

GENETSKE ANALIZE ARHIVSKIH VZORCEV TKIVA POKOJNIKOV Z NAMENOM UGOTAVLJANJA DEDNIH VZROKOV RAKA

Ana Blatnik, Vita Šetrajčič Dragoš, Vida Stegel, Olga Blatnik, Ksenija Strojnik, Srdjan Novaković, Mateja Krajc

Onkološki inštitut Ljubljana, Ljubljana, Slovenija

Vsem rakom je skupna nenadzorovana rast in delitev celic, ki je praviloma posledica pridobljenih, t.i. somatskih sprememb oz. različic v protoonkogenih in tumorskih supresorskih genih. Pri manjšem deležu onkoloških pacientov pa se rak razvije kot posledica zarodnih različic, ki so povezane z dedno predispozicijo za razvoj bolezni. Genetske preiskave z namenom dokazovanja dedne predispozicije praviloma izvajamo ob uporabi metodologije sekvenciranja naslednje/druge generacije (NGS). Rezultate genetskih preiskav skupaj s podatki o morebitnih drugih dejavnikih tveganja uporabimo za celostno oceno posameznikove ogroženosti z rakom, ki je podlaga za nadaljnje preventivne ukrepe. V družinah, kjer se pojavljajo raki, ki bi lahko bili dedno pogojeni, a so pacienti, ki bi bili najprimernejši kandidati za genetsko testiranje, že pokojni, težje ocenimo ogroženost živečih družinskih članov. V teh primerih je možno opraviti testiranje vzorcev tkiva pacientov, ki ga tudi po smrti hranijo patohistološki laboratoriji. Namen naše raziskave je bil z uporabo NGS v vzorcih netumorskega tkiva pokojnih onkoloških pacientov ugotavljati prisotnost različic, ki ogrožajo za razvoj raka. Želeli smo raziskati uspešnost in uporabnost tovrstnih analiz ob uporabi metod, namenjenih testiranju tumorskih vzorcev, ter preveriti, ali so za genetske preiskave uporabni tudi vzorci, starejši od 30 let.

Raziskava je potekala v okviru Onkološkega inštituta Ljubljana med januarjem 2019 in junijem 2023. Primere, kjer bi bilo mogoče opraviti genetsko testiranje ob uporabi tkivnih vzorcev pokojnih onkoloških pacientov, smo v raziskavo vključili na podlagi podatkov o družinski anamnezi. Genetske analize smo opravljali z metodologijo NGS. Knjižnice so bile pripravljene s kompletom TruSight Tumor 170 (TST 170) ali TruSight Oncology 500 (TSO 500) (Illumina, San Diego, ZDA) v skladu z navodili proizvajalca. Sekvenčna analiza je potekala na sekvenatorju/sistemu NextSeq 550 (Illumina). Anotacija različic je bila opravljena s programsko opremo Variant Studio (Illumina) in programsko opremo Alamut Visual (Interactive Biosoftware, Rouen, Francija). Zarodne nukleotidne različice smo glede na klinični pomen klasificirali v pet razredov, v skladu s smernicami ACMG/AMP in kot klinično pomembne upoštevali patogene različice in verjetno patogene različice (PR/VPR). Od 160 vzorcev, poslanih na genetsko analizo, je bila ta neuspešna v 28 (17,5 %) primerih. Vzorci, ki so bili ob analizi starejši od 30 let, so bili uspešno analizirani v 29 primerih od 33 (87,9 %). Med 132 preiskovanci, kjer je bila analiza uspešna, smo v preiskovanih genih PR/VPR zaznali v 26 primerih (19,7 %). V vseh teh primerih je bilo nato opravljeno testiranje za prisotnosti družinske PR/VPR pri sorodniku, ki je bil v genetski obravnavi – 46,2 % jih je bilo nosilcev PR/VPR, ki je bila predhodno zaznana pri pokojnem svojcu. Vpliv rezultatov testiranja tkiv pokojnikov na preventivno obravnavo njihovih živečih svojcev smo ocenili v skupini 40 zdravih posameznikov, ki so bile v obravnavo napotene zaradi diagnoze raka dojk pred 50. letom pri pokojni mami. Po opravljenem genetskem testiranju maminega tkivnega vzorca se je ocena ogroženosti z rakom dojk za 32,5 % vseh preiskovank pomembna spremenila.

V naši raziskavi smo v 82,5 % vseh primerov z NGS uspešno analizirali DNA vzorce, pridobljene iz tkiva pokojnikov. Ti rezultati so podobni ali celo boljši kot rezultati primerljivih predhodnih raziskav, sploh ko gre za vzorce, stare 30 let in več. Velika večina vseh PR/VPR, ki smo jih zaznali v okviru naše raziskave, je bila v slovenski populaciji predhodno že poročana v povezavi z dedno obliko raka – v skoraj polovici primerov smo jih potrdili tudi pri živečem sorodniku. V skupini 40-ih preiskovank, kjer smo testirali tkivo pokojne mame, se je po testiranju zmanjšalo število zmerno in močno ogroženih ter povečalo število populacijsko ogroženih, ki lahko mamografije opravljajo v okviru nacionalnega presejalnega programa.