

Vyšetření mutací genů BRCA1 a BRCA2 v nádorových tkáních – možnosti a limitace

Hana Vošmiková, Aleš Ryška, Kateřina Siegllová, Jan Laco

Fingerlandův ústav patologie LF UK a FN, Hradec Králové

SOUHRN

Rozvoj cílené biologické léčby nádorových onemocnění je spojen s vyhledáváním markerů umožňujících predikovat odpověď na příslušný lék. V poslední době se zájem soustředí na karcinomy ovaria a novou terapii inhibitory proteinů poly(ADP-ribose)polymerázy (PARP), jaderných enzymů podílejících se na opravě jednovláknových zlomů DNA. Největší prospěch z podávání PARP inhibitoru mají pacientky s patogenní či potenciálně patogenní zárodečnou nebo somatickou mutací BRCA1 a BRCA2, genů zodpovědných za reparaci dvouvláknových zlomů DNA. V genech BRCA 1/2 je popsáno široké spektrum mutací od jednobodových záměn až po rozsáhlé delece, zahrnující někdy i několik exonů.

Na rozdíl od testování zárodečných mutací, jež je již mnoho let prováděno na pracovištích lékařské genetiky, somatické mutace doposud testovány nebyly. Detekce mutací BRCA1 a BRCA2 v nádoru se výrazně liší od diagnostiky germinálních mutací, ve srovnání s analýzou vzorků DNA z krve naráží na problémy vyplývající zejména z nerovnoměrného zastoupení nádorových buněk ve tkáni, heterogenity s přítomností více klonů nádorových buněk a infiltrace nenádorovými elementy, stejně tak jako na obtíže spojené s různě bohatou frakcí apoptotických a nekrotických buněk, které snižují průměrnou kvalitu izolované DNA. Z hlediska vyšetřovacích metodik se díky své komplexitě, rychlosti implementace do rutinního provozu a citlivosti detekce pro účely diagnostiky mutací BRCA 1/2 jeví jako nejvýhodnější metoda NGS. Při zavádění do rutinní laboratorní praxe musí být primárně kladen důraz na zajištění systému kontroly kvality. Vzhledem k velké pravděpodobnosti nálezů dosud nereportovaných změn v genech BRCA 1/2 by také bylo velmi výhodné vytvořit sdílenou databázi nalezených somatických variant v rámci ČR.

Klíčová slova: BRCA1 – BRCA2 – karcinom ovaria – FFPE – DNA – sekvenování nové generace – NGS

Testing of mutations in BRCA1 and BRCA2 genes in tumor tissues - possibilities and limitations

SUMMARY

Development of targeted cancer therapy is accompanied by a search for markers allowing prediction of response to the particular treatment. Recently, the interest is focused, among other neoplasms, also on the therapy of ovarian cancer using new inhibitors of poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) proteins, nuclear enzymes involved in the repair of single-stranded DNA breaks. The greatest benefit from the administration of PARP inhibitors have patients with a deleterious or potentially deleterious germ-line or somatic mutation of BRCA1 or BRCA2, two genes responsible for repair of double stranded DNA breaks. There has been described a wide spectrum of mutations of BRCA 1/2, from point substitutions to large deletions, including sometimes even several exons of the gene.

Unlike the testing of germ-line mutations provided for many years by the medical geneticists, somatic mutations in the tumor tissue have not been routinely tested so far. Detection of BRCA1/2 mutations in the tumor is significantly different from testing of germ-line mutations. In comparison with the analysis of DNA isolated from blood samples, testing of DNA isolated from the FFPE tissue encounters challenges based on heterogeneous representation of tumor cells in the tissue samples, on the presence of multiple neoplastic clones and on the infiltration of tissue by the non-neoplastic elements, as well as difficulties caused by variable proportion of apoptotic and necrotic cells deteriorating the overall quality of isolated DNA.

Regarding the testing methods, NGS appears to be the optimal choice because of its complexity, speed of implementation into routine diagnostics as well as sensitivity for detection of a BRCA 1/2 mutations. When introduced into everyday laboratory practice, the functioning quality control system is of utmost importance. Provided there is a high probability of detection of the so far unreported variations in BRCA 1/2 genes, an introduction of a shared database of somatic variants diagnosed in the Czech Republic would be of enormous benefit.

Keywords: BRCA1 – BRCA2 – ovarian cancer – FFPE – DNA sequencing – next generation sequencing – NGS

Cesk Patol 2016; 52(4): 210–214

Rozvoj cílené biologické léčby v rámci systémové protinádorové farmakoterapie je úzce spojen s vyhledáváním obecně biologických mechanismů, které lze terapeuticky ovlivnit a s tím spojených molekulárně biologických faktorů v nádorových buňkách, které umožní predikovat odpověď na příslušný lék. Dnes je naprosto standardně v laboratořích molekulární patologie stanovován mutační stav genů RAS (KRAS, NRAS) v případech

metastatického kolorektálního karcinomu, genu BRAF v případě metastatického maligního melanomu, přítomnost aktivačních mutací genu EGFR u nemalobuněčných karcinomů plic apod. Stejně tak využíváme techniky in situ hybridace pro hodnocení amplifikace genu HER2/Neu u karcinomu prsu a karcinomu žaludku, či přestavby genů ALK či ROS1 u nemalobuněčných karcinomů plic (1,2).

V poslední době se zájem molekulárních patologů soustředí také na metastatické karcinomy ovaria, tedy nádory, jejichž prognóza je stále – přes veškeré pokroky moderní onkologie – u pokročilých stádií relativně velmi nepříznivá. Proto nová léčebná možnost, která se recentně objevila, tj. terapie tzv. PARP inhibitory, vyvolává značné naděje.

PARP je zkratkou pro rodinu proteinů *poly(ADP-ribose)polymerázy*, jaderných enzymů, které se podílejí na opravě jedno-

✉ Adresa pro korespondenci

Prof. MUDr. Aleš Ryška, Ph.D.

Fingerlandův ústav patologie LF UK a FN

HRADEC KRÁLOVÉ

e-mail: ryskaale@fnhk.cz