

Genetyka i onkologia (część 1.)

Podstawy medycyny personalizowanej w onkologii opartej na badaniach genetycznych

Maria M. Sasiadek¹, Izabela Łaczmanska^{1,2}, Adam Maciejczyk^{2,3}, Rafał Matkowski^{2,3}, Justyna Gil¹

¹Katedra i Zakład Genetyki, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

²Dolnośląskie Centrum Onkologii we Wrocławiu

³Katedra Onkologii, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Dynamiczny rozwój genetyki w ostatnich dziesięcioleciach otworzył nową erę w medycynie. Poznanie mechanizmów powstawania i rozwoju licznych chorób człowieka stworzyło podwaliny pod celowaną opiekę medyczną, opartą na znajomości podstaw patogenezy tych schorzeń. Przełom szczególnie widoczny jest w onkologii, gdyż znajomość molekularnych podstaw transformacji nowotworowej prowadzi do zmiany paradygmatu opieki medycznej nad pacjentami z chorobą nowotworową. Stopniowo odchodzi się od klasyfikacji i leczenia w oparciu o lokalizację narządową, rozpoznanie histopatologiczne oraz od klasyfikacji uwzględniającej tylko stopień zaawansowania i złośliwości guza. Coraz powszechniejsze jest leczenie personalizowane dla każdego pacjenta w oparciu o profil zmian genetycznych. Zdefiniowanie etiologii genetycznej chorób nowotworowych pozwoliło na podział nowotworów na sporadyczne oraz rozwijające się na skutek dziedzicznej predyspozycji, na molekularną klasyfikację nowotworów oraz coraz częściej – na celowane leczenie i precyzyjne prognozowanie przebiegu klinicznego.

Niniejszy artykuł jest pierwszym z serii artykułów pisanych przez lekarzy onkologów i genetyków. Mamy nadzieję, że ten cykl przybliży onkologom problemy genetyczne, a genetykom problemy kliniczne w onkologii.

Key words: medycyna personalizowana, onkologia, molekularna klasyfikacja nowotworów, testy predykcyjne, testy prognostyczne

Wprowadzenie

Celem medycyny personalizowanej (celowanej, precyzyjnej), opartej na znajomości genetycznej etiologii choroby, jest wprowadzenie postępowania leczniczego przeznaczonego dla określonych zmian molekularnych będących przyczyną patologii [1–3]. Podstawową ideą takiego postępowania jest optymalizacja terapii poprzez stosowanie precyzyjnie ukierunkowanych leków, minimalizacja skutków ubocznych oraz optymalizacja kosztów opieki nad pacjentem, gdyż terapia celowana zmniejsza ryzyko stosowania leczenia nieskutecznego lub prowadzącego do powikłań [1–3].

Pomysł medycyny personalizowanej w takim ujęciu nie jest nowy – jego autorem jest Paul Erlich (laureat nagrody Nobla w 1908 roku), który sformułował koncepcję leczenia przyczynowego (*magic bullet*) w oparciu o identyfikację czynnika patogennego [4].

W onkologii wprowadzenie postępowania personalizowanego do praktyki klinicznej stało się możliwe dzięki rozwojowi technik badawczych, które pozwalają na identyfikację zmian genetycznych i ścieżek molekularnych, kluczowych w etiologii nowotworu, a występujących lub niewystępujących u poszczególnych pacjentów z takim samym rozpoznaniem histopatologicznym guza [1].

Jak cytować / How to cite:

Sasiadek MM, Łaczmanska I, Maciejczyk A, Matkowski R, Gil J. *Genetics and oncology (part 1.). Fundamentals of genetic testing-based personalised medicine in oncology.* NOWOTWORY J Oncol 2020; 70: 144–149.

Dla identyfikacji „celu molekularnego terapii personalizowanej” (mutacje pojedynczych genów, aberracje chromosomowe, zaburzenia metylacji) wykorzystywane są obecnie głównie techniki badań genomicznych i genetycznych, takie jak sekwencjonowanie następnej generacji (*next generation sequencing* – NGS), badania cytogenetyczne oraz cytogenetyczne-molekularne: multipleksowa amplifikacja sond zależna od ligacji (*multiplex ligation-dependent probe amplification* – MLPA), hybrydyzacja fluorescencyjna *in situ* (*fluorescent in situ hybridization* – FISH), porównawcza hybrydyzacja genomowa do mikromacierzy (*array comparative genomic hybridization* – aCGH), badania ekspresji genów, a w nieodległej przyszłości niewątpliwie będą to również techniki badań proteomicznych [5, 6].

Podstawy genetyczne procesu transformacji nowotworowej

W badaniach prowadzonych w celu poznania genetycznych podstaw nowotworów przełomowym osiągnięciem było opracowanie we wczesnych latach 70. XX wieku modelu dziedziczenia siatkowczaka na podstawie analizy występowania tego nowotworu w obciążonych rodzinach oraz sformułowanie teorii mechanizmu działania w tym modelu genów supresorowych (*Knudson's two hit hypothesis* – hipoteza dwóch uderzeń Knudsona) [7, 8]. Prace Knudsona i wsp. stały się stymulacją do badań nowotworów i – po latach analiz epidemiologicznych, rodowodowo-klinicznych oraz badań genetycznych – obecnie wiadomo, że około 5–10% wszystkich nowotworów stanowią nowotwory dziedziczne, będące objawami zespołów dziedzicznego zwiększonego ryzyka rozwoju nowotworu, dziedziczone najczęściej autosomalnie dominująco, a rzadziej autosomalnie recesywnie [9, 10].

Okolo 15% przypadków zachorowań na nowotwory występuje rodzinnie i jest dziedziczone wieloczynnikowo (współdziałanie czynników środowiskowych, potencjalnie rakotwórczych oraz genetycznych, zwiększających wrażliwość osobniczą na ich działanie), a pozostałe około 75% rozwija się jako zdarzenie sporadyczne [11].

Badania genomu konstytucyjnego pacjentów z chorobą nowotworową oraz komórek nowotworowych doprowadziły do stwierdzenia, że są to dwa, odmienne genomy: genom konstytucyjny wykazujący się stałością i niezmiennością w ciągu całego życia oraz genom komórek nowotworowych – wysoce heterogenny i niestabilny. Niestabilność tego drugiego genomu jest przyczyną jego zmienności zarówno u jednego pacjenta w toku progresji nowotworu, jak i u różnych pacjentów z nowotworami o tym samym rozpoznaniu histopatologicznym [12].

Badania genetyczne wykazały, że nowotwory klasyfikowane do jednej grupy na podstawie badań histopatologicznych, stanowią wiele odmiennych molekularnie typów. Przykładem może być rak płuca, który klasycznie jest dzielony na drobnonokomórkowy i niedrobnonokomórkowy (gruczolakorak i pła-

skonabłonkowy). Jednak badania genetyczne komórek guza tego typu ujawniły złożoność jego postaci molekularnych [13].

Rozwój nowotworu to proces rozciągający się w czasie (najczęściej trwa 5–20 lat), a jego przebieg jest wieloetapowy i sterowany mutacjami kumulującymi się w komórce i prowadzącymi do zmiany jej właściwości biologicznych [14]. W 2011 roku Hanahan i Weinberg zdefiniowali osiem głównych cech biologicznych nowotworu i dwie potencjalne:

- proliferacja niezależna od sygnałów stymulujących podziały komórki,
- brak reakcji na czynniki hamujące proliferację,
- brak programowanej śmierci komórki,
- nieśmiertelność replikacyjna,
- angiogeneza,
- aktywacja procesów naciekania i przerzutowania,
- niestabilność genomu,
- stan zapalny sprzyjający powstawaniu nowotworu,
- zmiany metabolizmu energetycznego,
- „ucieczka” od mechanizmów „nadzoru” immunologicznego [15].

Obecnie akceptowane są dwie główne teorie transformacji nowotworowej: klonalna i nowotworowych komórek macierzystych. Obie teorie mówią o ekspansji komórek nowotworowych, tworzeniu się genetycznie zróżnicowanych klonów komórek oraz selekcji klonów o najwyższym potencjale proliferacyjnym i adaptacyjnym do ekosystemu tkankowego [16, 17]. Różnica między tymi teoriami polega na odmiennych właściwościach pierwszej komórki, od której rozpoczyna się proces transformacji. W myśl teorii klonalnej jest to przypadkowa komórka organizmu, w której zaszła pierwsza mutacja, inicjująca transformację, a w myśl teorii macierzystych komórek nowotworowych jest to komórka macierzysta (*cancer stem cell*). Macierzyste komórki nowotworowe stanowią małą (poniżej 1%) subpopulację komórek guzów o swoistych cechach biologicznych, np. niski potencjał proliferacyjny, brak zdolności do końcowego różnicowania, obecność charakterystycznych markerów powierzchniowych [17].

W procesie transformacji nowotworowej główną rolę odgrywają trzy grupy genów: onkogeny, geny supresorowe i geny mutatorowe. Onkogeny są to aktywowane formy protoonkogenów obecnych w każdej komórce organizmu. W procesie transformacji nowotworowej stymulują proliferację komórek. Dla większości guzów nowotworowych można zidentyfikować onkogen stanowiący wiodącą zmianę genetyczną (*driver mutation*), która odpowiada za niekontrolowane podziały komórek. To zjawisko nazywane jest uzależnieniem od onkogenu (*oncogene addiction*). Geny supresorowe natomiast zaliczane są do tzw. strażników genomu (*gatekeepers*), gdyż kontrolują punkty podziałowe komórek, kierując komórki z mutacjami na drogę naprawy uszkodzeń DNA albo programowanej śmierci (apoptozy). Z kolei geny mutatorowe, nazywane opiekunami genomu (*caretakers*) odpowiadają za usuwanie z DNA źle sparowanych zasad, które są przyczyną mutacji [14].

Poza tymi trzema grupami genów o kluczowym znaczeniu w transformacji nowotworowej (geny o wysokiej penetracji) na rozwój nowotworów, na ich przebieg kliniczny i reakcję na leczenie wpływa wiele genów o średniej i niskiej penetracji (np. geny zaangażowane w proces angiogenezy, modulujące przyczepność komórek do macierzy, wpływające na reakcję immunologiczną organizmu, rozwój miejscowy guza, zdolność do tworzenia przerzutów, reakcje na leczenie i wiele innych procesów) [14].

W procesie transformacji nowotworowej wszystkie wyżej wymienione geny są powiązane w złożonych sieciach wzajemnych zależności. Tym samym wszystkie one podlegają regulacji przez inne geny, położone na drodze sygnałowej „powyżej” (*upstream genes*), a jednocześnie same regulują aktywność genów położonych w sieci „poniżej” (*downstream genes*). Jest to układ regulacji „pionowej”, ale jednocześnie wzajemne zależności genów wyrażają się w powiązaniach „poziomych” – modyfikując np. ekosystem guza na poziomie lokalnym (tkankowym) oraz w skali całego organizmu (np. reakcje immunologiczne) [18].

Zaburzenia funkcji onkogenów, genów supresorowych i mutatorowych prowadzą do niestabilności genetycznej komórek nowotworowych. Niestabilność może wyrażać się na poziomie chromosomowym (aberracje liczby i struktury chromosomów), genowym (kumulacja mutacji) lub zaburzeń epigenetycznej regulacji ekspresji genów (hipometylacja globalna, która przyczynia się do niestabilności chromosomowej komórek oraz hipermetylacja promotorów genów supresorowych i mutatorowych, co prowadzi do utraty ich funkcji). Akumulacja zmian genetycznych w komórkach jest przyczyną zaburzeń/zmian ich właściwości biologicznych a także rozwoju oporności na stosowane leczenie [14, 19].

Personalizowana opieka nad pacjentem onkologicznym

Medycyna personalizowana w onkologii powinna być oferowana zarówno pacjentom z dziedzicznym obciążeniem zespołem zwiększonego ryzyka zachorowania na nowotwory, jak i pacjentom z nowotworami sporadycznymi.

Nosiciele krytycznych mutacji, które warunkują dziedziczne obciążenie zespołem zwiększonego ryzyka zachorowania na nowotwory, są obejmowani personalizowaną opieką medyczną, do której zalicza się:

1. Opiekę profilaktyczną: dla większości zespołów dziedzicznego zwiększonego ryzyka zachorowania na chorobę nowotworową charakterystyczne jest zwiększenie ryzyka rozwoju nowotworu nie tylko określonego, pojedynczego narządu, ale też innych z tzw. spektrum ryzyka. Znajomość tego spektrum narządów pozwala na optymalizację postępowania profilaktycznego, poprzez zaplanowanie programu badań lub resekcji zdrowych narządów ze spektrum (w zależności od stopnia ryzyka rozwoju nowotworu). Przykładem może być dziedziczny niezwiązany z polipowatością

rak jelita grubego (zespół Lyncha, *Hereditary non-polyposis colorectal cancer* – HNPCC), w którego spektrum, obok raka jelita grubego, wchodzi nowotwory: endometrium, jajnika, dróg żółciowych, dróg moczowych, żołądka oraz mózgu [20].

2. Chemoprewencję, czyli profilaktyczne podawanie leków, którego celem jest zmniejszenie ryzyka rozwoju nowotworu, jak np. podawanie tamoksyfenu u nosicieli mutacji genu *BRCA1/BRCA2* lub kobiet z grupy wysokiego ryzyka [21].
3. Personalizację postępowania medycznego, jak np. szczególne zalecenia co do zakresu postępowania chirurgicznego u nosicieli mutacji *BRCA1* i *BRCA2* oraz prowadzenia celowanego leczenia (np. olaparybem u pacjentek z rakiem jajnika z dziedziczną i/lub somatyczną mutacją *BRCA1/BRCA2*) [21].
4. Poradnictwo genetyczne dla pacjentów i ich rodzin, prowadzone przez lekarzy genetyków klinicznych, opierające się na analizie danych rodowodowo-klinicznych oraz wynikach badań genetycznych. Analiza rodowodowo-kliniczna pozwala na rozpoznanie lub podejrzenie obciążenia dziedzicznym zespołem zwiększonego ryzyka zachorowania na chorobę nowotworową, ustalenie zakresu badań genetycznych dla danego pacjenta oraz interpretację wyników badań genetycznych w aspekcie klinicznym. Ponadto możliwa jest także identyfikacja osób z rodziny, które mogą być nosicielami krytycznej mutacji, wybór optymalnej metody badań genetycznych dla tych osób oraz porada genetyczna z informacją o ryzyku przekazania mutacji [22]. Badania predykcyjne, czyli wykonywane u osób zdrowych z rodzinnym obciążeniem chorobą nowotworową, są prawnie dozwolone u osób pełnoletnich i zawsze powinny być wykonywane z dwóch niezależnych pobrań materiału.

Zasady wyboru metod diagnostyki genetycznej u pacjentów z chorobami nowotworowymi dla celów medycyny personalizowanej

Niezależnie od tego, czy nowotwór rozwija się jako dziedziczny, rodzinny, czy sporadyczny komórki nowotworowe mają własny genom, charakteryzujący się specyficznymi cechami, jakie opisano powyżej.

Określenie zmian molekularnych w komórkach nowotworu pozwala na identyfikację markerów:

- diagnostycznych – wspomagających proces ustalenia rozpoznania,
- predykcyjnych – pozwalających na prognozowanie odpowiedzi na zastosowane leczenie,
- prognostycznych – pozwalających na prognozowanie rokowania. W tym celu badany musi być DNA wyizolowany z komórek nowotworowych.

Wybór właściwej metody badań genetycznych w onkologii ma znaczenie podstawowe, zarówno z przyczyn medycznych, jak i ekonomicznych.

Diagnostyka genetyczna w zespołach dziedzicznego, zwiększonego ryzyka zachorowania na chorobę nowotworową

Badania genetyczne, których celem jest identyfikacja mutacji dziedzicznych, są prowadzone na DNA wyizolowanym z komórek somatycznych (zwykle limfocytów krwi obwodowej, a także z komórek śluzówek – wymaz z wewnętrznej strony policzka, czy z fibroblastów skóry).

Większość zespołów dziedzicznego, zwiększonego ryzyka zachorowania na nowotwór charakteryzuje się dużą różnorodnością genetyczną, mimo takich samych objawów klinicznych choroby. Zjawisko to jest opisywane pojęciami heterogenności genetycznej, allelicznej i nieallelicznej. Termin heterogenność alleliczna oznacza, że w krytycznym genie występuje więcej niż jedna mutacja (np. w genie *BRCA1* znanych jest około 1200 mutacji). Natomiast heterogenność niealleliczna to sytuacja, kiedy ta sama choroba może być uwarunkowana wariantami patogennymi w różnych genach. Przykładem heterogenności nieallelicznej jest dziedziczny zespół zwiększonego ryzyka zachorowania na raka piersi lub/i jajnika, który może być uwarunkowany mutacjami w licznych genach, przy czym najczęściej mutacje występują w *BRCA1* (u około 25% pacjentek z tym zespołem) i *BRCA2* (u kolejnych około 25% pacjentek), a u pozostałej części pacjentek zespół może się rozwijać na skutek mutacji takich genów, jak: *ATM*, *BARD1*, *BLM*, *BRIP1*, *CHEK2*, *MLH1*, *MRE11*, *MSH2*, *MSH6*, *NBN*, *PALB2*, *PMS2*, *PTEN*, *RAD51C*, *RAD51D*, *STK11*, *TP53* [23].

Pośród tych genów część (jak np. geny *BRCA1* i *BRCA2*) należy do grupy „genów o wysokiej penetracji”, czyli nosicielki/nosiciele ich wariantów patogennych mają wysokie, zdefiniowane ryzyko zachorowania na raka piersi lub/i jajnika. Inne geny z tej grupy są zaliczane do „genów o średniej penetracji”, czyli podwyższają umiarkowanie ryzyko zachorowania na nowotwory, a prognozowanie ryzyka zachorowania jest oparte na analizie wyniku badania genetycznego oraz historii rodzinnej występowania nowotworów [24]. Dla niektórych genów opisywane jest zjawisko występowania preferencyjnego pewnych mutacji w określonej populacji – tzw. mutacje fundatorowe (np. w genie *BRCA1* w populacji polskiej u około 50% pacjentek z mutacją tego genu występuje jedna z trzech mutacji: c.5266dupC (poprzednia nazwa: 5382insC), c.4035delA (poprzednia nazwa: 4153delA), c.181T > G p.Cys61Gly (poprzednia nazwa: C61G) [23, 25].

Sytuacja staje się jeszcze bardziej skomplikowana, jeśli weźmiemy pod uwagę fakt, że nie wszystkie zmiany genetyczne mają takie same konsekwencje kliniczne. Patogenność niektórych wariantów jest znana i dla ich nosicieli są opracowane standardy postępowania klinicznego. Inne warianty natomiast są rzadko opisywane, ich patogenność nie została jeszcze jednoznacznie zdefiniowana, natomiast dostępna wiedza oraz analiza bioinformatyczna pozwalają zakwalifikować je jako zmiany potencjalnie patogene. Niektóre zmiany są dotychczas nieopisane i stanowią tzw. zmiany o nieznanym

znaczeniu klinicznym (*variants of unknown significance* – VUS). Ostatnią grupę stanowią warianty potencjalnie łagodne i łagodne. W bazie ClinVar wśród opisanych 9073 wariantów genów *BRCA1* i *BRCA2*, około 2197 stanowią warianty o nieznannej patogenności [26]. W związku z ciągłą aktualizacją baz danych i charakteryzowaniem nowych wariantów, wynik analizy badania NGS u pacjenta powinien być opatrzony datą dostępu do tych baz, a uzyskane dane powinny być przechowywane w celu ewentualnej reanalizy wyniku w przyszłości.

W tak skomplikowanej sytuacji genetycznej wciąż nie ma pełnego konsensusu co do zakresu badań genetycznych, jakie należy zlecać pacjentom z określonym problemem klinicznym.

Według niektórych autorów optymalne jest sekwencjonowanie wszystkich genów, potencjalnie krytycznych dla danego zespołu zwiększonego ryzyka zachorowania na nowotwory (panel kliniczny). Korzyści z takiego podejścia to obniżenie kosztów badań i skrócenie czasu oczekiwania na wyniki oraz efektywne wykorzystanie wyizolowanego DNA. Negatywne konsekwencje to: zwiększona liczba identyfikowanych wariantów o nieznannej patogenności lub wariantów w genach, dla których nie ma opracowanych standardów postępowania klinicznego, a także identyfikacja zmian w genach o średniej i niskiej penetracji, co prowadzi do trudnej sytuacji dla lekarza i pacjenta wynikającej z faktu, że mimo znanej zmiany genetycznej nie można podjąć celowanego postępowania klinicznego [27].

Według innych autorów należy zlecać badanie wyłącznie tych genów, których nosiciele mają opracowane standardy postępowania klinicznego (tzw. *targetable mutations*). W niektórych krajach, np. w Wielkiej Brytanii, zostały opracowane oficjalne rekomendacje diagnostyczne, np. Rekomendacje UK Cancer Genetics Group (2018) dla diagnostyki genów, których mutacje determinują ryzyko zachorowania na dziedziczny zespół zwiększonego zachorowania na raka piersi (*BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *PTEN*, *STK11*, *TP53*) oraz raka jajnika (*BRCA1*, *BRCA2*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *RAD51C*, *RAD51D*) [28].

Postępowanie personalizowane na podstawie zmian genetycznych w komórkach nowotworowych

Identyfikacja zmian genetycznych w komórkach nowotworowych pozwoliła na lepsze zrozumienie mechanizmów molekularnych procesu transformacji nowotworowej, a tym samym otworzyła możliwości bardziej precyzyjnej, przyczynowej klasyfikacji nowotworów oraz pozwoliła na opracowanie leczenia celowanego. Badania komórek nowotworowych można prowadzić z DNA wyizolowanego z komórek guza pierwotnego lub przerzutowego, lub też z komórek nowotworowych lub DNA nowotworowego, krążących we krwi pacjenta – tzw. płynna biopsja (*liquid biopsy*). Zgodność pomiędzy wynikami badań genetycznych z tkanki guza pierwotnego i przerzutów w węzłach chłonnych oraz kolejnych guzów pierwotnych jest niepewna, a porównanie wyników

badan z guzów pierwotnych i z materiału krążącego w surowicy krwi pacjentów może dawać odmienne wyniki [29]. Heterogenność genetyczna guzów nowotworowych oraz fakt, że guzy o takim samym rozpoznaniu histopatologicznym różnią się zasadniczo etiologią genetyczną, wyjaśnia w znacznej mierze zmienność reakcji pacjentów na standardową terapię oraz odmienny przebieg kliniczny choroby. Obecnie dla coraz większej liczby nowotworów opracowana jest klasyfikacja molekularna, która pozwala na precyzyjne różnicowanie biologiczne guzów. Ma to podstawowe znaczenie dla wyboru klinicznego postępowania personalizowanego. Przykładem może być klasyfikacja molekularna glejaków mózgu (Klasyfikacja WHO, 2016), która pozwala określić różne postacie niskozróżnicowanych glejaków: odróżnienie glejaka wielopostaciowego pierwotnego (bez mutacji *IDH1/IDH2*, z obecnymi: delecją 10q, mutacją *PTEN*, amplifikacją *EGFR*, delecją *CDKN2A/2B*) od glejaków wielopostaciowych wtórnych (z mutacją *IDH1/IDH2*) wywodzących się ze skąpodrzewiakogwiaździaków (z mutacją *IDH1/IDH2*, kodekcją 1p/19q, mutacją *TP53* i delecją 9p), rozlanych gwiaździaków (mutacje *IDH1/IDH2* i *TP53* oraz delecje 17p, 9p, 20q) lub skąpodrzewiaków anaplastycznych (kodekcja 1p/19q oraz delecja 9p i 10q) [30].

W wyniku coraz szerzej wykonywanych badań genetycznych komórek różnych nowotworów stwierdzono, że istnieje kilka wspólnych szlaków przekazywania sygnałów, stymulujących transformację nowotworową, jak np. szlak rozpoczynający się od aktywacji receptora epidermalnego czynnika wzrostu (*EGFR*) lub receptora kinazy tyrozynowej (*RTK*), które porowadzą do stymulacji proliferacji komórkowej [31]. Stwierdzenie, że w różnych nowotworach mogą być aktywowane te same szlaki sygnałowe prowadzi do zmiany zasad klasyfikacji guzów nowotworowych dla potrzeb leczenia celowanego, a obok klasyfikacji narządowej, ważna staje się klasyfikacja molekularna. Coraz liczniejsze leki stosuje się nie narządowo, ale molekularnie. W efekcie pacjenci z różnymi nowotworami – ale takimi samymi mutacjami – są leczeni tymi samymi preparatami [32]. Przykładem może być leczenie polegające na blokowaniu czynników stymulujących hiperproliferację, które jest takie samo w nowotworach różnych narządowo i histopatologicznie, ale „uzależnionych” od tego samego onkogenu, np. stosowanie:

- trastuzumabu w raku piersi i raku żołądka, w których kluczową zmianą molekularną jest amplifikacja genu *HER2*,
- kryzotynibu dla leczenia pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuc z mutacjami *ALK*,
- gefitynibu w tym samym histopatologicznym typie nowotworu, ale z amplifikacją *EGFR*,
- imatynibu u pacjentów z nowotworami z mutacjami *KIT* lub genem fuzyjnym *BCR/ABL*,
- wemurafenibu u pacjentów z nowotworami z mutacjami *BRAF* [32, 33].

Badania molekularne komórek nowotworowych pozwoliły również na wyjaśnienie zjawiska nieidentycznej reakcji

na celowane leczenie przez pacjentów z tą samą wiodącą zmianą molekularną, jak np. amplifikacja *EGFR*. Jak wykazano m.in. na przykładzie przerzutowych guzów raka jelita grubego, w nowotworach dochodzi do zmiany funkcji licznych genów zaangażowanych w szlak sygnałowy. Prowadzi to do niezależenia się genów położonych poniżej na ścieżce sygnałowej od genów położonych powyżej, które w prawidłowych warunkach regulują ich ekspresję (*EGFR–RAS–BRAF–MEK/ERK* lub *EGFR–PI3K–AKT* oraz *PTEN*) [31, 32].

Ten skomplikowany układ zależności genetycznych w komórkach nowotworowych prowadzi do kolejnych dylematów w diagnostyce genetycznej. Powstaje pytanie, czy dla oceny markerów prognostycznych przed rozpoczęciem terapii celowanej należy badać pojedyncze, najczęściej zmutowane geny (jak np. amplifikację *EGFR*), czy też panel genów z określonej ścieżki sygnałowej. Dla większości guzów nowotworowych nie ma jeszcze określonych wytycznych postępowania, ale np. dla przerzutów raka jelita grubego US Food and Drug Administration (US FDA) zatwierdziła już panel do badania mutacji genów *KRAS* i *NRAS* pozwalający na identyfikację 56 specyficznych mutacji w eksonach 2, 3 i 4 [34].

Leczenie pacjentów z chorobami nowotworowymi lekami dobieranymi na podstawie zmian molekularnych jest bardzo obiecującym kierunkiem terapii. Jednak po około najczęściej dwóch latach leczenia pacjenci nabywają oporność na stosowaną terapię [31, 32].

Mechanizmy nabytej oporności na leczenie są różne, ale można je przypisać do dwóch głównych grup:

1. Oporność wewnętrzna guza (*intrinsic resistance*), która wynika z wysokiej niestabilności genetycznej komórek nowotworowych i prowadzi do szybkiej zmiany ich charakterystyki genetycznej, zarówno spontanicznej, jak i w odpowiedzi na stosowane leczenie (prowadzące do eliminacji dominujących klonów komórek, które są zastępowane dotychczas mniej licznymi klonami, o odmiennej charakterystyce genetycznej).
2. Oporność indukowana (*acquired resistance*), która powstaje w odpowiedzi na stosowane leczenie i wynika z:
 - aktywacji (poprzez mutacje) genów położonych na ścieżce sygnałowej poniżej genu będącego dotychczasowym „celem (efektorem)” leczenia (*activation of upstream effector*),
 - aktywacji innego onkogenu, który stymuluje proliferację komórkową (obejście, *bypass of (onco)protein effector*),
 - aktywacji innej ścieżki sygnałowej (*kinase target*) [35].

Testy prognostyczne i predykcyjne

Heterogenność kliniczna i genetyczna chorób nowotworowych sprawia, że często nie ma możliwości precyzyjnego prognozowania przebiegu choroby nowotworowej dla pojedynczego pacjenta. Stanowi to poważny problem zarówno medyczny, jak i psychologiczny i społeczny. W związku z tym

od lat prowadzone są badania, których celem jest opracowanie testów molekularnych, pozwalających na prognozowanie przebiegu choroby w różnych jej aspektach, jak np. długości przeżycia całkowitego czy czasu przeżycia bez przerzutów. Mimo wielu lat badań i istnienia na rynku licznych testów predykcyjnych, żaden z nich nie uzyskał dotąd akceptacji do rutynowego zastosowania w praktyce klinicznej.

Obecnie dostępnych jest wiele testów predykcyjnych adresowanych do pacjentów z różnymi chorobami nowotworowymi, ale największa liczba tych testów kierowana jest do pacjentek z rakiem piersi. Testy te opierają się na analizie ekspresji różnych genów w tkance nowotworu, a różnią się między sobą zarówno zakresem możliwości predykcyjnych, jak i analizowanymi genami.

Do najczęściej stosowanych testów należą: Mammaprint, Oncotype Dx Breast, Prosigna PAM-50 Breast Cancer Prognostic Gene Signature Assay, Breast Cancer Index (BCI) and EndoPredict. Wszystkie cztery testy przeznaczone są dla pacjentek po resekcji guza piersi, dla których określony jest status hormonalny oraz stan węzłów chłonnych a także wielkość i stopień złośliwości guza. Testy te pozwalają ocenić ryzyko odległego nawrotu choroby (a Oncotype DX również reakcję na chemioterapię) [36–38].

Kolejnym nowotworem występującym powszechnie i charakteryzującym się ogromną zmiennością przebiegu klinicznego jest rak stercza. Pacjenci z tym nowotworem mogą korzystać z dwóch głównych testów dostępnych na rynku, które pozwalają na prognozowanie przebiegu choroby. Są to Oncotype Dx Genomic Prostate Score oraz Genomic Classifier, Decipher (oparty na ocenie 22-markerów RNA).

Obecnie prowadzone są badania nad opracowaniem testów prognostycznych także dla pacjentów z innymi nowotworami, np.: raka pęcherza moczowego (Decipher Bladder), nowotworów o nieustalonej lokalizacji pierwotnej (Response Dx, CancerTYPEID, Rosetta Cancer Origin, ProOnc, SourceDX, PathfinderTG), raka jelita grubego (Oncotype DX Colon Cancer Assay, Colorectal Cancer DSA, GeneFx Colon, OncoDefender CRC), białaczek (FoundationOne® Heme) czy czerniaka (Decision Dx – Melanoma, Decision Dx-UM, DermTech PLA). Jednak przydatność kliniczna tych testów nie została dotychczas zdefiniowana [37].

Podsumowanie

Rozwój medycyny personalizowanej w onkologii prowadzi do zmiany paradygmatu rozumienia chorób nowotworowych, a w związku z tym zmiany szeroko rozumianej opieki medycznej nad pacjentem onkologicznym i jego rodziną. Bez współdziałania onkologów i genetyków nie będzie możliwe wprowadzenie prawdziwej personalizowanej opieki medycznej opartej na znajomości genetycznych podstaw choroby.

Konflikt interesów: nie zgłoszono

Izabela Łacmańska

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
Katedra i Zakład Genetyki

ul. Marcinkowskiego 1
50-368 Wrocław
e-mail: izabela.laczmanska@umed.wroc.pl

Otrzymano i zaakceptowano: 11 czerwca 2020

Piśmiennictwo

- Filipp FV. Precision medicine driven by cancer systems biology. *Cancer Metastasis Rev.* 2017; 36(1): 91–108, doi: 10.1007/s10555-017-9662-4, indexed in Pubmed: 28265786.
- Ginsburg GS, Phillips KA. Precision Medicine: From Science To Value. *Health Aff (Millwood)*. 2018; 37(5): 694–701, doi: 10.1377/hlthaff.2017.1624, indexed in Pubmed: 29733705.
- Vogelstein FR, Isaacson Barash C, Pursell M. Personalized medicine: part 1: evolution and development into therapeutics. *P.T.* 2010; 35(10): 560–576, indexed in Pubmed: 21037908.
- Strebhardt K, Ullrich A. Paul Ehrlich's magic bullet concept: 100 years of progress. *Nat Rev Cancer*. 2008; 8(6): 473–480, doi: 10.1038/nrc2394, indexed in Pubmed: 18469827.
- Kowalik A, Kowalewska M, Gózdź S. Current approaches for avoiding the limitations of circulating tumor cells detection methods-implications for diagnosis and treatment of patients with solid tumors. *Transl Res.* 2017; 185: 58–84.e15, doi: 10.1016/j.trsl.2017.04.002, indexed in Pubmed: 28506696.
- Ribeiro IP, Melo JB, Carreira IM. Cytogenetics and Cytogenomics Evaluation in Cancer. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(19), doi: 10.3390/ijms20194711, indexed in Pubmed: 31547595.
- Knudson AG. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1971; 68(4): 820–823, doi: 10.1073/pnas.68.4.820, indexed in Pubmed: 5279523.
- Knudson AG, Hethcote HW, Brown BW. Mutation and childhood cancer: a probabilistic model for the incidence of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1975; 72(12): 5116–5120, doi: 10.1073/pnas.72.12.5116, indexed in Pubmed: 1061095.
- Nagy R, Sweet K, Eng C. Highly penetrant hereditary cancer syndromes. *Oncogene.* 2004; 23(38): 6445–6470, doi: 10.1038/sj.onc.1207714, indexed in Pubmed: 15322516.
- Garber JE, Offit K. Hereditary cancer predisposition syndromes. *J Clin Oncol.* 2005; 23(2): 276–292, doi: 10.1200/JCO.2005.10.042, indexed in Pubmed: 15637391.
- McCartan D, Chatterjee S. Hereditary and familial cancer. *Surgery (Oxford)*. 2018; 36(3): 145–150, doi: 10.1016/j.jmps.2017.12.003.
- Stratton MR, Campbell PJ, Futreal PA. The cancer genome. *Nature.* 2009; 458(7239): 719–724, doi: 10.1038/nature07943, indexed in Pubmed: 19360079.
- Kutkowska J, Porębska I, Rapak A. Non-small cell lung cancer - mutations, targeted and combination therapy. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2017; 71(0): 431–445, doi: 10.5604/01.3001.0010.3826, indexed in Pubmed: 28513466.
- Bashyam MD, Animireddy S, Bala P, et al. The Yin and Yang of cancer genes. *Gene.* 2019; 704: 121–133, doi: 10.1016/j.gene.2019.04.025, indexed in Pubmed: 30980945.
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011; 144(5): 646–674, doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013, indexed in Pubmed: 21376230.
- Greaves M, Maley CC. Clonal evolution in cancer. *Nature.* 2012; 481(7381): 306–313, doi: 10.1038/nature10762, indexed in Pubmed: 22258609.
- Gil J, Stembalska A, Pesz KA, et al. Cancer stem cells: the theory and perspectives in cancer therapy. *J Appl Genet.* 2008; 49(2): 193–199, doi: 10.1007/BF03195612, indexed in Pubmed: 18436993.
- Fronczak A. Medycyna personalizowana. Mity, fakty, rekomendacje. *Plexus s.c.* Łódź 2016.
- Vargas-Rondón N, Villegas VE, Rondón-Lagos M. The Role of Chromosomal Instability in Cancer and Therapeutic Responses. *Cancers (Basel)*. 2017; 10(1), doi: 10.3390/cancers10010004, indexed in Pubmed: 29283387.
- Møller P. The Prospective Lynch Syndrome Database reports enable evidence-based personal precision health care. *Hered Cancer Clin Pract.* 2020; 18: 6, doi: 10.1186/s13053-020-0138-0, indexed in Pubmed: 32190163.
- King MC, Wiestand S, Hale K, et al. National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project. Tamoxifen and breast cancer incidence among women with inherited mutations in BRCA1 and BRCA2: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP-P1) Breast Cancer Prevention

- Trial. *JAMA*. 2001; 286(18): 2251–2256, doi: 10.1001/jama.286.18.2251, indexed in Pubmed: 11710890.
24. Lewis KM. Identifying hereditary cancer: genetic counseling and cancer risk assessment. *Curr Probl Cancer*. 2014; 38(6): 216–225, doi: 10.1016/j.crrproblcancer.2014.10.002, indexed in Pubmed: 25432528.
 25. McClellan J, King MC. Genetic heterogeneity in human disease. *Cell*. 2010; 141(2): 210–217, doi: 10.1016/j.cell.2010.03.032, indexed in Pubmed: 20403315.
 26. Kiwerska K, Szyfter K. DNA repair in cancer initiation, progression, and therapy—a double-edged sword. *J Appl Genet*. 2019; 60(3–4): 329–334, doi: 10.1007/s13353-019-00516-9, indexed in Pubmed: 31468363.
 27. Kowalik A, Siolek M, Kopczyński J, et al. BRCA1 founder mutations and beyond in the Polish population: A single-institution BRCA1/2 next-generation sequencing study. *PLoS One*. 2018; 13(7): e0201086, doi: 10.1371/journal.pone.0201086, indexed in Pubmed: 30040829.
 28. Landrum MJ, Lee JM, Benson M, et al. ClinVar: improving access to variant interpretations and supporting evidence. *Nucleic Acids Res*. 2018; 46(D1): D1062–D1067, doi: 10.1093/nar/gkx1153, indexed in Pubmed: 29165669.
 29. Gagan J, Van Allen EM. Next-generation sequencing to guide cancer therapy. *Genome Med*. 2015; 7(1): 80, doi: 10.1186/s13073-015-0203-x, indexed in Pubmed: 26221189.
 30. Taylor A, Brady AF, Frayling IM, et al. UK Cancer Genetics Group (UK-CGG). Consensus for genes to be included on cancer panel tests offered by UK genetics services: guidelines of the UK Cancer Genetics Group. *J Med Genet*. 2018; 55(6): 372–377, doi: 10.1136/jmedgenet-2017-105188, indexed in Pubmed: 29661970.
 31. Qiu J, Xu J, Zhang K, et al. Refining Cancer Management Using Integrated Liquid Biopsy. *Theranostics*. 2020; 10(5): 2374–2384, doi: 10.7150/thno.40677, indexed in Pubmed: 32089746.
 32. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol*. 2016; 131(6): 803–820, doi: 10.1007/s00401-016-1545-1, indexed in Pubmed: 27157931.
 33. Yamaoka T, Kusumoto S, Ando K, et al. Receptor Tyrosine Kinase-Targeted Cancer Therapy. *Int J Mol Sci*. 2018; 19(11), doi: 10.3390/ijms19113491, indexed in Pubmed: 30404198.
 34. Krzyszczyk P, Acevedo A, Davidoff EJ, et al. The growing role of precision and personalized medicine for cancer treatment. *Technology (Singap World Sci)*. 2018; 6(3–4): 79–100, doi: 10.1142/S2339547818300020, indexed in Pubmed: 30713991.
 35. Helgadottir H, Rocha Trocoli Drakensjö I, Girnita A. Personalized Medicine in Malignant Melanoma: Towards Patient Tailored Treatment. *Front Oncol*. 2018; 8: 202, doi: 10.3389/fonc.2018.00202, indexed in Pubmed: 29946532.
 36. Afrăsănie VA, Marinca MV, Alexa-Stratulat T, et al. KRAS, NRAS, BRAF, HER2 and microsatellite instability in metastatic colorectal cancer - practical implications for the clinician. *Radiol Oncol*. 2019; 53(3): 265–274, doi: 10.2478/raon-2019-0033, indexed in Pubmed: 31553708.
 37. von Manstein V, Yang CM, Richter D, et al. Resistance of Cancer Cells to Targeted Therapies Through the Activation of Compensating Signaling Loops. *Curr Signal Transduct Ther*. 2013; 8(3): 193–202, doi: 10.2174/1574362409666140206221931, indexed in Pubmed: 25045345.
 38. Smith A, Farrah K. Gene Expression Profiling Tests for Breast Cancer: A Rapid Qualitative Review. Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health. ; 2019.
 39. Vieira AF, Schmitt F. An Update on Breast Cancer Multigene Prognostic Tests-Emergent Clinical Biomarkers. *Front Med (Lausanne)*. 2018; 5: 248, doi: 10.3389/fmed.2018.00248, indexed in Pubmed: 30234119.
 40. Schildgen V, Warm M, Brockmann M, et al. Oncotype DX Breast Cancer recurrence score resists inter-assay reproducibility with RT-Profiler Multiplex RT-PCR. *Sci Rep*. 2019; 9(1): 20266, doi: 10.1038/s41598-019-56910-0, indexed in Pubmed: 31889145.