

Hereditární karcinom prsu

Příklad vzácnější formy karcinomu prsu v populaci

Martina Zimovjanová
Onkologická klinika VFN a 1. LF UK, Praha

Zárodečné mutace v genech BRCA1 a BRCA2 způsobují vznik přibližně 5–10 % karcinomů prsu v populaci. Nádory prsu, které vznikají v důsledku mutací v predispozičních genech BRCA1 a BRCA2, mají často odlišné histopatologické charakteristiky i biologické chování. Cílem moderní onkologické léčby je individualizace terapie na podkladě stanovení molekulárních prognostických a prediktivních markerů; molekulárně-genetické testování BRCA1 a BRCA2 genů může být jednou z těchto možností. Mutace v BRCA1 a BRCA2 genech nejsou jen možným prognostickým markerem a prediktorem léčebné odpovědi na standardní systémovou chemoterapii, ale mohly by také předpovídat léčebnou odpověď na nové typy cílené biologické léčby.

Klíčová slova: BRCA1 gen, BRCA2 gen, mutace, dědičná predispozice, triple negativní karcinom prsu (TNBC).

Hereditary breast cancer – an example of uncommon breast cancer in population

Germline mutations in either the BRCA1 or BRCA2 gene account for approximately from five to ten percent of breast cancers in population. Breast cancers caused by mutations of BRCA1 a BRCA2 genes have usually different histopatologic characteristics and also different biological behaviour. Individualization of therapy based on the knowledge of the molecular prognostic and predictive markers is goal of modern oncologic treatment, and BRCA1 and BRCA2 expression might be one of them. BRCA1 or BRCA2 deficiency is not only a possible prognostic factor and predictor of response to systemic standard chemotherapy, but might also be a predictor for type of response to a new targeted therapy.

Key words: BRCA1, BRCA2, mutation, hereditary predisposition, triple negative breast cancer (TNBC).

Onkologie 2009; 3(6): 348–350

Dědičná predispozice, charakteristiky BRCA1/2 genů, funkce BRCA1/2 proteinů

Příčinou dědičné predispozice k malignímu nádorovému onemocnění je přenos zárodečné mutace inaktivující jednu z alel odpovědného genu. V cílové tkáni způsobí následná genetická změna druhé intaktní alely komplexní inaktivaci genu, která iniciuje vznik nádorového onemocnění v důsledku genomové nestability spojené s kumulací dalších genetických a epigenetických změn.

Hlavní predispoziční geny BRCA1 a BRCA2 byly objeveny v roce 1994 a 1995. BRCA1 gen se nachází na dlouhém raménku 17. chromozomu (17q21), gen BRCA2 je lokalizován na dlou-

hém raménku 13. chromozomu (13q12–13). Produkty těchto genů jsou jaderné proteiny, které jsou maximálně exprimovány v G2 a S fázi. Funkce obou proteinů je zprostředkována vazbou s dalšími bílkoviny buněčného jádra. Proteiny BRCA1 a BRCA2 se účastní řady pochodů při udržení genomové integrity (oprava dvouvláknových zlomů DNA), regulace transkripce (odpověď na buněčný stres) a regulací buněčného cyklu (1). Mutace v genech BRCA1 a BRCA2 tyto funkce poškozuji.

Indikace ke genetickému vyšetření, postup testování

Molekulárně genetické vyšetření je možné provést u těch pacientek, které splňují indi-

kační kritéria k testování genů BRCA1 a BRCA2 (tabulka 1). K testování je nutný písemný souhlas pacientky. Pro genetickou analýzu používáme nejčastěji DNA izolovanou z buněk periferní krve (10 ml žilní krve), nebo mRNA, kterou je nutno přepsat do cDNA. Gen BRCA1 má 22 kódujících exonů, gen BRCA2 má 27 kódujících exonů. Jedná se o velké geny, jejichž testování je poměrně komplikované a zdlouhavé. V rodinách s familiárním výskytem nádoru prsu je vhodné genetické testování začít u pacientky s nejčasnějším výskytem nádoru prsu, s oboustranným nádorem prsu nebo duplicitou nádoru prsu a vaječníku, tj. u osoby, kde je nejpravděpodobnější hereditární příčina onemocnění. Každá rodina může mít svou individuální mutaci. Asi 50 % ze všech nalezených

Tabulka 1. Kritéria pro indikaci k mutační analýze genů BRCA1 a BRCA2

Sporadické formy	Familiární formy
Karcinom prsu vzniklý do 35. roku věku Karcinom ovaríí vzniklý do 40. roku věku	Alespoň 3 přímí příbuzní s karcinomem prsu a/nebo ovaria
Bilaterální karcinom prsu nebo ovaria s první diagnózou pod 50 let, nebo pacientka s duplicitním karcinomem prsu a vaječníků v jakémkoli věku	2 příbuzní prvního stupně (2. stupně paternálně) s karcinomem prsu a/nebo ovaria, z nichž alespoň jeden byl diagnostikován pod 50 let věku
Muž s diagnózou karcinomu prsu	Příbuzní pozitivně testovaných osob
Medulární a atypický medulární karcinom (podle laboratoře, vhodné do 50 let)	
Triple negativní karcinom prsu (podle laboratoře, vhodné do 50 let)	

mutací tvoří tři mutace v genu BRCA1 a dvě mutace v genu BRCA2. Tyto populačně specifické mutace jsou zachycovány již v prvních krocích genetického testování. Pokud nejsou nalezeny, pokračuje se dále v postupném vyšetřování všech kódujících úseků obou genů (2). Prediktivní testování zdravých příbuzných v rodinách s detekovanou mutací je možné nabídnout od 18 let.

Klinické charakteristiky hereditárního karcinomu prsu

Pro hereditární nádorové onemocnění prsu vzniklé na podkladě mutací v BRCA1 a BRCA2 genech je charakteristický nízký věk v době stanovení diagnózy (obvykle o 10–15 let dříve ve srovnání se sporadickým karcinomem), častá nádorová duplicita, bilaterální karcinom prsu a autozomálně dominantní přenos.

Výskyt zárodečných mutací v populaci je odhadován na 1 : 500–800. Celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu je v běžné ženské populaci odhadováno na 8–10 %, zatímco u nosiček mutace v BRCA1 a BRCA2 genu dosahuje až 80 %. Je zvýšeno riziko vzniku karcinomu vaječníků u nosiček BRCA1 až na 50 %, u nosiček BRCA2 na 20 %, častější jsou i další nádorová onemocnění – karcinomy tlustého střeva, slinivky, žlučových cest a maligní melanom.

Pomocí microarray technologie analýzy DNA byly u karcinomu prsu definovány různé typy genové exprese. Byly identifikovány následné podskupiny karcinomu prsu: ER-pozitivní/HER2-negativní (luminální subtyp A, B), ER-negativní/HER2-negativní (bazální subtyp), HER2-pozitivní nádory a nádory svou charakteristikou podobné normálnímu prsu (3). U nosiček BRCA1 mutace se nejčastěji jedná o tzv. bazální typ karcinomu prsu, charakterizovaný expresí bazálních cytokeratinů (CK 5/6 14 a 17), expresí receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR1) a c-kit. Častější jsou také somatické mutace genu p53 (až 80 %) (4) a vyšší hladina vaskulárního endoteliálního růstového faktoru VEGF v nádorové tkáni (3× vyšší než u luminálního subtypu) (5). Histomorfologicky se jedná o invazivní ductální karcinomy s nízkým stupněm diferenciací, častější jsou nádory medulární (6). Ve většině případů mají tyto nádory negativní estrogenové a progesteronové receptory a negativní expresi c-erbB-2 (triple negativita stanovená pomocí IHC a FISH) (7). Pro některé z těchto charakteristik existují hypotetická vysvětlení, vycházející z funkcí proteinu BRCA1. Protein BRCA1 inhibuje signální dráhu estrogenových receptorů. V buňkách s mutací v BRCA1 genu se tato signální dráha může stát konstitucionálně aktivní a může

dojít k indukci ztráty exprese estrogenových receptorů (1). Negativita exprese c-erbB-2 proteinu u pacientek s BRCA1 mutací nejspíše souvisí s těsnou blízkostí lokalizace genu BRCA1 a genu c-erbB-2 na 17. chromozomu (8). Nádory s BRCA1 mutací jsou typické vysokou mitotickou aktivitou, aneuploidií (jiný než normální počet chromozomů) a vysokým procentem buněk v S-fázi. Vzhledem k vysoké proliferativní aktivitě a rychlému růstu tvoří poměrně velkou část intervalových karcinomů (9).

Pro triple negativní karcinomy prsu (častý u BRCA1 mutace) je charakteristické agresivní biologické chování, vysoký výskyt lokálních recidiv, vznik časných relapsů a preferenčně vznik viscerálních metastáz (10). Metaanalýza 20 retrospektivních klinických studií u pacientek s karcinomem prsu vzniklým na podkladě mutace v BRCA1, BRCA2 genu prokázala zvýšené riziko vzniku druhostranného karcinomu prsu ve 14 ze 16 studií, zvýšené riziko recidivy nádoru ve stejnostranném prsu v 5 ze 17 studií a kratší přežívání ve 4 ze 14 studií (11).

Nádory prsu vzniklé na podkladě zárodečné mutace v BRCA2 genu se fenotypicky neliší od sporadických forem onemocnění (12), častější je však vznik druhostranného nádoru prsu a nižší věk v době diagnózy onemocnění.

Možnosti léčby hereditárního karcinomu prsu

V klinické péči o nemocné s hereditární formou karcinomu prsu využíváme všech léčebných modalit onkologické terapie.

V rámci chirurgické léčby zvažujeme možnost radikálnějšího výkonu na postiženém prsu (mastektomie) a možnost profylaktického výkonu na druhostranném prsu, vzhledem ke zvýšenému riziku vzniku kontralaterálního karcinomu. Modifikujeme také hormonální léčbu (při pozitivě hormonálních receptorů vhodnější chirurgická kastrace před farmakologickou bloádou u premenopauzálních pacientek), vzhledem ke zvýšenému riziku vzniku karcinomu vaječníků.

Studium histopatologických charakteristik hereditární formy nádorového onemocnění prsu i stanovení molekulárního profilu nádoru nám přináší hlubší poznatky a nové možnosti systémové léčby pacientek s karcinomem prsu vzniklým na podkladě BRCA1 a BRCA2 mutace. Podskupina bazal-like karcinomů (> 80 %) jsou triple negativní nádory (13) je nejčastějším nálezem u pacientek s hereditární formou karcinomu prsu, vzniklou na podkladě BRCA1 mutace. Klasická antihormonální léčba je u těchto nádorů neúčinná, stejně jako biologická terapie trastuzumabem.

Základním léčebným postupem je zde podávání chemoterapie, na kterou pacientky s triple negativním karcinomem prsu naopak reagují lépe než podskupina pacientek s hormonálně dependentním onemocněním (14). Odlišná odpověď na cytostatika s různým mechanismem účinku vyplývá z molekulárních vlastností nádorů s BRCA1 a BRCA2 mutacemi. Preklinické studie u myší a na buněčných liniích karcinomu prsu s prokázanou BRCA1, BRCA2 mutací prokazují zvýšenou senzitivitu na cytostatika způsobující dvojité zlomy DNA (double – strand breaks), jako jsou platinové deriváty a antracykliny (15, 16, 17, 18). U hereditárních forem nádorů je narušena reparace poškození DNA, a to ve svých důsledcích vede k zástavě replikace a buněčné smrti. Naopak, citlivost na cytostatika poškozující mikrotubulární proteiny (paklitaxel a docetaxel) je u BRCA1 pozitivních nádorů snižena (15, 16, 17, 18). Předpokládá se, že funkční BRCA1 protein je nezbytný v průběhu apoptózy nastupující při poškození dělicího vřeténka.

Citlivost na alkylační cytostatika byla prokázána ve studii s neoadjuvantním podáváním platinových derivátů u pacientek s BRCA1 mutací (19). V této práci po 4 cyklech chemoterapie s cisplatinou dosáhlo 9 z 10 pacientek kompletní patologické odpovědi (90 % pCR), zatímco neoadjuvantní chemoterapie s docetaxelem přinesla menší množství léčebných odpovědí ve srovnání s léčbou sporadického onemocnění. Vyšší procenta pCR byly popsány také v dalších malé studii při podávání neoadjuvantní chemoterapie na bázi antracyklinů (20) u pacientek s hereditárním karcinomem prsu (N = 11).

Podávání adjuvantní vysokodávkové chemoterapie s následnou autologní transplantací u pacientek vysokým rizikem relapsu (mezi které patří nádory prsu vzniklé v důsledku BRCA1/2 mutace) bylo součástí několika klinických studií. Metaanalýza těchto prací neprokázala zlepšení přežití ve srovnání se standardními režimy adjuvantní chemoterapie (21). V japonské studii (22) bylo zjištěno, že BRCA1 mutace u pacientek s metastazujícím karcinomem prsu (N = 50) byla negativním prediktivním faktorem pro léčbu taxany v parametrech doby do progresu, zatímco při léčbě antracykliny nebyl tento vztah prokázán. V práci holandských autorů (23) byla studována léčebná odpověď a celkové přežití u pacientek s hereditární formou karcinomu prsu (N = 121) ve srovnání s pacientkami se sporadickým typem onemocnění, které byly léčeny 1. linií chemoterapie pro metastazující karcinom prsu. U pacientek s BRCA2 mutací (N = 28) byla zjištěna delší doba do progresu i delší celkové

přežití ve srovnání se sporadickými nádory. U pacientek s BRCA1 mutací (N = 93) nebyl nalezen signifikantní rozdíl ve sledovaných parametrech ve srovnání se sporadickou formou karcinomu prsu. U obou podskupin pacientek (s BRCA1 i BRCA2 mutací) byla nalezena vyšší senzitivita na léčbu antracykliny ve srovnání se skupinou pacientek se sporadickým onemocněním.

Kromě standardního podávání systémové chemoterapie je studována řada možností cílené biologické léčby hereditárního karcinomu prsu.

Zvýšené hladiny exprese EGFR u nádorů s BRCA1 mutací by mohly předpovídat vyšší citlivost k anti-EGFR terapii, blokující EGFR signální transdukci a reparaci DNA. Klinické studie II. fáze kombinující terapii cetuximab + ixabepilone v 1. linii metastazujícího triple-negativního karcinomu prsu probíhají.

Zvýšené hladiny sérového VEGF a kratší doba do recidivy i kratší přežití byly nalezeny u 87 pacientek s triple negativním karcinomem prsu (5). Ve studii ECOG E2100 byla zjištěna lepší léčebné výsledky kombinace bevacizumab + paklitaxel ve srovnání s monoterapií paklitaxelem u triple negativních pacientek s generalizovaným karcinomem prsu (24). Hledají se další možnosti inhibice angiogeneze; např. snížení sérových hladin VEGF pomocí metronomické chemoterapie v kombinaci cyklofosfamid + metotrexát ve studii u pacientek s metastazujícím karcinomem prsu (25).

Povzbudivé výsledky u pacientek s karcinomem prsu vzniklým v důsledku mutací v BRCA1 nebo BRCA2 genu dosáhly inhibitory poly (ADP) – ribóza polymerázy 1 (PARP 1), způsobující tzv. syntetickou letalitu. PARP-1 inhibitory byly podávány ve studiích fáze II, v monoterapii u pacientek s chemorezistentním hereditárním karcinomem prsu s BRCA1 mutací (26) a v kombinované léčbě s chemoterapií (27). Léčba pacientek s metastazujícím triple negativním karcinomem prsu vedla k potenciaci efektu platinových derivátů bez nárůstu toxicity léčby a k prodloužení doby do progresu onemocnění. Další práce však poukazují na možnost rozvoje rezistence na PARP-1 inhibitory a platinové deriváty sekundárními intragenovými mutacemi v genu BRCA2 i BRCA1 (28, 29).

Závěr

Komplexní péče o pacientky s hereditárním karcinomem prsu je založena na mezinárodní spolupráci lékařů klinické genetiky, klinické a radiační onkologie, chirurgie (onkologické a plastické), gynekologie i psychologie. Vedle nezbytné morfologické klasifikace nádoru prsu

patologem vystupuje do popředí molekulární diagnostika onemocnění, která by se měla podílet na volbě individualizované onkologické léčby. Ačkoli mnohé z charakteristik karcinomu prsu vzniklém v důsledku mutace v genech BRCA1, BRCA2 byly rozpoznány, účinná léčba pacientek s hereditárním karcinomem prsu zůstává výzvou do budoucna.

Klíčové otázky v terapii hereditárního karcinomu prsu

- Mohou platinové deriváty zlepšit klinické výsledky a zvýšit syntetickou letalitu PARP1 inhibitorů u pacientek s mutací v BRCA1/2 genu?
- Jaká je role kombinovaných a intenzifikovaných režimů chemoterapie, udržovací chemoterapie, další biologické terapie v léčbě hereditárního karcinomu prsu?
- Může být ionizující záření (způsobující dvojité zlomy DNA) efektivnější v léčbě pacientek s mutací v BRCA1/2 genu?
- Jaká je role hormonální terapie v léčbě a v prevenci u nosiček s mutací v BRCA1/2 genu?
- Měla by být mutační analýza BRCA1, BRCA2 genů součástí prospektivních klinických studií tak, aby bylo možno samostatně vyhodnotit léčebnou odpověď u podskupiny žen s hereditárním karcinomem prsu?

Literatura

1. Venkitesan AR. Functions of BRCA1 and BRCA2 in the biological response to DNA damage. *Journal of Cell Science* 2001; 114: 3591–3598.
2. Foretová L. Genetika nádorů prsu. *Onkologie*, 2008; 2(1): 44–48.
3. Breton JD, Carey LA, Ahmed AA, Caldas C. Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: ready for clinical application? *J Clin Oncol* 2005; 23: 7350–7360.
4. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 1275–1281.
5. Linderholm BK, Hellborg H, Johansson U, et al. Significantly higher levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and shorter survival times for patients with primary operable triple-negative breast cancer. *Annals of Oncol* 2009; 20: 1639–1646.
6. Shousha S. Medullary carcinoma of the breast and BRCA1 mutation. *Histopathology* 2000; 37: 182–185.
7. Lakhani SR, Van De Vijver MJ, Jacquemier J, et al. The pathology of familial breast cancer: predictive value of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and p53 in patients with mutations in BRCA1 and BRCA2. *J Clin Oncol* 2002; 20: 2310–2318.
8. Park PC et De Boni U. A specific conformation of the territory of chromosome 17 locates ERBB-2 sequences to a DNAse-hypersensitive domain at the nuclear periphery. *Chromosoma* 1998; 107: 87–95.
9. Kaas R, Muller SH, Hart AA and Rutgerst J. Stage of breast cancer found during the surveillance of women with a familial or hereditary risk. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 501–507.
10. Fulford LG, Reis-Filho JS, Ryder K, et al. Basal-like grade III invasive ductal carcinoma of the breast: patterns of metastasis and long-term survival. *Breast Cancer Res* 2007; 9: R4.

11. Liebens FP, Carly B, Pastijn A and Rozenberg S. Management of BRCA1/2 associated breast cancer: A systematic qualitative review of the state of knowledge in 2006. 2007; 43: 238–257.
12. Osin PP, et Lakhani SR. The pathology of familial breast cancer: immunohistochemistry and molecular analysis. *Breast Cancer Res*. 1999; 1: 36–40.
13. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 4429–4434.
14. Carey LA, Dees EC, Sawyer L, et al. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 2329–2502.
15. Kennedy RD, Quinn JE, Mullan PB, et al. The role of BRCA1 in the cellular response to chemotherapy. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 1659–1668.
16. Foulkes WD: BRCA1 and BRCA2: Chemosensitivity, treatment outcomes and prognosis. *Fam Cancer* 2006; 5: 135–142.
17. James CR, Quinn JE, Mullan PB, et al. BRCA1, a potential predictive biomarker in the treatment of breast cancer. *Oncologist* 2007; 12: 142–150.
18. Robson ME. Treatment of hereditary breast cancer. *Semin Oncol* 2007; 34: 384–391.
19. Byrski T, Gronwald J, Huzarski T, et al. Response to neo-adjuvant chemotherapy in women with BRCA1-positive breast cancers. *Breast Cancer Res Treat* 2008; 108: 289–296.
20. Chappuis PO, Giffin J, Wong N, et al. A significant response to neoadjuvant chemotherapy in BRCA1/2 related breast cancer. *Ann Oncol* 2002; 17: 608–610.
21. Berry DA, Broadwater G, Klein JP, et al. High-dose chemotherapy with autologous stem-cell support versus standard-dose chemotherapy: meta-analysis of individual patient data from 15 randomized adjuvant breast cancer trials. *Breast Cancer Res. Treat* 2007; 106(suppl.1): S5.
22. Kurebayashi J, Yamamoto Y, Kurosumi M, et al. Loss of BRCA1 expression may predict shorter time-to-progression in metastatic breast cancer patients treated with taxanes. *Anticancer Res* 2006; 26: 695–701.
23. Kriege M, Seynaeve C, Meijers-Heijboer H, et al. Sensitivity to first-line chemotherapy for metastatic breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *J Clin Oncol* 2009; 27(23): 3764–3771.
24. Schneider BP, Wang M, Radovich M, et al. Association of vascular endothelial growth factor and VEGFR-2 genetic polymorphisms with outcome in a trial of paclitaxel compared with paclitaxel + bevacizumab in advanced breast cancer: ECOG 2100. *J Clin Oncol* 2008; 26: 4672–4678.
25. Colleoni M, Rocca A, Sandri MT, et al. Low dose oral methotrexate and cyclophosphamide in metastatic breast cancer: antitumor activity and correlation with vascular endothelial growth factor levels. *Ann Oncol* 2002; 13: 73–80.
26. Tutt A, Robson M, Garber JE, et al. Phase II trial of the PARP inhibitor olaparib in BRCA-deficient advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27 suppl. (abstr. 501).
27. O'Shaughnessy J, Osborne C, Pipien J, et al. Efficacy of BSI-201, a poly (ADP-ribose) polymerase 1 (PARP 1) inhibitor, in combination with gemcitabine/carboplatin (G/C) in patients with triple-negative breast cancer (TNBC): Results of a randomized phase II trial. *J Clin Oncol* 2009; 18 suppl. (abstr. 3).
28. Edwards SL, Brough R, Lord CJ, et al. Resistance to therapy caused by intragenic deletion in BRCA2. *Nature* 2008; 451: 1111–1115.
29. Sakai W, Swisher EM, Karlan BY, et al. Secondary mutations as a mechanism of cisplatin resistance in BRCA2-mutated cancers. *Nature* 2008; 451: 1116–1120.

MUDr. Martina Zimovjanová, Ph.D.

Onkologická klinika VFN

a 1. LF UK, Praha

U Nemocnice 2, 128 08 Praha

martina.zimovjanova@vfn.cz