* гена, са јаком корелацијом фенотипске експресије у погледу почетка и клиничког тока медуларног карцинома штитасте жлезде и присуства других ендокриних неоплазми и одговарајућег генотипа (12). У преко 90% случајева *MEN-2* синдроми су последица *missense* мутација *RET* гена. Мутације су доминантне, што значи да је потребан само један мутирани алел да се болест испоји. Најчешће мутирани кодон је кодон 634 у екстрацелуларном домену рецептора. Уочене су варијације у клиничкој експресији зависно од типа замене у кодону 634 (13).

Синдром мултипле ендокрине неоплазије тип 2А је наследан канцерски синдром који обухвата медуларни карцином штитасте жлезде, примарни хиперпаратиреоидизам (РНРТ) и феохромоцитом. Преко 95% особа са *MEN-2A* развија МТС, 50% особа развија феохромоцитом, 10–35% оболелих развија хиперпаратиреоидизам. *MEN-2A* је најуобичајенија клиничка форма *MEN-2* са 55% свих случајева (11). Јавља се са једнаком учесталошћу код жена и мушкараца.

Синдром мултипле ендокрине неоплазије тип 2В повезује медуларни карцином штитасте жлезде са феохромоцитомом, мултиплим мукозним неуромима, ганглионеуромима и марфаноидним хабитусом. MEN-2В је најређа клиничка форма MEN-2 и објашњава 5% случајева оболелих од MEN-2 (11). Представља најагресивнију форму MEN-2 синдрома.

Најмање агресивна клиничка форма MEN-2 је наследни медуларни карцином без асоцираних ендокринопатија (FMTС). FMTС чини 35–60% од свих случајева MEN-2 (11). Једина клиничка манифестација FMTС је медуларни карцином штитасте жлезде.

Препоруке за правовремено извођење профилактичке тиреоидектомије и обим хируршке интервенције базиране су на класификацији мутација RET прото-онкогена са аспекта ризика за развијање агресивног медуларног карцинома штитасте жлезде, у складу са генотип-фенотип корелацијама (14).

Наследни карцином дојке (НВОС)

Карцином дојке још увек је најчешће малигно обољење у женској популацији како у свету тако и у Србији. Уједно то је малигно обољење са највећом смртношћу, без обзира на побољшања на пољу како дијагностике тако и лечења ове болести. Показано је да и ова веома честа малигна болест садржи мали удео оболелих (5–10%) код којих постоји породично накопљање карцинома дојке као директна последица присуства наследне предиспозиције у датим породицама. Управо је наследна предиспозиција први пут дефинисана за карцином дојке и/или јајника открићем гена *BRCA1* и *BRCA2* који доприносе настанку болести. Сем наследне и спорадичне форме болести, уочава се да се у породицама 20–30% оболелих од карцинома дојке јавља накопљање оболелих без јасне повезаности са познатим канцерским синдромима и генима који их дефинишу. Овај облик назива се фамилијарним карциномом дојке.

Данас се зна за постојање чак више од 20 средње или високо пенетрабилних гена функционално укључених у сигналне путеве након оштећења ДНК, као и у механизме за поправку ДНК, који могу доприносити наследној предиспозицији за карцином дојке, док је списак ниско пенетрабилних гена значајно већи и креће се око броја 70 (15). Наиме, иако су *BRCA1* и *BRCA2* најчешће мутирани гени у наследном карциному дојке и јајника и иако се после њиховог открића веровало да ће мутације у овим генима објаснити целокупну генетичку предиспозицију за развој ове болести, чињеница је да су мутације у њима ретки догађаји и да се целокупни корпус наследне предиспозиције за карцином дојке и/или јајника не може комплетно покрити овим тестирањем. Чак и у високо ризичним

породицама са карциномом дојке, у којима су оболела четири или више сродника, учесталост *BRCA* мутација износи до 60%, док је у породицама са накупљањем оболелих од карцинома дојке и карцинома јајника тај проценат већи (1), мада новије студије показују и ниже проценте покривености наследне предиспозиције *BRCA* мутацијама (16, 17). Зна се и да сем *HBOC* постоје и други веома ретки канцерски синдроми у оквиру којих се јавља наследни карцином дојке као што су *Li-Fraumeni*, *Cowden*-ов, *Peutz-Jeghers*-ов, *Ataxia-Telangiectasia* синдром итд. Такође се последњих година пуно дискутује о томе да ли карцином дојке може бити део *Lynch*-овог синдрома, чиме би се удео наследног карцинома дојке у укупном корпусу оболелих од ове малигне болести значајно увећао.

Чињеница да постоји део наследне предиспозиције за карцином дојке који није био везан за мутације у познатим генима подстакла је даља истраживања гена који могу доприносити овој предиспозицији. Велики напори учињени су у циљу проналаска потенцијално трећег високо-пенетрабилног гена (*BRCA3*) који би био одговоран за онај део наследне предиспозиције коју *BRCA1/2* гени нису успели да објасне (17). С обзиром на то да такав ген након интензивног истраживања још увек није пронађен, постало је јасно да породично накупљање карцинома дојке и јајника ипак не може бити објашњено на једноставан начин уз помоћ неколико високо пенетрабилних гена. По новом полигеном моделу генетичке основе наследног карцинома дојке, поред већ поменутих високо пенетрабилних алела, постоји и велики број средње и ниско пенетрабилних алела који заједно доприносе ризику за оболевање. Дакле, велики број учесталих, ниско-ризичних варијанти има мултипликативан ефекат у одређивању укупног ризика за развој болести. Развојем нових технологија секвенцирања генома и паралелног тестирања многобројних гена, откривен је низ других гена који су повезани са карциномом дојке, што је подржало теорију полигеног модела. Конкретан ефекат као и опсег одговорности свих откривених варијанти и данас се испитује.

Због свега тога, детекција мутација у *BRCA1/2* генима још увек остаје главни правац за откривање наследне предиспозиције за карцином дојке у генском тестирању у клиничкој пракси.

BRCA1/2 гени спадају у групу тумор супресорних гена који играју важну улогу у одговору на ћелијски стрес путем активације процеса за поправку ДНК. Оба гена су велика, код оба гена је егзон 1 некодирајући и имају изразито велики егзон 11. *BRCA1* (17q21) има 22, а *BRCA2* (13q12) 26 кодирајућих егзона. Мутациони спектар оба гена је веома сличан са више од 2000 мутација детектованих до сада у сваком од њих. Мутације су распоређене дуж целог кодирајућег региона *BRCA1/2* гена без тенденције груписања у појединим регионима што отежава откривање мутација у овим генима. Око 70% од до сада идентификованих мутација по типу су

frameshift мутације. *Nonsense* мутације дешавају се у око 10% случајева. Учесталост *missense* мутација такође је око 10%. Више од 50% мутација је идентификовано само једном, тако да велики број породица са наследним карциномом дојке и јајника има своју специфичну мутацију (1, 18)

Као и већина гена који описују наследне канцерске синдроме и *BRCA* гени спадају у групу гена са високом, али и некомплетном пенетрабилношћу, што значи да неће свако ко носи мутацију у овим генима и оболети од малигне болести. Идентификација мутација у *BRCA1/2* генима може се користити само за процену ризика за настанак болести. Процене животног ризика за обољевање варирају у зависности од величине и групе болесница које су праћене, географског подручја, изабране старосне границе, као и од типа *BRCA* мутације. Резултати *EMBRACE (Epidemiological Study of Familial Breast Cancer)* студије из 2013. године (Табела 1) показали су да животни ризик за настанак карцинома дојке код жена носилаца *BRCA1* мутација до 70. године живота износи 60%, а за носиоце *BRCA2* мутација је 55%. *BRCA1* мутације узрокују појаву билатералног тумора дојке (животни ризик је чак 83%) као и појаву карцинома јајника (животни ризик 59%). Уз *BRCA2* мутације, уз настанак карцинома дојке код жена (животни ризик 55%), постоји животни ризик за билатерални карцином дојке (62%). Мутације у *BRCA2* гену повећавају ризик и за настанак карцинома дојке код мушкараца (животни ризик 6–7%), као и ризик за настанак карцинома јајника, нижи него онај који се везује за *BRCA1* мутације (16,5%) (19, 20). Уз мутације *BRCA2* гена везује се и појава наследног карцинома простате и карцинома панкреаса (20).

Препоруке за праћење здравих носилаца *BRCA1/2* мутација подразумевају посебне режиме клиничких и радиографских прегледа, али се овим методама не смањује ризик од обољевања већ се допушта да се болест открије у почетној фази када је излечива. Оно што за сада показује ефекте у смањењу ризика од обољевања су методе профилактичке хирургије – билатерална мастектомија смањује ризик за карцином дојке за најмање 90%, док билатерално одстрањивање јајника са јајоводима смањује ризик за обољевање од карцинома јајника за око 97%, али и од карцинома дојке за преко 60% (21, 22).

Закључак

Откриће наследних канцерских синдрома омогућило је боље разумевање процеса канцерогенезе. Појавом све већег броја гена који могу доприносити наследној предиспозицији за различите анатомске локализације канцера, проширује се и наше знање настанка и прогресије малигне болести. Могућност да оболеле окарактеришемо на основу поремећаја у

важним ћелијским процесима који су последица мутација гена, омогућиће бољу превенцију малигнух болести као и развитак циљаних терапија које треба да допринесу индивидуализацији антиканцерског лечења.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lindor MM, McMaster M, Lindor CJ, Greene MH. Concise handbook of familial cancer susceptibility syndromes. J Natl Cancer Inst Monogr. No 38, 2008.
2. Knudson A. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. Proc Natl Acad Sci USA. 68(4), 820–3, 1971.
3. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eldens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, Liu Q, Cochran C, Bennett LM, Ding W et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer-susceptibility gene BRCA 1. Science. 266, 66–71, 1994.
4. Wooster R, Bignell G, Lancaster J, Swift S, Seal S, Mangion J et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA 2. Nature. 378, 789–92, 1995.
5. Morris GJ. Assessing genetic variants of uncertain significance: the example of breast cancer. In: Els John Wiley & Sons Ltd. Chichester, 2013. <http://www.els.net> (DOI: 10.1002/9780470015902.a0025220).
6. Liu L, Li Y, Li S, Hu N, He Y, Pong R, Lin D, Lu L, Law M. Comparison of Next-Generation Sequencing Systems. J Biomed Biotechnol. 251364, 2012.
7. Schluskel AT, Gagliano RA Jr, Seto-Donlon S, Eggerding F, Donlon T, Berenberg J, Lynch HT. The evolution of colorectal cancer genetics – Part 1: from discovery to practice. J Gastrointest Oncol. 5(5), 326–35, 2014.
8. Strate LL, Syngal S. Hereditary colorectal cancer syndromes. Cancer Causes Control. 16(3), 201–13, 2005.
9. Bogaert J, Prenen H. Molecular genetics of colorectal cancer. Ann Gastroenterol. 27(1), 9–14, 2014.
10. Landa I, Robledo M. Association studies in thyroid cancer susceptibility: are we on the right track? Journal of molecular endocrinology. 47, R43–R58, 2011.
11. Raue F, Frank-Raue K. Genotype-phenotype correlation in multiple endocrine neoplasia type 2. Clinics. 67(1), 69–75, 2012.
12. Salehian B, Samoa R. RET gene abnormalities and thyroid disease: who should be screened and when? J Clin Res Pediatr Endocrinol. 5(1), 70–78, 2013.

13. Carlomagno F. Thyroid Cancer: Role of RET and beyond. *Eur Thyroid J.* 1(1), 15–23, 2012.
14. Frank-Raue K, Rondot S, Raue F. Molecular genetics and phenomics of RET mutations: Impact on prognosis of MTC. *Mol Cell Endocrinol.* 322(1–2), 2–7, 2010.
15. Bogdanova N, Helbig S, Dork T. Hereditary breast cancer: ever more pieces to the polygenic puzzle. *Her Ca Clin Pract.* 1, 12, 2013.
16. Meindl A, Ditsch N, Kast K, Rhiem K, Schmutzler RK. Hereditary breast and ovarian cancer. *Dtsch Arztebl Int.* 108(19), 323–30, 2011.
17. Apostolou P, Fostira F. Hereditary breast cancer: the era of new susceptibility genes. *Biomed Res Int.* 747318, 2013.
18. Branković-Magić M, Dobričić J, Krivokuća A. Genetics of breast cancer: contribution of BRCA1/2 gene alterations to hereditary predisposition. *Vojnosanit Pregl.* 69, 700–6, 2012.
19. Mavaddat M, Peock S, Frost D, Ellis S, Platte R, Fineberg E, Evans DG, Izzat L, Eeles R, Adlard J, Davidson R, Eccles D, Cole T, Cook J, Brewer C, Tischkowitz M, Douglas F, Hodgson S, Walker L, Porteous ME, Morrison PJ, Side LE, Kennedy MJ, Houghton C, Donaldson A, Rogers MT, Dorkins H, Miedzybrodzka Z, Gregory H, Eason J, Barwell J, McCann E, Murray A, Antoniou AC, Easton DF, on behalf of EMBRACE. Cancer Risks for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from prospective analysis of EMBRACE. *J Natl Cancer Inst.* 105(11), 812–22, 2013.
20. Liede A, Karlan BY, Narod SA. Cancer risk for male carriers of germline mutations in BRCA1 or BRCA2: a review of literature. *J Clin Oncol.* 22(4), 735–42, 2004.
21. Rebbeck TR, Friebel T, Lynch HT et al. Bilateral prophylactic mastectomy reduces breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: the PROSE study group. *J Clin Oncol.* 22(6), 1055–62, 2004.
22. Rebbeck TR, Kauff ND, Domchek SM. Meta-analysis of risk reduction estimates associated with risk-reducing salpingo-oophorectomy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst.* 101, 80–7, 2009.