

Geni in rak

19. Onkološki vikend, Laško, 26. in 27. maj 2006

Barbara Perić

ZAČETEK

Februarja 1953 sta James Watson in Francis Crick v reviji Nature razkrila dvojnoveržno vijačno strukturo molekule DNA in njeno vlogo informacijske molekule življenja. Skoraj petdeset let pozneje, leta 2000, sta mednarodni konzorcij Projekt človeški genom in družba Celera Genomics ločeno, a istočasno, v revijah Nature in Science objavila osnutka nukleotidnega zaporedja tri milijarde nukleotidnih parov dolgega človeškega genoma. Temu so sledile raziskave, ki skušajo pojasniti vlogo posameznih genov in njihovih beljakovinskih produktov. Iz teh izvira tudi pojasnjeni molekularni temelji številnih bolezni, kar spremeni njihovo tradicionalno razumevanje, predvsem pa preprečevanje in zdravljenje.

Kako uspešno vključujemo nova spoznanja iz karcinogeneze, citogenetike in funkcijske genomike v svoje delo zdravniki in znanstveniki na Onkološkem inštitutu in kako zelo so nam pri tem v pomoč strokovnjaki iz drugih ustanov ter celo tujine, smo skušali predstaviti na 19. onkološkem vikendu.

KARCINOGENEZA, MIKROMREŽE, GENOMIKA, ETIKA...

Tudi letos je bil prijeten gostitelj predavanj Kulturni center Laško, kjer nas je v petek dopoldan najprej pozdravil doc. dr. Branko Zakotnik, dr. med. Po uvodnem nagovoru nas je akademik prof. dr. Jože Trontelj skušal opozoriti na etični vidik uporabe funkcijske genomike v medicini. »Potrebni bosta primerna občutljivost in modrost, pa tudi učinkovita zdravstvena politika, da ne bomo zabredli v ravnanja, ki bodo prinesla več slabega kot dobrega,« je misel, v kateri je strnjena vsa problematika uporabe spoznanj genomike.

Za vse tiste, ki se vsakodnevno srečujemo z bolniki z rakom, je verjetno najzanimivejši proces karcinogeneze. Ta se je kot veda začela razvijati potem, ko se je za nekatere gene izkazalo, da so neposredno vpleteni v nastanek in razvoj rakavih celic. Višji znan. sod. dr. Srdjan Novaković je poudaril, da vseh genov, udeleženih v razvoj neke vrste raka, še ne poznamo, predvsem pa ni pojasnjeno, zakaj so le nekatere celice iz skupka rakavih celic sposobne potovati, se pritruditi v oddaljenih organih in ponoviti klonalno rast.

Zdrava celica se v rakavo spremeni zaradi delovanja karcinogenih dejavnikov, in ker je izmed vseh ionizirajoče sevanje vsaj med bolniki najbolj znan krivec za razvoj raka, je bilo zanimivo izvedeti, kakšne so posledice jedrske nesreče v Černobilu, kjer je bilo ionizirajočemu sevanju izpostavljeno več sto tisoč oseb, in kakšna je stopnja kontaminacije v Sloveniji.

Poleg mutacij posameznih genov so lahko posledica delovanja karcinogenov tudi spremembe delov kromosomov. Metode molekularne citogenetike, kot so interfazni FISH, večbarvni FISH in primerjalna genomska hibridizacija ter novejša, ki temeljijo na tehnologiji mikromrež, so pomemben del diagnostike in sledenja nekaterih rakavih obolenj. V zadnjem času nam ravno te metode pomagajo pri načrtovanju zdravljenja, ki je prilagojeno posameznemu bolniku, uspeh takega pristopa pa je znan predvsem iz primera zdravljenja s herceptinom pri bolnicah s pomnožitvijo Her2/neu.

Seveda ne smemo pozabiti na metode za odkrivanje mutacij posameznih genov, saj številna rakava obolenja že leta povezujemo z njimi in odkrivanje mutacij s pridom uporabljamo predvsem kot del preprečevanja bolezni. Ker so mutacije onkogenov in tumor zaviralnih genov različnih velikosti, za njihovo odkrivanje ne zadostuje ena sama metoda. Prvi dan predavanj jih je bilo predstavljenih kar nekaj: analiza konformacij enoverižnih DNK (single stranded conformational polymorphism – SSCP), analiza heterodupleksov (heteroduplex analysis – HA), denaturacijska visokoločljivostna tekočinska kromatografija (denaturing high performance liquid chromatography – DHPLC) in druge. V bližnji prihodnosti pa veliko obetajo predvsem genske mikromreže ali biočipi, ki bodo, upajmo, kmalu na voljo tudi pri nas.

Kot je povedal eden od gostov, prof. dr. Radovan Komel, mikromreže omogočajo vpogled v celotno izražanje genov in lahko dajo informacijo o nagnjenosti k bolezni, o obliki in stanju že nastale bolezni, pa tudi o težnjah in načinu njenega napredovanja.

V popoldanskem času sta gosta z bruseljske univerze na primeru 186 slovenskih družin z dvema ali več primeri raka dojk/jajčnikov pokazala, kakšne težave nastopijo, če je gen, ki ga želimo analizirati, velik in lahko mutacijo pričakujemo na katerem koli delu. V primeru analize slovenskih družin so mutacijo BRCA1 ali BRCA2 s kombinacijo treh različnih metod našli pri 57 družinah, zanimivo pa je, da se v tej populaciji pet mutacij pojavlja pogosteje. Čeprav so bile preostale mutacije razporejene vzdolž celotnega zaporedja genov BRCA1/2, so lahko z analizo samo štirih fragmentov PCR (polymerase chain reaction) odkrili usodno mutacijo kar pri 39 od 57 družin (68 %). Iz tega sledi, da lahko pri članih družin z značilnostmi dednega raka dojk/jajčnikov sprva opravijo le gensko testiranje teh štirih fragmentov in v primeru neuspeha iščejo mutacijo v preostalem zaporedju. Ta način je uspešen, hkrati pa manj zamuden in cenejši. Med omenjenimi petimi mutacijami je tudi za Slovence značilna (angl. founder) mutacija BRCA2 gena ISV16-2A>G.

S predstavitvami kliničnih primerov in satelitskim simpozijem se je prvi dan Onkološkega vikenda počasi bližal koncu. Seveda pa ne bi bil popoln brez večerje, po kateri nas je večina predstavila še svoje plesne in pevske sposobnosti. Moram priznati, da tudi v tem dosegamo zanimive rezultate.

DEDNI RAKI

Večina bolnikov z rakom zbolijo naključno, včasih pa več članov neke družine zbolijo za isto vrsto raka – takrat govorimo o družinski obliki bolezni; za nekatere od teh rakov celo poznamo gen ali gene, prek katerih se dedujejo, in takrat govorimo o dednem raku. Dedni raki in onkološko genetsko svetovanje so bili predmet sobotnih predavanj.

Kot smo prejšnji večer zaključili z dednim rakom dojk/jajčnikov, smo z isto temo začeli naslednje jutro. Obstaja pa tudi pomembnejši razlog, da je bil ravno ta rak predstavljen prvi: onkološko genetsko svetovanje se je namreč pri nas razvilo ravno ob pomoči bolnicam z rakom dojk/jajčnikov ter njihovim svojcem. Kako svetovanje poteka na Onkološkem inštitutu, sta nam predstavila doc. dr. Janez Žgajnar, dr. med., in Katarina Lokar, prof. zdr. vzg. Predstavila sta tudi ukrepe, ki so na voljo nosilcem mutacije BRCA1/2 (pogoste redne kontrole, kemopreventiva, kirurški posegi), in poudarila, da ima žal vsak od njih kako pomanjkljivost. Za tem smo si lahko ogledali natančno predstavitev rezultatov testiranja slovenskih družin z rakom dojk/jajčnikov mag. Mateje Krajec, dr. med., ki že od začetka sodeluje z laboratorijem univerze v Bruslju. Za konec nam je višji znan. sod. dr. Novaković predstavil še metodo analize talitvene krivulje produktov PCR. Za to potrebne primerje in sonde so oblikovali v Enoti za molekularno biologijo Onkološkega inštituta, z metodo pa je mogoče hitro in izredno občutljivo določiti prisotnost štirih najpogostejših mutacij gena BRCA1.

Zgodbi o uspešnem in že utečenem genetskem svetovanju je sledil prikaz dedne bolezni, kjer bo za uspeh treba vložiti še kar nekaj dela, predvsem pri organizaciji svetovalne mreže. Govora je bilo o raku širokega črevesa, bolezni, ki je drugi najpogostejši vzrok smrti med malignimi obolenji. Čeprav se rak širokega črevesa deduje v okviru različnih sindromov, obstajata dva najpogostejša načina dedovanja. Dedni nepolipozni rak širokega črevesa ali HNPCC predstavlja 2–3 odstotke vseh rakov širokega črevesa. Poznamo pet genov, katerih mutacije povzročajo HNPCC, za kar 95 odstotkov primerov bolezni pa je odgovorna mutacija na genih hMLH1 ali hMSM2. Deduje se avtosomno dominantno, 80 odstotkov nosilcev mutacije pa bo za časa življenja zbolelo za rakom širokega črevesa. Druga oblika dedne bolezni je familiarna adenomatозна polipoza (FAP), katere vzrok je mutacija gena APC. V obeh primerih imamo možnost genetskega testiranja, pri bolnikih z HNPCC pa lahko zaradi visoke stopnje mikrosatelitne nestabilnosti (MSI) s testom te ugotovimo, kolikšna je verjetnost, da je tumor posledica mutacije enega od genov. Prof. dr. Metka Ravnik-Glavač je predstavila

molekularnogenetsko metodo določitve visoko mikrosatelitno nestabilnih tumorjev, s katero lahko med novo odkritimi karcinomi širokega črevesa ločimo sporadične tumorje in tiste, ki so nastali zaradi mutacije v sklopu HNPCC. Test MSI ima tako vlogo presejalnega testa. V Sloveniji so testirali 595 novo odkritih karcinomov širokega črevesa, med temi je bilo 7,2 odstotka močno mikrosatelitno nestabilnih. Med temi jih 18,6 odstotka ni imelo hipermetilacije promotornega MLH1, ki je značilna za sporadične primere tumorja, zato so pri teh analizirali prisotnost mutacij, značilnih za HNPCC, in jo v 87,5 odstotka tudi potrdili. Imamo torej učinkovito metodo za odkrivanje bolnikov z HNPCC, ki omogoča tudi odkrivanje sorodnikov z mutacijo in predstavlja začetek preprečevanja ali zdravljenja v zgodnji fazi bolezni.

V obeh do sedaj opisanih primerih dednih rakov je eden izmed preventivnih ukrepov profilaktični kirurški poseg, kar velja tudi za dedno obliko medularnega raka ščitnice (MTC). MTC se pojavlja dedno v sindromih MEN 2A, MEN 2B in kot družinska oblika brez drugih endokrinopatij (FMTC) ter je posledica mutacije RET protoonkogenega. Pri nas smo v letih 1979 do 2003 genetsko testirali 69 bolnikov z medularnim rakom ščitnice ter odkrili mutacijo pri 14 bolnikih in pri 16 od 31 pregledanih sorodnikov. Z genetskim testiranjem so bili odkriti trije nosilci mutacij brez MTC, pri katerih je bila opravljena preventivna tiroidektomija. Ker se nakazuje povezava med starostjo bolnikov ob diagnozi MTC, velikostjo tumorja in vrsto mutacije, bo morda mogoče v prihodnosti to upoštevati pri načrtovanju preventivne tiroidektomije.

Kot zadnji sklop predavanj je sledila predstavitev področja, kjer se genetsko testiranje šele uveljavlja. Kot za večino opisanih bolezni tudi za maligni melanom velja, da je približno 10 odstotkov primerov dednih. Znano je dedovanje prek visoko penetrantnega gena CDKN2A, redki so nosilci mutacije CDK4, na pojav melanoma pa vpliva tudi oblika nizko penetrantnega gena MC1R, za katerega je značilna visoka stopnja polimorfizma v populaciji. Genetsko testiranje, s katerim smo začeli leta 2002, je predstavila gostja s Pediatrične klinike Magdalena Avbelj, dr. med. Na Onkološkem inštitutu končujemo testiranje celotnega gena CDKN2A in MC1R iz do sedaj zbranih 44 vzorcev DNK bolnikov z značilnostmi družinske oblike malignega melanoma in njihovih svojcev. Kot člani GenoMELA bomo lahko na podlagi dobljenih podatkov oblikovali učinkovit program zgodnjega odkrivanja in preprečevanja malignega melanoma.

Temu je sledil le še sklep, zato bo tako tudi tu. Ker poskušam ta zapis le povzeti nekatere glavne zanimivosti vikenda, se iskreno opravičujem vsem avtorjem prispevkov, ki niso navedeni. Poslovili smo se polni načrtov in navdušenja, saj nas kljub obetavnim začetkom v onkološkem genetskem svetovanju čaka še kup dela.

