

# BRCA mutacije kod karcinoma jajnika - iskustva KBC Split

---

Čović, Natko

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:765222>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-22**



Repository / Repozitorij:

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Natko Čović**

**BRCA MUTACIJE KOD KARCINOMA JAJNIKA – ISKUSTVA KBC SPLIT**

**Diplomski rad**

**Akadska godina:**

**2022./2023.**

**Mentor:**

**izv. prof. prim. dr. sc. Branka Petrić Miše, dr. med.**

**Split, srpanj 2023.**

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
1.1. Ozljeđe i mehanizmi popravka DNA .....	2
1.2. BRCA geni i homologna rekombinacija .....	3
1.3. BRCA mutacije.....	4
1.4. Rizik razvoja tumora u nositelja/ica BRCA mutacija .....	6
1.4.1. Rak dojke u nositelja/ica BRCA mutacija .....	7
1.4.2. Rak jajnika, jajovoda i potrbušnice u nositeljica BRCA mutacija .....	9
1.4.3. Rak prostate u nositelja BRCA mutacija.....	10
1.4.4. Rak gušterače u nositelja/ica BRCA mutacija .....	11
1.4.5. Rak kože i melanom u nositelja/ica BRCA mutacija .....	12
1.5. Genetičko savjetovanje i genetičko testiranje za žene s rakom dojke i jajnika .....	13
1.6. Patološke i kliničke osobitosti raka jajnika, jajovoda i potrbušnice u BRCA mutiranih bolesnica .....	15
1.7. Liječenje bolesnica s BRCA mutiranim karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice .	17
1.7.1. Prvolinijsko liječenje .....	19
1.7.2. Liječenje recidiva.....	21
<b>2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....</b>	<b>23</b>
<b>3. ISPITANICE I METODE ISTRAŽIVANJA.....</b>	<b>25</b>
3.1. Ispitanice .....	26
3.2. Mjesto studije.....	26
3.3. Prikupljeni podatci.....	26
3.4. Etička načela .....	26
3.5. Opis istraživanja .....	27
3.6. Statistički postupci.....	27
<b>4. REZULTATI.....</b>	<b>28</b>
<b>5. RASPRAVA .....</b>	<b>37</b>
<b>6. ZAKLJUČCI.....</b>	<b>42</b>

<b>7. LITERATURA.....</b>	<b>45</b>
<b>8. SAŽETAK .....</b>	<b>56</b>
<b>9. SUMMARY .....</b>	<b>58</b>
<b>10. ŽIVOTOPIS .....</b>	<b>60</b>

## POPIS KRATICA

ACOG – Američko društvo opstetričara i ginekologa od engl. *American College of Obstetricians and Gynaecologists*

BER – popravak isijecanjem baza od engl. *base excision repair*

BRCA1 – gen sklonosti za rak dojke 1 od engl. *breast cancer susceptibility gene 1*

BRCA2 – gen sklonosti za rak dojke 2 od engl. *breast cancer susceptibility gene 2*

BSO – bilateralna salpingo-ooforektomija od engl. *bilateral salpingo-oophorectomy*

DDR – odgovor na oštećenje DNA od engl. *DNA damage response*

DNA – deoksiribonukleinska kiselina od engl. *deoxyribonucleic acid*

DSBs – dvolančani lomovi molekule DNA od engl. *double-strand breaks*

EMA – Europska agencija za lijekove od engl. *European Medicines Agency*

ER – receptor za estrogen od engl. *estrogen receptor*

FDA – Američka agencija za hranu i lijekove od engl. *US Food and Drug Administration*

HBOC – nasljedni karcinom dojke i jajnika od engl. *hereditary breast and ovarian cancer*

HER2 – receptor za humani epidermalni faktor rasta 2 od engl. *human epidermal growth factor receptor 2*

HGSC – serozni karcinom visokog gradusa od engl. *high grade serous carcinoma*

HR – homologna rekombinacija od engl. *homologous recombination*

HRD – deficijencija homologne rekombinacije od engl. *homologous recombination deficiency*

HRR – popravak homolognom rekombinacijom od engl. *homologous recombination repair*

ICLs – unakrsne veze između lanaca DNA od engl. *interstrand cross-links*

LGSC – serozni karcinom niskog gradusa od engl. *low grade serous carcinoma*

MMR – popravak krivo sparenih baza od engl. *mismatch repair*

NGS – sekvenciranje DNA druge i treće generacije od engl. *next-generation sequencing*

NHEJ – nehomologno spajanje krajeva od engl. *non-homologous end joining*

NMD – propadanje mRNA zbog nonsense mutacija od engl. *nonsense-mediated mRNA decay*

NMSC – nemelanomski rak kože od engl. *non-melanoma skin cancer*

PARP – poli ADP riboza polimeraza od engl. *poly ADP ribose polymerase*

PDAC – duktalni adenokarcinom gušterače od engl. *pancreatic ductal adenocarcinoma*

PFI – vrijeme od prestanka kemoterapije platinom do relapsa ili progresije bolesti od engl. *platinum-free interval*

PFS – preživljenje bez progresije od engl. *progression-free survival*

PR – receptor za progesteron od engl. *progesteron receptor*

ROS – reaktivni oblici kisika od engl. *reactive oxygen species*

RRI – intervencija smanjenja rizika od engl. *risk-reducing intervention*

SSBs – jednolančani lomovi molekule DNA od engl. *single-strand breaks*

TILs – limfociti koji prodiru u tumor od engl. *tumor-infiltrating lymphocytes*

TNBC – trostruko negativni karcinom dojke od engl. *triple negative breast cancer*

VEGF – vaskularni endotelni faktor rasta od engl. *vascular endothelial growth factor*

VUS – varijanta neizvjesnog značaja od engl. *variant of uncertain significance*

*„Vjerujem poput djeteta da će se patnje zaliječiti i nestati...“*

*F.M.Dostojevski*

*Hvala prijateljima i obitelji koji su bili uz mene tijekom zahtjevnih godina studija. Hvala mentorici na trudu, stručnosti, pažnji i podršci bez čega ovaj rad ne bi bio moguć.*

## **1. UVOD**



## 1.1. Ozljede i mehanizmi popravka DNA

Deoksiribonukleinska kiselina (engl. *deoxyribonucleic acid* – DNA) je nositeljica svih genetskih informacija potrebnih za nastanak i održivost nekog organizma (1). Temeljna građevna jedinica DNA jest nukleotid koji se sastoji od dušične baze, pentoznog šećera deoksiriboze i fosfatne skupine. Razlikujemo purinske i pirimidinske dušične baze. Dvije pirimidinske dušične baze su timin (T) i citozin (C), a dvije purinske dušične baze adenin (A) i gvanin (G). Polinukleotidni lanci DNA su preko dušičnih baza međusobno povezani vodikovim vezama. Nukleotidi se uparuju na specifičan način, pri čemu se A spaja s T, a G s C. Veza između A i T ostvaruje se putem dvije vodikove veze, a između C i G putem tri vodikove veze. Takav način spajanja predstavlja uparivanje komplementarnih baza i energetski je najpovoljniji mogući način povezivanja. Struktura DNA je takva da se šećeri svakog lanca nalaze s vanjske strane, a dušične baze povezane vodikovim vezama s unutrašnje strane molekule, formirajući takozvanu šećer-fosfatnu "košuljicu" (2). Kako bi se osiguralo pravilno funkcioniranje stanica i opstanak organizma, replikacija DNA mora biti provedena točno i učinkovito. Bilo kakve pogrešne, nedovršene ili krivovremene replikacije DNA mogu dovesti do genetskih promjena koje rezultiraju razvojem bolesti, najčešće tumora. Stoga je održavanje točnosti replikacije DNA ključno za cjelokupno zdravlje stanice i organizma (3).

Ozljede DNA, ovisno o njihovom podrijetlu mogu biti endogene i egzogene. Većina endogenih oštećenja DNA proizlazi iz kemijski aktivne DNA koja ulazi u hidrolitičke i oksidativne reakcije s vodom i radikalima kisika koji se prirodno pojavljuju u stanicama. Najznačajniji reaktivni oblici kisika (engl. *reactive oxygen species* – ROS) su superoksidni radikal, vodikov peroksid i hidroksilni radikal. Hidroksilni radikali kao najpotentniji reagiraju s dušikovim bazama DNA tako da remete dvostruke veze, uklanjaju vodikove atome iz metilnih skupina i napadaju šećerni ostatak u njihovoj neposrednoj blizini. ROS mogu direktno narušiti strukturu DNA. Naposljetku, oksidacija molekula lipida hidroksilnim radikalima generira aldehidne produkte koji reagiraju s A, G i C formirajući mutagene adukte. Drugi načini endogenog oštećenja DNA su replikacijske pogreške, neslaganje DNA baza i kompleksa topoizomeraza-DNA, spontana deaminacija baza te metilacija DNA. Egzogene ozljede DNA nastaju kada okolišni, fizikalni i kemijski čimbenici oštete molekulu DNA. Poznati razlozi su ultraljubičasto i ionizirajuće zračenje, te kemijski agensi. U kemijske kancerogene spadaju alkilirajući agensi, aromatski amini, policiklički aromatski ugljikovodici te ostali reaktivni elektrofilni poput N-nitrozamina (4).

Načini oštećenja DNA su raznoliki. Mogući su jednolančani lomovi molekule DNA

(engl. *single-strand breaks* – SSBs), dvolančani lomovi DNA (engl. *double-strand breaks* – DSBs), oštećenje dušične baze i šećera, nepravilno povezivanje DNA i slično. Najštetnija lezija i najozbiljnija prijetnja stanicama jesu dvolančani lomovi DNA. Ako se DSBs ne poprave pravovremeno i učinkovito ili se pri popravku dogode greške, mogu pokrenuti karcinogenezu i/ili smrt stanice (5).

Održavanje genomske DNA stabilnosti ključno je zbog njezine uloge kao predloška za replikaciju i transkripciju (5). Stanice reagiraju na oštećenje DNA aktiviranjem signalnih puteva mehanizmom poznatim kao odgovor na oštećenje DNA (engl. *DNA damage response* – DDR), koji omogućuje stanici dovoljno vremena da fizički ukloni oštećeni dio molekule (4). Kada oštećenje DNA premaši mogućnost njena popravka, DDR pokreće proces apoptoze (programirane smrti stanice). Zaustavljanjem proliferacije i poticanjem uklanjanja oštećenih stanica, DDR djeluje kao prepreka kancerogenezi. Stoga, nasljedne ili sporadične mutacije u DDR genima dovode do mutacija i preuređenja kromosoma, pogodujući razvoju i rastu tumora (6).

Ovisno o vrsti oštećenja molekule DNA, DDR pokreće postupak popravka preko nekoliko različitih mehanizama kao što su popravak isijecanjem baza (engl. *base excision repair* – BER), popravak isijecanjem nukleotida (od engl. *nucleotide excision repair*), popravak krivo sparenih baza (engl. *mismatch repair* – MMR), popravak homolognom rekombinacijom te popravak nehomolognim spajanjem krajeva (7).

## **1.2. BRCA geni i homologna rekombinacija**

Dvolančani lomovi DNA su najopasnije ozljede DNA koje mogu uzrokovati egzogeni ili endogeni agensi. DSBs se mogu popraviti homolognom rekombinacijom (engl. *homologous recombination* – HR) ili nehomolognim spajanjem krajeva (engl. *non-homologous end joining* – NHEJ). Za razliku od nehomolognog spajanja krajeva, homologna rekombinacija je konzervativnija i ovisna o postojanju sestrinskih kromatida, pa se dvostruki lomovi DNA mogu popravljati samo u S ili G2 fazi staničnog ciklusa (5,8).

Geni BRCA1 i BRCA2 (engl. *breast cancer susceptibility gene 1/2*), poznati kao geni sklonosti raku dojke i jajnika, otkriveni su 1990-ih godina. Oba gena pripadaju tumor – supresorskim genima jer su ključni za popravak DNA. Igraju presudnu ulogu u kontroli rasta stanica kroz regulaciju staničnog ciklusa, važni su u sintezi DNA te prepoznavanju i ispravljanju DSBs pa na takav način sudjeluju u očuvanju genomskog integriteta (9).

U suštini, BRCA1 i BRCA2 proteini formiraju tromolekularni kompleks s partnerskim

proteinom PALB2 koji pomaže u preciziranju lokalizacije ozljede oštećene DNA. BRCA1 gen sudjeluje u sintezi makromolekularnog kompleksa koji signalizira ozljedu DNA, a potom potiče popravak dvolančanih lomova DNA regrutiranjem proteina koji obrađuju prekinute krajeve. Za razliku od njega, BRCA2 gen izravno kontrolira aktivnost ključnog rekombinacijskog enzima RAD51 na jednolančanim i dvolančanim supstratima DNA kako bi se izvršio popravak DNA (10).

BRCA1 gen se nalazi na dugom kraku kromosoma 17 (17q12-21), dok se BRCA2 gen nalazi na dugom kraku kromosoma 13 (13q12-13). BRCA2 gen kodira protein koji se sastoji od 3418 aminokiselina raspoređenih u 27 egzona. Egzon 11 kontrolira funkciju RAD51. BRCA1 protein je nešto manji, s 1863 aminokiselina i 24 egzona. Egzoni 2-5 kodiraju RING (engl. *really interesting new gene*) domenu, a egzoni 15-23 kodiraju BRCT (engl. *BRCA1 C-terminus domain*) domenu. Obe domene, RING i BRCT, bitne su za HR (9,11,12).

Na staničnoj razini, BRCA1 djeluje kao inhibitor ciklin-ovisne kinaze p21, što smanjuje rast stanice u G1/S fazi mitoze (11). BRCA2 gen posreduje regrutaciju filamenata RAD51 na mjesto prekida dvostrukog lanca DNA tvoreći RAD51-BRCA2-DSS1 kompleks kao predložak za popravak oštećenja procesom homologne rekombinacije. Važno je naglasiti da BRCA2 formira kompleks s proteinom PALB2 kako bi došlo do prodora u središte jezgre (11, 13). Oba gena su važna u suzbijanju R-petlji i trostrukih polinukleotidnih struktura koje se formiraju DNA-RNA hibridizacijom tijekom transkripcije. R-petlje su izvor genomske nestabilnosti jer interferirajući s replikacijskim vilama ometaju razdvajanje dvostrukog lanca DNA (14).

### 1.3. BRCA mutacije

Tumor supresorski geni BRCA1 i BRCA2 su svojstveni svakom čovjeku. Mogu biti mutirani, pa su njihovi nositelji izloženi značajno povišenom riziku za razvoj raka dojke i jajnika u odnosu na nemutiranu populaciju (9,14). Nasljedni karcinom dojke i jajnika nastaje najčešće zbog mutacija BRCA gena. Nositeljice mutacija BRCA gena imaju oko 70% kumulativni rizik za razvoj raka dojke i 45% kumulativni rizik za razvoj raka jajnika do 80. godine. Muškarci nositelji BRCA mutacija imaju kumulativni rizik od 21-27% za razvoj raka prostate i 1,2-6,8% za nastanak raka dojke do 75. godine života (15).

Postoje dvije vrste mutacija BRCA gena s obzirom na vrijeme nastanka: zametne mutacije (gBRCAm, engl. *germline mutation*) i somatske mutacije (sBRCAm, engl. *somatic mutation*). Zametne mutacije nastaju u spolnim stanicama (spermijima ili jajnim stanicama),

prisutne su u svim somatskim stanicama osobe nositeljice mutiranog gena, i prenose se autosomno dominantno na potomstvo. Somatske mutacije se javljaju u tumorskim stanicama, i ne prenose se na potomstvo (13).

Pojam "mutacija" odnosi se na svaku genetsku sekvencu koja odstupa od standardne sekvence, bez obzira na štetnost. Prema kliničkom značaju dijelimo ih na benigne, vjerojatno benigne, varijante neizvjesnog značaja (engl. *variant of uncertain significance* – VUS), vjerojatno patogene i patogene. Američki koledž medicinske genomike predlaže korištenje pojma "varijacija" jer javnost negativno reagira na izraz "mutacija" zbog negativne konotacije i povezanosti s negativnim ishodima (16).

Kod velike većine patogenih ili vjerojatno patogenih mutacija, do oko 80%, dolazi do stvaranja preuranjenog STOP kodona, pri čemu nastaje protein koji je skraćen i nefunkcionalan, a čija se proizvodnja uvelike smanjuje mehanizmima poput propadanja mRNA zbog nonsense mutacija (engl. *nonsense-mediated mRNA decay* – NMD). Vjeruje se da je važnost NMD u tome da sprječava sintezu skraćenih proteina koji bi mogli biti štetni za stanicu (13,17). Manjina, oko 10%, su missense mutacije koje rezultiraju nastankom stabilnih mutiranih proteina. Patogeni ili vjerojatno patogeni BRCA1 i BRCA2 aleli mogu također nastati zbog velikih delecija koje dovode do pomaka okvira čitanja, ili uslijed promjena u transkripcijskim regulacijskim regijama (10). Nositelji BRCA1 i BRCA2 mutacija su uglavnom jednostruko heterozigoti, što znači da imaju samo jedan alel zahvaćen patogenom mutacijom u jednom od ova dva gena. Ne računajući osobe Aškenazi židovskog podrijetla, rijetko se nalaze nositelji dviju štetnih mutacija, ili u istom genu (bialelno) ili u oba gena (trans-heterozigotno). Trans-heterozigotne mutacije u oba gena BRCA1 i BRCA2 povezane su klinički s ranim početkom i težim oblikom bolesti u usporedbi s jednostrukim heterozigotima (18).

Pojedinac može ispoljiti novu mutaciju koja nije do sada opisana. Stoga se većina mutacija može smatrati jedinstvenima, odnosno svaka obitelj može nositi specifičnu mutaciju. Unatoč velikoj varijabilnosti obiteljskih mutacija, određene mutacije češće se pojavljuju u određenim geografskim područjima i u nekim etničkim skupinama (9).

Samo 0,1-0,2% opće populacije ima nositelje mutacija BRCA1 i BRCA2 gena. U obiteljima čiji su članovi nositelji BRCA mutacija, zloćudni tumori, posebno rak dojke se javlja u ranijoj dobi. Prevalencija BRCA1/2 u općoj populaciji varira ovisno o zemlji i etničkoj pripadnosti. U Aškenazi Židova iznosi 2,17% i smatra se najvećom prevalencijom među svim narodima (19). Rizici za razvoj raka dojke i jajnika razlikuju se ovisno o položaju i vrsti mutacija BRCA1 i BRCA2 gena. Važno je napomenuti da dvije različite mutacije na istom

alelu mogu biti povezane s drukčijim fenotipom, budući da se svaka mutacija nalazi u različitoj domeni BRCA proteina (18).

Reverzija, ili povratna mutacija se definira kao sekundarna mutacija naslijeđenog mutiranog gena, pri čemu dolazi do obnove fiziološke funkcije u somatskoj stanici. Na primjer, patogeni BRCA aleli se nekad revertiraju u sekvencu divljeg tipa preko dodatne točkaste mutacije (mutacija unatrag). S druge strane, dodatna insercija ili delecija u BRCA genima ispravlja pomaknuti okvir čitanja (inframe mutacija) transformirajući ga u nepatogeni alel. Ovakve genetske preinake se smatraju dijelom kasnog stadija onkogeneze gdje dolazi do reaktivacije puta popravka homolognom rekombinacijom, što u konačnici dovodi do otpornosti tumorske stanice na letalno oštećenje DNA. Zanimljiva je činjenica da kod trećine karcinoma jajnika sa zametnim BRCA1/2 mutacijama dolazi upravo do spomenute reverzije naslijeđene mutacije i razvoja rezistencije na PARP inhibitor, odnosno kemorezistencije na spojeve platine (20).

Zaključno, zametne mutacije u BRCA genima su autosomno dominantne, što znači da je za povećan rizik karcinoma dovoljno naslijediti samo jedan oštećen alel od majke ili oca. Mutacija u jednom alelu dovodi do smanjene proizvodnje proteina, što pak može dovesti do unutarstaničnih promjena koje rezultiraju nekontroliranim rastom i dijeljenjem stanica, odnosno nastankom zloćudnog tumora. Maligne stanice s patogenima varijantama u BRCA genima oslanjaju se na neke druge mehanizme popravka oštećene DNA (21).

#### **1.4. Rizik razvoja tumora u nositelja/ica BRCA mutacija**

Pacijentice s pozitivnom obiteljskom anamnezom raka dojke ili jajnika čine otprilike 15% svih pacijentica s rakom dojke. Prema američkom Nacionalnom institutu za rak, nasljedni karcinom dojke i jajnika (engl. *hereditary breast and ovarian cancer* – HBOC) se opisuje kao nasljedni poremećaj u kojem je rizik raka, pogotovo prije pedesete godine, veći od normalnog. Većina slučajeva HBOC uzrokovana je mutacijama u BRCA genima. Njihovim otkrićem devedesetih godina prošlog stoljeća znanost je ušla u novo doba genetskog testiranja karcinoma. Mutacije u BRCA genima se također povezuju s povećanim rizikom razvoja karcinoma prostate, gušterače, žučnih vodova, želuca, jednjaka i melanoma (19,22).

Penetrantnost raka dojka do 70. godine u nositeljica BRCA1 mutacije iznosi 64,6%, a u nositeljica BRCA2 61%, dok je za rak jajnika do 70. godine u nositeljica BRCA1 penetrantnost 48,3%, a u BRCA2 20% (23). Desetogodišnji kumulativni rizik kontralateralnog karcinoma dojke u žena iznosi 21,1% za nositeljice BRCA1 mutacije, 10,8% za BRCA2

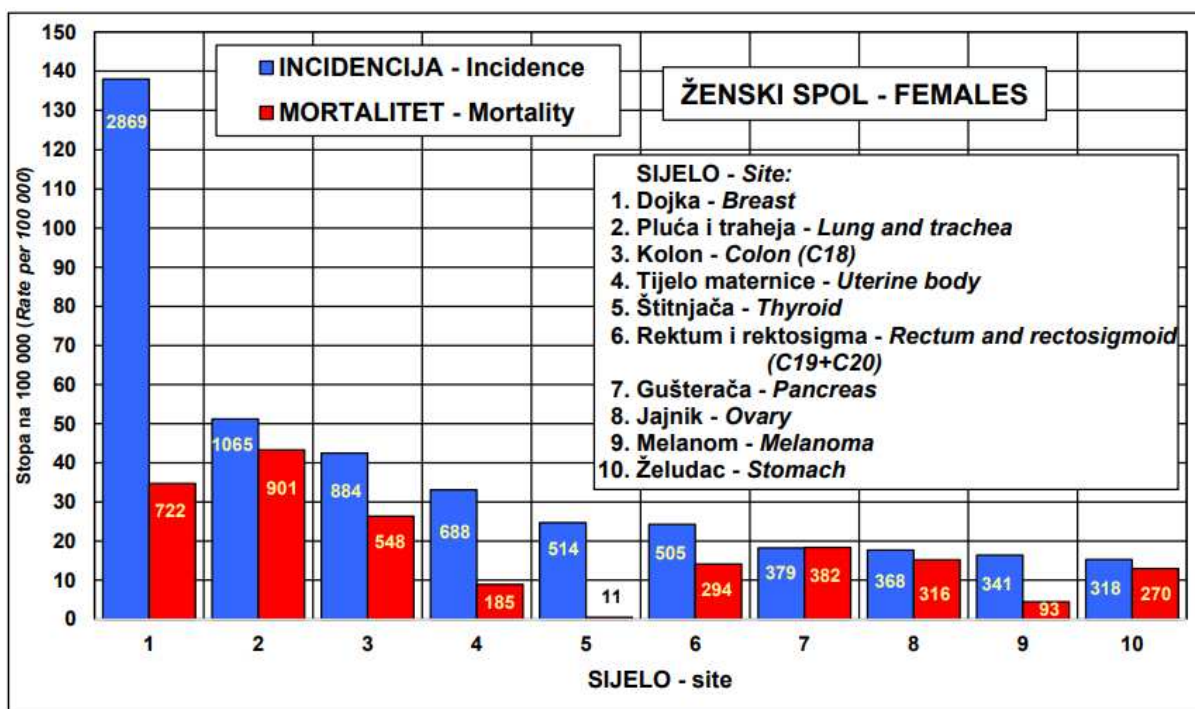
mutacije, a 5,1% za BRCAwt (engl. *wild type*) (24). Kumulativna incidencija karcinoma dojke do 70. godine u muškaraca iznosi 1% kod BRCA1 mutiranih i 7% kod BRCA2 mutiranih. Za usporedbu, cjeloživotni rizik u općoj muškoj populaciji iznosi 0,1% (25).

S obzirom da su Müllerovi kanali embrionalna preteča jajovoda i endometrija, moguće je da endometrij bude podložan istoj karcinogenezi kao i jajovod (26). Sličnosti između seroznog karcinoma maternice i seroznog karcinoma jajnika dovele su do istraživanja potencijalnih zajedničkih patogenetskih značajki, kao i nasljednih uzroka (27).

Zametne mutacije manje penetrirajućih gena koji sudjeluju u procesu homologne rekombinacije poput BARD1, BRIP1, PALB2, RAD51C i RAD51D su također zabilježene u pacijentica oboljelih od raka jajnika i dojke. Studije koje su procjenjivale cjeloživotni rizik razvoja bolesti u tih pacijentica su definirale 15-35% rizik za razvoj karcinoma dojke i 5-10% rizik za razvoj karcinoma jajnika, jajovoda i potrbušnice (28).

#### **1.4.1. Rak dojke u nositelja/ica BRCA mutacija**

U 2020. godini je diljem svijeta zabilježeno približno 19,3 milijuna novih slučajeva raka, a od njega je umrlo skoro 10 milijuna ljudi. Pojavnost raka dojke u žena je premašio rak pluća, s procijenjenih 2,3 milijuna novih slučajeva (11,7%). Prema dostupnim podacima, incidencija raka dojke je najviša u Australiji, Novom Zelandu, u velikom dijelu Europe i Sjevernoj Americi. U Južnoj Americi i istočnoj Europi je intermedijarna, dok je u Aziji i Africi najniža (29). Kao što je prikazano na Slici 1, u Hrvatskoj je 2020. godine od raka dojke oboljelo 2869 žena, čineći tako 26% svih novootkrivenih malignoma. Od te bolesti su preminule 722 žene, što ga stavlja na prvo mjesto po incidenciji i drugo po mortalitetu, iza raka pluća (30).



**Slika 1.** Najčešća sijela raka u Hrvatskoj 2020. godine u osoba ženskog spola  
 IZVOR: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske.  
 Incidencija raka u Hrvatskoj 2020., Bilten 45, Zagreb, 2022.

Većina malignoma dojke su adenokarcinomi, na koje otpada više od 95% slučajeva. Dva najčešća histološka podtipa su duktalni karcinom (potječe iz stanica stijenke mliječnih kanalića) i lobularni karcinom (potječe iz mliječnih žlijezda) (31,32).

U liječenju i prognozi bolesti važno je poznavati molekularne osobitosti karcinoma dojke. Razlikujemo 4 imunofenotipa temeljena na imunohistokemijskom nalazu receptora za spolne hormone, odnosno izraženosti estrogenskih (engl. *estrogen receptor* – ER) i progesteronskih receptora (engl. *progesteron receptor* – PR), receptora humanog epidermalnog faktora rasta HER2 (engl. *human epidermal growth factor receptor 2* – HER2) i proliferacijskog indeksa Ki 67. Luminalni A imunofenotip je najčešći imunofenotip karcinoma dojke. U ovoj grupi karcinomi dojke imaju visoko pozitivne ER i PR, HER2 receptori su negativni, a proliferacijski indeks Ki 67 je nizak. Čine oko 50% slučajeva invazivnog karcinoma i imaju dobru prognozu. Drugi imunofenotip jest luminalni B karcinom dojke. Ovdje su slabije pozitivni ER i/ili PR, HER2 receptori mogu biti i pozitivni i negativni, pa se prema tome i dijele na HER2 pozitivne luminalne B koji imaju visok Ki 67 proliferacijski indeks te na HER2 negativne luminalne B, čiji je proliferacijski indeks varijabilan. Čine približno 20% invazivnih karcinoma, a prognoza im je lošija od luminalnog A. Treći

imunofenotip jest HER2 pozitivni karcinom dojke. ER i PR su negativni, HER2 receptori su visoko pozitivni, neovisno o statusu proliferacijskog indeksa Ki-67. Čine 15% invazivnih karcinoma i imaju nepovoljnu prognozu. Četvrtu skupinu čini trostruko negativni karcinom dojke (engl. *triple negative breast cancer* – TNBC) gdje su ER, PR i HER2 receptori negativni. Čine oko 10-15% invazivnih karcinoma i prognostički su izrazito nepovoljni (31-34).

Pozitivna osobna i/ili obiteljska anamneza za rak dojke i/ili jajnika u bolesnica s rakom dojke potvrđena je genskom povezanošću, odnosno mutacijama određene skupine gena. Nositelji tih mutacija imaju izrazito uvećan rizik razvoja raka dojke. Kod većine se radi o mutacijama gena s visokom penetracijom, kao što su BRCA1, BRCA2, TP53, PTEN, STK11 i CDH1. Mutacije u genima ATM, BRIP1, CHEK2 i PALPB2 pokazuju umjerenu penetraciju pa nositelji tih mutacija imaju 2-3 puta uvećan rizik razvoja ove maligne bolesti (35,36).

S patološkog gledišta, karcinomi dojke povezani s BRCA1 i BRCA2 mutacijama razlikuju se na morfološkoj i molekularnoj razini. Rak dojke povezan s BRCA1 morfološki je najčešće duktalni invazivni karcinom visokog gradusa koji pokazuje minimalno ili nikakvo stvaranje žlijezdi i tubula, sa značajnim pleomorfizmom jezgara, istaknutim jezgricama i visokom mitotskom aktivnošću. Iz perspektive molekularnog fenotipa, većina karcinoma udruženih s BRCA1 mutacijom spadaju u skupinu trostruko negativnih (28). Ovi karcinomi ponašaju se agresivnije i češće recidiviraju. Osim toga, imaju veću tendenciju zahvaćanja visceralnih organa poput pluća, jetre i mozga, što dovodi do značajno lošijih ishoda, odnosno kraćeg preživljenja u usporedbi s drugim podtipovima (37). S druge pak strane, karcinomi dojke udruženi s BRCA2 mutacijama sličniji su luminalnom podtipu. Morfološki gledano, oni su najčešće invazivni duktalni karcinomi bez posebnih oznaka i različitog gradusa, iako se i lobularni karcinomi češće dovode u vezu s BRCA2 mutacijama. Imunohistokemijski su uglavnom pozitivni na niskomolekularne keratine, estrogenske i progesteronske receptore, i nemaju izraženost HER2 receptora (28).

#### **1.4.2. Rak jajnika, jajovoda i potrbušnice u nositeljica BRCA mutacija**

Globalno je u 2020. zabilježeno skoro 314 tisuća novih slučajeva raka jajnika, a od njega je preminulo 207 tisuća osoba (29). Rak jajnika je najsmrtonosnija ginekološka maligna bolest jer se zbog nespecifične kliničke slike ne prepoznaje do kasnih stadija bolesti (38). U 2020. godini u Hrvatskoj je dijagnosticirano 368 karcinoma jajnika, dok je 316 žena od njega preminulo (30).

Rak jajnika je histološki raznovrstan. Epitelni karcinomi jajnika čine 90% slučajeva.

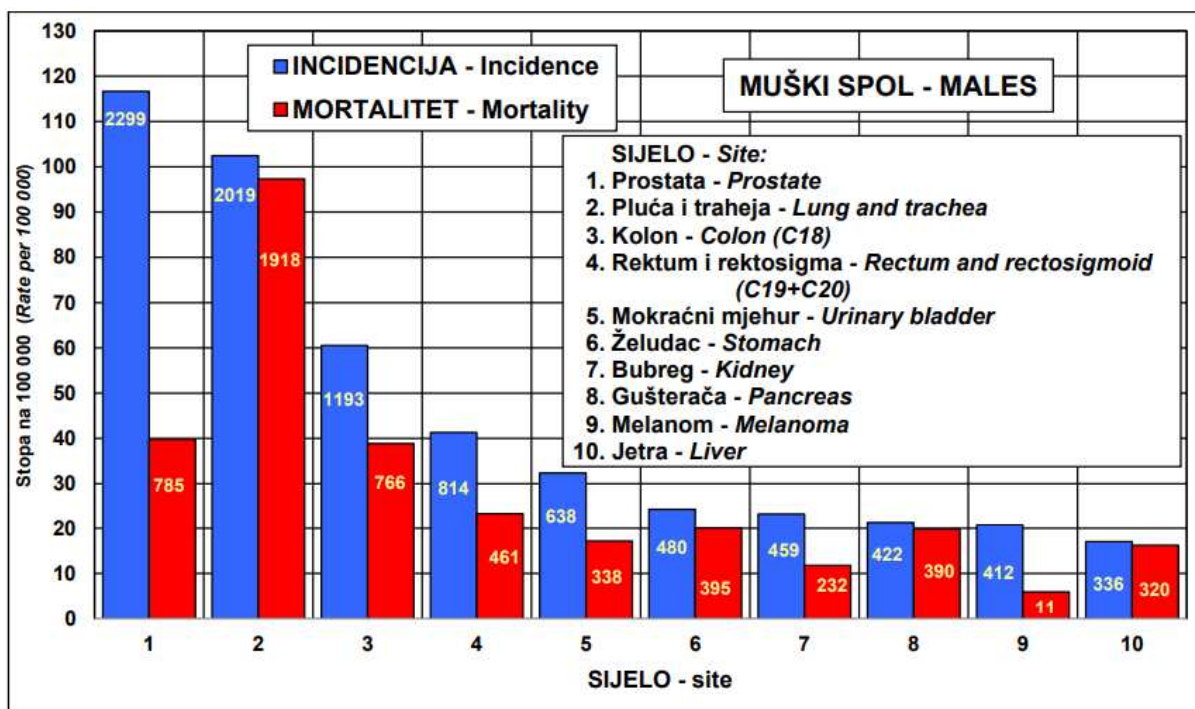


Preostalih 10% potječe iz stanica strome i spolnog tračka, iz zametnih stanica jajnika ili su metastaze u jajnik (38). Po recentnoj klasifikaciji Svjetske Zdravstvene Organizacije iz 2020. godine, izdvojeno je pet temeljnih tipova epitelnog karcinoma jajnika uzimajući u obzir patohistološku sliku, imunološki profil i molekularnu analizu. To su serozni karcinom visokog gradusa (engl. *high grade serous carcinoma* – HGSC) koji čini 70% slučajeva, endometriodni karcinom 10%, svijetlostanični 6-10%, serozni karcinom niskog gradusa (engl. *low grade serous carcinoma* – LGSC) 5% i mucinozni karcinom 3-4% (39). Serozni karcinom jajnika/jajovoda je najčešći, odnosno više od 90% karcinoma jajovoda su serozni ili endometrioidni visokog gradusa (40).

Serozni karcinomi su podijeljeni na HGSC i LGSC. Oni predstavljaju dva sasvim različita tipa tumora, s drugačijom patogenezom, molekularnim profilom, histološkom morfologijom i prognozom. HGSC se u više od 97% slučajeva povezuju s mutacijom tumor supresorskog gena TP53 i defektima homologne rekombinacije u što spadaju mutacije BRCA gena. LGSC su obilježeni BRAF ili KRAS mutacijama. Većina takozvanih HGSC jajnika zapravo potječe iz prekanceroze distalnih krajeva fimbrija jajovoda, odnosno seroznog tubalnog intraepitelnog karcinoma. Nasuprot tome, gotovo svi LGSC nastaju unutar jajnika iz benignih ili borderline tumora (39).

### **1.4.3. Rak prostate u nositelja BRCA mutacija**

U 2020. godini u svijetu je zabilježeno 1,4 milijuna novih slučajeva raka prostate čineći ga drugim najčešćim rakom u muškaraca. Iste godine preminulo je 375 tisuća osoba, što ga stavlja na peto mjesto malignih uzroka smrti u osoba muškog spola. Najviše stope incidencije zabilježene su u sjevernoj i zapadnoj Europi, Karibima, Australiji i Novom Zelandu, Sjevernoj Americi i južnoj Africi, a najniže u sjevernoj Africi i Aziji (29). Prema podacima Hrvatskog registra za rak za 2020. godinu (Slika 2), rak prostate se s 2299 novodijagnosticiranih bolesnika smjestio na prvom mjestu po incidenciji. Iste godine od ove bolesti preminulo je 785 muškaraca što ga pozicionira na drugo mjesto po smrtnosti od malignih bolesti (30).



**Slika 2.** Najčešća sijela raka u Hrvatskoj 2020. godine u osoba muškog spola  
 IZVOR: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske.  
 Incidencija raka u Hrvatskoj 2020., Bilten 45, Zagreb, 2022.

Rak prostate je heterogena bolest s molekularnog, patohistološkog i kliničkog gledišta. Patogene varijante dvaju gena, HOXB13 i BRCA2, dovode se u vezu s peterostrukim povećanjem rizika za nastanak raka prostate, i posljedično do 50% veće vjerojatnosti dobivanja ove bolesti tijekom života. Izgledno je da mutacija BRCA2 predstavlja najčešći uzrok nasljednog raka prostate, a penetrantnost bolesnog fenotipa usporediva je s rizikom razvoja raka dojke u nositeljica BRCA2 patogenih mutacija. Kao što je slučaj i kod raka gušterače, dokazi koji govore u prilog utjecaju BRCA1 mutiranog gena na morbiditet raka prostate su kontroverzni, a povezani rizici su u najvećoj mjeri niskog do umjerenog rizika (41, 42).

#### 1.4.4. Rak gušterače u nositelja/ica BRCA mutacija

U 2020. godini u svijetu je zabilježeno više od 495 tisuća novih slučajeva raka gušterače, dok je od njega umrlo 466 tisuća ljudi. Broj umrlih zamalo premašuje broj novodijagnosticiranih pa je rak gušterače bolest s ekstremno lošom prognozom. Sedmi je po redu uzrok smrti od malignih bolesti u oba spola (29). U Hrvatskoj je u 2020. godini dijagnosticirano 422 novih slučajeva karcinoma pankreasa u muškaraca i 379 u žena, čineći

približno 3% novodijagnosticiranih karcinoma u oba spola. Od ove bolesti je u istoj godini preminulo 390 muškaraca i 382 žene (30).

Na duktalni adenokarcinom gušterače (engl. *pancreatic ductal adenocarcinoma* – PDAC) otpada više od 90% neoplazmi gušterače, a od ostalih tipova ističu se acinarni karcinom i neuroendokrini tumori (43).

Aktivacija onkogeni KRAS uslijed mutacije te inaktivacija tumor-supresorskih gena TP53, CDKN2A i SMAD4 su četiri osnovna genska pokretača kancerogeneze raka gušterače (44). Unatoč tome što većina PDAC nastaje sporadično, otkriveno je nekoliko gena odgovornih za učestalije pojavljivanje raka gušterače kod određenih obitelji. Takvi nasljedni karcinomi čine oko 10% slučajeva raka gušterače. Ističu se zametne mutacije u genima BRCA1, BRCA2, ATM, PALB2, CDKN2A, STK11 i TP53 te u genima za MMR kao što su EPCAM, MLH1, MSH2, MSH6 i PMS2 (45). Ukupno gledano, 25% tumora pankreasa ima neku patogenu mutaciju, od čega se 17% odnosi na gene zadužene za popravak DNA (21). Cjeloživotni rizik razvoja raka gušterače za nositelje BRCA1 mutacija iznosi 1%, a za nositelje BRCA2 mutacija 4,9% (45). Nekoliko kohortnih istraživanja koja su pratila pacijente sa zametnim mutacijama BRCA1, BRCA2, PALB2, CDKN2A i ATM gena su pokazala da se PDAC javlja ranije nego u pacijenata bez tih mutacija (46).

#### **1.4.5. Rak kože i melanom u nositelja/ica BRCA mutacija**

U svijetu je 2020. godine zabilježeno 1,2 milijuna novodijagnosticiranih i 63 tisuće umrlih od nemelanomskog raka kože. Unatoč tome što je iste godine zabilježeno približno četverostruko manje novodijagnosticiranih melanoma kože, 324 tisuće, broj umrlih pacijenata je bio sličan, 57 tisuća (29). U Hrvatskoj je iste godine dijagnosticirano 412 melanoma u muškaraca i 341 u žena, a od njega su umrle 93 žene i 11 muškaraca (30).

Rak kože globalno je jedan od najčešćih zloćudnih tumora, s time da je nemelanomski rak kože (engl. *non-melanoma skin cancer* – NMSC) najčešći rak unutar ove skupine. Iako NMSC ne pridonosi puno ukupnom mortalitetu od raka kože, njegova incidencija raste. Najvažniji NMSC su bazocelularni karcinom koji čini 80-85% slučajeva te planocelularni karcinom na kojeg otpada 15-20% slučajeva (47).

Melanom je maligna bolest kože koja nastaje iz melanocita, smještenih u bazalnom sloju epidermisu, a koje su zadužene za proizvodnju pigmenta melanina (48). Četiri glavna podtipa melanoma kože su površinsko šireći, nodularni, lentigo maligna i akralni lentiginozni melanom. Površinsko šireći melanom čini 70-80% ukupnog broja slučajeva te je najčešće

dijagnosticirani tip melanoma. Na drugom mjestu s učešćem od 15-30% slučajeva je nodularni melanom. Lentigo maligna melanom čini 5-15% slučajeva, dok je na posljednjem mjestu s 2-8% slučajeva akralni lentiginozni melanom, koji se uglavnom javlja u osoba crne rase (49).

Molekularni profil raka, odnosno mjesto mutacije uzrokovane UV zračenjem, znatno se razlikuje među različitim podtipovima melanoma, te utječe na prognozu i odgovor na liječenje. Među redovito mutirane proteine ubrajaju se sastavnice puta MAPK (engl. *mitogen-activated protein kinase*), kao što su BRAF i NRAS koji su važni za stanični rast i diferencijaciju. BRAF mutacija se češće susreće kod mlađih pacijenata s više madeža, nakon dugotrajnog izlaganja suncu te kod površinsko širećeg melanoma. S druge strane, mutacije u onkogenu KIT se ne viđaju kod površinsko širećeg melanoma, nego kod 20% slučajeva akralnog lentiginoznog melanoma i melanoma sluznica (48). Od ukupnog broja melanoma, 5-15% slučajeva uzrokovano je zametnim mutacijama među kojima je najčešća mutacija CDKN2A. Mutacija u tom genu navodi se kao uzrok 22% slučajeva nasljednog melanoma. U melanomu koji se češće javlja unutar određenih obitelji prisutan je cijeli niz mutacija drugih gena poput ACD, CDK4, MC1R, MITF, POT1, TERF2IP, TERT i BAP1 (engl. *BRCA1-Associated Protein 1*) (50, 51). Iako nijedna studija nije pokazala statistički značajnu poveznicu melanoma i BRCA1 mutacije, istraživanja koja su proučavala odnos BRCA2 mutacija i melanoma dala su neusklađene zaključke. Nekoliko studija upućivalo je da bi rizik melanoma kože i oka mogao biti povišen u obiteljima nositeljima BRCA2 mutacija. Druge studije, pak, pokazale su da mutacija nema utjecaja na nastanak bolesti (24,52,53).

### **1.5. Genetičko savjetovanje i genetičko testiranje za žene s rakom dojke i jajnika**

Nasljedni tumorski sindromi u žena, poput nasljednog karcinoma dojke i jajnika koji nastaje zbog mutacija u BRCA genima, obilježeni su cjeloživotnim povišenim rizikom od nastanka raka dojke i ginekoloških karcinoma. Stoga su preventivne mjere neobično važne jer pomažu u redukciji rizika nastanka bolesti, otkrivanju bolesti u najranijem stadiju, prevremenom ciljanom liječenju s poboljšanjem ishoda oboljelih, odnosno smanjenju smrtnosti (26,38).

Genetičko savjetovanje je proces koji se odvija u nekoliko koraka. Cilj je pronalaženje pojedinaca s povećanim rizikom od nasljednih karcinoma, educiranjem tih osoba o vjerojatnosti razvoja bolesti i razumijevanju prenošenja rizika na buduće generacije. Ono je iznimno važno kod karcinoma dojke i jajnika jer pravovremeni pronalazak mutacija može utjecati na mjere prevencije i terapiju, poput ciljanog probira te intervencije smanjenja rizika

(engl. *risk-reducing interventions* – RRI) u koje spadaju farmakološka prevencija i operacije (54). Društvo za ginekološku onkologiju (SGO) preporuča genetsko testiranje i savjetovanje za sve žene koje imaju povećan rizik raka jajnika zbog osobne ili obiteljske anamneze (55). Europsko društvo za medicinsku onkologiju (ESMO) preporuča genetsko testiranje svih žena starijih od 25 godina koje dolaze iz obitelji s prisutnim patogenim BRCA1 ili BRCA2 mutacijama. U slučaju pozitivnog nalaza, upućuju se na genetsko savjetovanje kako bi se planirao probir ili RRI (56). Američko društvo opstetričara i ginekologa (engl. *American College of Obstetricians and Gynaecologists* – ACOG) preporuča genetsko savjetovanje svim ženama s epitelnim rakom jajnika te onima s pozitivnom osobnom ili obiteljskom anamnezom raka dojke ili jajnika. Prema ACOG-u, bilateralna salpingo-ooforektomija (engl. *bilateral salpingo-oophorectomy* – BSO) je jedini zahvat koji smanjuje smrtnost od karcinoma jajnika pa se savjetuje u BRCA1 nositeljica u dobi od 35 do 40 godina te u BRCA2 nositeljica u dobi od 40 do 45 godina. Obostrana salpingektomija predstavlja redukciju rizika za razvoj luminalnih karcinoma dojke s dokazanom BRCA mutacijom te zajedno s obostranom mastektomijom reducira rizik od razvoja raka dojke za više od 90% (38).

U Republici Hrvatskoj, liječnici primarne zdravstvene zaštite i svi specijalisti raznih profila koji se bave bolestima dojke i jajnika su pozvani uputiti pacijente u genetičko savjetovalište, poštujući indikacije navedene prema posljednjim smjernicama iz 2017. godine. Pacijenti se dijele u dvije skupine: na zdrave osobe s povećanim obiteljskim rizikom razvoja raka dojke ili jajnika i na osobe oboljele od raka jajnika i/ili dojke. Savjetovanje se preporuča svim pacijenticama s invazivnim karcinomom jajnika, jajovoda i peritoneuma te pacijenticama s rakom dojke koji je multicentričan ili bilateralan, trostruko negativan s javljanjem prije 60. godine ili ako se općenito rak dojke javi prije 50. godine. Naposljetku, osobe mogu biti upućene na genetičko savjetovanje ako u svojoj obiteljskoj ili osobnoj anamnezi imaju blisku rođakinju koja je oboljela od raka dojke prije 50. godine života, ili blisku rođakinju oboljelu od karcinoma jajnika neovisno o životnoj dobi, ili dva ili više bliskih rođaka oboljelih od raka dojke i/ili gušterače u bilo kojoj životnoj dobi, ili ako u osobnoj ili obiteljskoj anamnezi postoji najmanje tri od drugih malignih bolesti: rak štitnjače, rak maternice, makrocefaliju i/ili tumore kože, rak bubrega, polipe probavnog sustava, rak gušterače, difuzni rak želuca, rak prostate (Gleasonov zbroj jednak ili veći od 7), sarkom, rak nadbubrežne žlijezde i tumore mozga. Genetičko savjetovanje je dobrovoljno, kao i pravo testirane osobe da ostane neinformirana. Glavni cilj savjetovanja jest pružiti korist i smanjiti ili potpuno ukloniti moguće negativne posljedice genetičkih rezultata ispitivanja. U skladu s Europskom konvencijom o ljudskim pravima i biomedicini koju je ratificirala i Hrvatska, adekvatno genetičko savjetovanje mora prethoditi

genetičkom testiranju (57).

Zamjetne BRCA1 i BRCA2 mutacije se dokazuju iz periferne krvi, a somatske mutacije iz uzoraka tumora, najčešće u obliku parafinskih kocaka. Mutacije se konačno potvrđuju sekvenciranjem DNA prema Sangerovoj metodi, gdje se testira pojedinačna genska mutacija prisutna u obitelji te se potom nalaz potvrđuje drugom tehnologijom, te sekvenciranjem DNA druge i treće generacije (engl. *next-generation sequencing* – NGS) što znači masivno paralelno sekvenciranje. NGS omogućava istodobnu obradu velikog broja uzoraka, a rezultati se na koncu obrade bioinformatičkim softverom i usporede sa sekvencama iz baze podataka BRCA1/2.

Postoje tri kategorije interpretacije rezultata, pa nalaz može biti:

1. negativan nalaz, odnosno nije pronađena patogena mutacija;
2. nalaz nejasna kliničkog značenja (neinformativan nalaz), odnosno nađena je mutacija za koju nisu poznate kliničke posljedice;
3. pozitivan nalaz, odnosno pronađena je patogena mutacija.

Nakon objave rezultata genetičkog testiranja procjenjuje se rizik za oboljenje od raka dojke i jajnika. Genetičko savjetovanje slijedi nakon genetičkog testiranja u slučaju pozitivnog i negativnog nalaza, odnosno nalaza nejasnog kliničkog značaja. Na temelju rezultata genetskog testiranja te podataka iz osobne i obiteljske anamneze proizlaze tri stupnja rizika od oboljenja:

1. visoki rizik – cjeloživotni rizik veći od 20% za razvoj raka dojke
2. srednji (intermedijarni) rizik – cjeloživotni rizik je 12 – 20% za razvoj raka dojke;
3. niski rizik – cjeloživotni rizik za oboljenje od raka dojke je manji od 12%, odnosno kao u općoj populaciji.

Pisane upute o preventivnim mjerama i pregledima izdaju se individualno, ovisno o vrsti BRCA mutacije i razini rizika razvoja maligne bolesti. Identifikaciju članova obitelji s povećanim rizikom za nositeljstvo određene mutacije provodi genetičko savjetovanje članova obitelji, uz poštivanje načela dobrovoljnosti (57).

## **1.6. Patološke i kliničke osobitosti raka jajnika, jajovoda i potrbušnice u BRCA mutiranih bolesnica**

Rak jajnika povezan s BRCA mutacijama ima prepoznatljive kliničke i patološke osobine. U usporedbi s rakom jajnika u općoj populaciji, onaj povezan s BRCA mutacijama se

dijagnosticira u ranijoj dobi. Prosječna dob dijagnoze za nositeljice BRCA1 mutacija iznosi 54 godine, a za nositeljice BRCA2 mutacija 59,5 godina. U općoj populaciji rak jajnika se u prosjeku dijagnosticira s 63 godine. Većina BRCA mutiranih karcinom jajnika čini serozni karcinom visokog gradusa (HGSC) (58). HGSC je najčešća varijantu raka jajnika, s učešćem od 70%. Većina pacijentica, oko 80%, se dijagnosticira u uznapredovalom stadiju bolesti, a samo 5% u ranom stadiju kada je bolest ograničena na jajnik/jajovod. HGSC se pri dijagnozi najčešće prezentiraju s obostranim zahvaćanjem jajnika, opsežnom karcinozom i ascitesom. Mikroskopski gledano, ne radi se o homogenom entitetu, nego se razlikuju dva temeljna histološka tipa: klasični tip i SET (engl. *solid, pseudoendometrioid and transitional*) varijanta (39). Soslow i suradnici su pokazali kako se SET oblik HGSC češće veže uz zametne i/ili somatske mutacije u BRCA1 i BRCA2 genima. HGSC udružen s BRCA1 mutacijom ima povećan broj limfocita koji prodiru u tumor (engl. *tumor-infiltrating lymphocytes – TILs*), veći broj mitozu u stanicama, geografski tip nekroze. Tumori s dokazanom BRCA2 mutacijom su također imali značajke SET tipa HGSC ali uz rjeđa područja nekroze i manji broj TILs (59).

Analizom genske ekspresije identificirana su 4 molekularna podtipa HGSC, opisana kao imunoreaktivni, proliferativni, diferencirani i mezenhimalni, a koji rezultiraju različitim kliničkim ishodima. Imunoreaktivni tip HGSC je povezan s BRCA1 mutacijama i većim brojem TILs te ima bolju prognozu (39). HGSC je značajan po tome što mu za metastaziranje nije potreban ni krvotok ni limfni sustav. Širi se *per continuitatem* na okolne organe unutar peritonealne šupljine ili odvajanjem stanica od primarnog tumora i diseminacijom po površini peritonealnog prostora. Nema anatomske strukture unutar peritonealnog prostora koja bi priječila širenje tumoru koji raste na površini jajovoda ili jajnika (60).

U zadnjih par desetljeća sve više dokaza ukazuje na to da rak jajnika povezan s BRCA mutacijama zapravo potječe od epitela jajovoda, a jajnik bude tek sekundarno zahvaćen (61). Primjerice, prevladavajući histopatološki podtip puno više nalikuje epitelu jajovoda nego površinskom epitelu jajnika. Osim toga, patološkim pregledom uzoraka dobivenih profilaktičnom salpingo-ooforektomijom u asimptomatskih BRCA nositeljica uočeni su u velikom broju rani karcinomi u fimbrijama na distalnom kraju jajovoda (58). U otprilike 3-10% nositeljica BRCA1 i BRCA2 mutacija se nakon BSO pronađu okultni karcinomi jajnika i jajovoda (23). Klinička istraživanja i izviješća ukazuju kako pacijentice s BRCA mutiranim rakom jajnika imaju poboljšano ukupno preživljenje u usporedbi s rakom jajnika bez BRCA mutacija. Taj učinak bio je izraženiji u nositeljica BRCA2 mutacija nego u BRCA1. Pokazalo se da preživljenje BRCA1 nositeljica dijelom ovisi o lokaciji mutacije, pa se ono smanjivalo što se mjesto lokacije udaljavalo od 5' kraja, a približavalo 3' kraju BRCA1 gena. Rak jajnika

s BRCA1 mutacijama skloniji je visceralnim metastazama u jetri, plućima, nadbubrežnim žlijezdama, slezeni i mozgu (62-65).

### **1.7. Liječenje bolesnica s BRCA mutiranim karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice**

Rak jajnika/jajovoda/potrbušnice jest najsmrtonosniji zloćudni ginekološki tumor. Veliku važnost zadnjih godina ima BRCA status, odnosno status homologne rekombinacije kako bolesnih žena tako i njihovih srodnika. Za bolesne žene detekcija BRCA mutacije definira način liječenja, a za zdrave nositeljice mogućnost genetičkog savjetovanja vezano za definiranje rizika nastanka bolesti i informiranje o preventivnim postupcima (23).

Unatoč agresivnosti tumora s detektiranom mutacijom BRCA1/2 gena kao i drugih gena koji sudjeluju u procesu homologne rekombinacije, navedene mutacije čine ih osjetljivim na ciljanu terapiju inhibitorima poli ADP riboza polimeraze (engl. *poly ADP ribose polymerase* – PARP) i kemoterapiju temeljenu na platini (66). U meta-analizi Wang i suradnika pacijentice s BRCA mutacijama imale su višu stopu odgovora na kemoterapiju temeljenu na solima platine u usporedbi s ne-nositeljicama. Unatoč tome što su pacijentice iz obe skupine imale jednake stope kirurške citoredukcije, pacijentice nositeljice BRCA mutacija imale su duže ukupno vrijeme preživljenja i duže vrijeme bez napredovanja bolesti (67).

Još od 70-ih godina prošlog stoljeća spojevi platine se koriste u liječenju raka jajnika. Klinička su istraživanja pokazala da, u usporedbi s agensima bez platine, terapija cisplatinom ostvaruje skoro dvostruko dulje ukupno preživljenje i broj potpunih odgovora na terapiju. Karboplatin se bolje podnosi od cisplatina uz jednak učinak. Soli platine stvaraju unakrsne kovalentne veze između purinskih baza DNA, i to unutar lanaca i između lanaca (engl. *interstrand cross-links* – ICLs) molekule. ICLs su izrazito štetne lezije koje narušavaju strukturu dvolančane uzvojnice i popravak DNA. Popravak tih lezija ovisi o proteinima koji djeluju u zajedničkom putu popravka DNA koji uključuje homolognu rekombinaciju. Smatra se da osjetljivost tumora na soli platine, osobito seroznih, visokog gradusa, počiva na defektima HR. Međutim, za razliku od BRCA1 i BRCA2 mutiranoga, rak jajnika s epigenetski utišanim BRCA1 ne pokazuje tako povoljnu osjetljivost što upućuje na to da se različiti mehanizmi nedostatka HR povezuju s različitim kliničkim fenotipima. Pacijentice s BRCA1 ili BRCA2 mutiranim tumorima nakon kemoterapije temeljene na solima platine pokazuju značajno bolji terapijski odgovor i produljeno preživljenje bez progresije bolesti (engl. *progression-free survival* – PFS). Ove pacijentice također imaju dobar odgovor na ponovljenu terapiju platinom nakon povratka bolesti i mnoge od njih prime nekoliko linija kemoterapije platinom (65).



Petogodišnje preživljenje pacijenta s rakom jajnika, neovisno o statusu HR, je loše i iznosi oko 40%. Jedan od važnih razloga jest nastanak rezistencije na kemoterapiju. Iako početni odgovor na kemoterapiju temeljenu na platini iznosi i do 80%, do krajnjeg širenja i smrti dolazi zbog stečene rezistencije. Otpornost malignih stanica jajnika na kemoterapiju prilično je složena i ne može se u potpunosti objasniti samo jednim mehanizmom. U literaturi se kao mogući uzroci spominju višestruka otpornost na lijekove, popravak oštećenja DNA, izmijenjen stanični metabolizam, oksidativni stres, poremećaj regulacije staničnog ciklusa, matične stanice raka, izmijenjen imunološki sustav, apoptotski putevi, autofagija i abnormalni signalni putevi (68). Budući da BRCA1 i BRCA2 proteini osiguravaju genomsku stabilnost stanice popravljajući DSBs mehanizmom HR, pacijenti s mutiranim BRCA genima imaju koristi od ciljane terapije. Naime, u odsutnosti popravka homolognom rekombinacijom (engl. *homologous recombination repair* – HRR), kao što je slučaj s patogenim mutacijama BRCA gena, ali i ostalih gena uključenih u HRR, popravak DSBs ovisi o drugim putevima poput NHEJ i mehanizmima popravka jednolančanih ulomaka DNA. PARP proteini su uključeni u nekoliko od ovih alternativnih puteva popravka. Kad se PARP inhibira, lomovi DNA zaostaju i potencijalno dovode do trajnog oštećenja DNA. Primjenom PARP inhibitora kod BRCA mutiranih tumora dolazi do nakupljanja oštećenja DNA, zaustavljanja staničnog ciklusa i u konačnici do stanične smrti. Ovaj učinak PARP inhibicije u stanicama s deficijencijom homologne rekombinacije (engl. *homologous repair deficiency* – HRD) naziva se sintetska letalnost (engl. *synthetic lethality*). BRCA mutirane tumorske stanice su i do 1000 puta osjetljivije na PARP inhibiciju u odnosu na stanice s BRCAwt. Uz navedeno, PARP mehanizmom BER odnemaže malignim stanicama preživjeti kemoterapiju, stoga stanice s inhibiranim PARP imaju povećanu osjetljivost na neke citotoksične agense. Sintetska letalnost mogla bi se koristiti i kod tumora koji imaju neke zajedničke molekularne značajke s BRCA mutiranim tumorima, odnosno na koje se odnosi pojam "*BRCAness*". U "*BRCAness*" se ubrajaju mutacije i u genima ATM, NBN, PALB2, BARD1, FAM175A, RAD51C, RAD51D, CHEK1, CHEK2, BRIP1 i MRE11A (18,23,69,70).

Neoangiogeneza je proces nastajanja novih krvnih žila i neophodan je za rast i metastaziranje solidnih tumora. Vaskularni endotelni faktor rasta (engl. *vascular endothelial growth factor* – VEGF) se vezuje na endotelne stanice i potiče angiogenezu. VEGF je pojačano izražen u epitelnom raku jajnika što se može iskoristiti u terapijske svrhe. Blokodom signalnog puta VEGFom, reducira se stvaranje novih krvnih žila u tumoru. Bevacizumab je rekombinantno monoklonsko protutijelo usmjereno na VEGF-A koje ga veže i neutralizira i na taj način sprječava aktivaciju VEGF receptora. Američka agencija za hranu i lijekove (engl.

*US Food and Drug Administration* – FDA) je odobrila bevacizumab 2004. godine kao prvi antiangiogeni lijek u liječenju metastatskog karcinoma debelog crijeva. Od tada su se indikacije za njegovu upotrebu proširile na rak jajnika i mnoge druge zloćudne bolesti (71).

Imunoterapija inhibitorima kontrolnih točaka imunološkog sustava se pokazala učinkovitom kod velikog broja zloćudnih tumora i danas ima široku kliničku primjenu. PD-L1 ekspresija u pacijentica s rakom jajnika povezana je s lošijom prognozom i s utišanim upalnim odgovorom u mikrookolišu tumora. Imunoterapija anti-PD-1/PD-L1 protutijelima se temelji na inhibiciji tumorske inhibicije prirodnog imunološkog odgovora, što omogućuje da limfociti T ostanu aktivni i uništavaju maligne stanice. Tumorski mikrookoliš, o kojem ovisi odgovor na imunoterapiju se dijeli na "topli" i na "hladni". "Topli tumori" imaju bolji odgovor na imunoterapiju jer je inicijalno prisutan veći broj funkcionalnih limfocita T. Pembrolizumab i nivolumab u monoterapiji su bili podjednako učinkoviti u malom broju pacijentica s povratkom bolesti. Odgovor na terapiju iznosio je 7-9%. Pridruživanjem imunoterapije drugačijeg mehanizma djelovanja stimulirao se i očekivao veći učinak. Kombinirana terapija s anti-CTLA-4 i anti-PD-1 pružila je veću, ali generalno skromnu učinkovitost u usporedbi s monoterapijom. Opisane su više stope odgovora na terapiju i produljenje PFS (72).

### **1.7.1. Prvolinijsko liječenje**

Odluka o načinu liječenja novodijagnosticirane bolesnice s rakom jajnika/jajovoda i potrbušnice se donosi na multidisciplinarnom timu, a temelji se na stadiju bolesti, statusu homologne rekombinacije i općem stanju pacijentice. Bolest u ranom stadiju ima stopu izliječenja od 90%, no, u većini slučajeva se dijagnosticira u uznapredovalim stadijima gdje unatoč optimalnom liječenju bilježimo loše ishode (73). Pacijentice se u slučaju dobrog općeg stanja i nakon procjene kirurga o operabilnosti, podvrgavaju citoreduktivnom zahvatu. Primarna citoredukcija uključuje laparotomiju, histerektomiju, obostranu salpingo-ooforektomiju, zdjeličnu i para-aortalnu limfadenektomiju, omentektomiju i resekciju svih mogućih vidljivih tumorskih tvorbi u abdomenu i zdjelici uz uzimanje uzorka ascitesa/ispirka za citološku analizu. Cilj zahvata je postizanje R0 resekcije, odnosno izostanak vidljive ostatne bolesti nakon operacije. Kod tumora koji je ocijenjen kao neoperabilan, ordinira se neoadjuvanta kemoterapija kako bi se smanjila tumorska masa i omogućila intervalna citoreduktivna resekcija. Nakon kirurškog zahvata ordinira se adjuvanta kemoterapija temeljena na solima platine i taksanu paklitakselu (FIGO stadij I visokog gradusa, IC neovisno o gradusu, FIGO II-IV). Kod pacijentica s ranim stadijem bolesti (FIGO stadij IA i IB niskog

gradusa) prognoza je vrlo dobra, a adjuvantna kemoterapija ne pruža dodatne koristi i stoga nije indicirana. Kemoterapija se može primijeniti intravenski ili intraperitonealno, ili njihovom kombinacijom. U prvolinijskom liječenju kemoterapiji možemo pridružiti konkomitantno bevacizumab, a potom nastaviti s bevacizumabom u monoterapiji održavanja ako je zaostala velika tumorska masa, odnosno ascites ili ako je bolest inicijalno metastatska (FIGO stadij IV). Ako je dokazana BRCA mutacija, po završenoj kemoterapiji i polučenom odgovoru, ordinira se PARP inhibitor (40,73,74). Europska agencija za lijekove (engl. *European Medicines Agency* – EMA) i FDA odobrili su PARP inhibitore za liječenje HGSC u različitim kliničkim scenarijima:

1. Prvolinijska terapija održavanja za pacijentice koje su imale potpun ili djelomičan odgovor na kemoterapiju temeljenu na platini;
2. Drugolinijska terapija održavanja za platina-osjetljivu relapsnu bolest (neovisno o BRCA mutacijama ili drugim testovima na HRD);
3. Monoterapija za HGSC s dokazanom BRCA mutacijom (olaparib/rukaparib) ili pozitivni test na HRD (niraparib) nakon dvije linije terapije.

FDA je odobrila tri PARP inhibitora za terapiju održavanja raka jajnika: olaparib, niraparib i rukaparib (75). Na temelju rezultata studije faze III, SOLO-1, 2018. odobrena je primjena olapariba u prvolinijskoj terapiji održavanja za pacijentice s BRCA mutacijama. Rezultati triju kliničkih studija faze III (PRIMA, PAOLA-1 i VELIA) koje su proučavale djelovanje PARP inhibitora u terapiji održavanja (monoterapija, združeno s kemoterapijom temeljenoj na platini) za pacijentice i koje su/nisu nositeljice BRCA mutacija su prikazani 2019. godine. Temeljem rezultata navedenih studija, odobren je niraparib u terapiji održavanja neovisno o BRCA statusu, odnosno kombinacija olapariba i bevacizumaba u HRD pozitivnog karcinoma jajnika, uz uvjet da je ostvaren odgovor na kemoterapiju temeljenu na platini (75). FDA je 2020. godine nakon rezultata PRIMA studije odobrila niraparib za terapiju održavanja (70).

Terapija održavanja PARP inhibitorima i bevacizumabom pokazala je znatno dulje PFS u HRD-pozitivnih pacijentica s uznapredovalom bolešću u usporedbi sa samim antiangiogenim lijekom (76, 77). Antiangiogeni lijekovi nisu samo inhibitori neoangiogeneze nego i induktori hipoksije koja dovodi do oštećenja DNA. Otkriveno je da se inhibicijom receptora VEGFR3 i zaustavljanjem ekspresije VEGF-C u raku jajnika može smanjiti ekspresija BRCA1 i BRCA2, što dovodi do veće osjetljivosti na kemoterapiju i PARP inhibitore. Istraživači su otkrili u AVANOVA2 studiji da je PFS u podskupini s kombinacijom nirapariba i bevacizumaba

značajno poboljššan, za skoro 2 puta u usporedbi s niraparibom samim. U podskupini pacijentica bez zametnih BRCA mutacija uočena je dobit, odnosno duži PFS kada se kombinira niraparib i bevacizumab, naspram samog nirapariba (70,78).

### 1.7.2. Liječenje recidiva

Većina pacijentica s uznapredovalim karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice razviti će relaps bolesti, u medijanu od 16-20 mjeseci. Klinički parametar za definiranje odgovora na prvolinijsku kemoterapiju je PFI (engl. *platinum-free interval*) koji predstavlja vrijeme od prestanka kemoterapije temeljene na platini do relapsa ili progresije bolesti. Ako tijekom prvolinijskog liječenja dođe do progresije bolesti (platina-refraktorna bolest) ili se ista dogodi unutar 6 mjeseci od zadnjeg ciklusa kemoterapije (platina-rezistentna bolest), ordinira se druga vrsta kemoterapije koja nije temeljena na platini, poput pegiliranog liposomalnog doksorubicina, topotekana, etopozida i gemcitabina. Ukoliko se povrat bolesti dogodi nakon 6 mjeseci od zadnjeg ciklusa kemoterapije (platina-osjetljiva bolest), repetira se kemoterapija temeljena na platini s bevacizumabom, odnosno PARP inhibitor nakon odgovora na kemoterapiju kod detektirane BRCA mutacije (40,73,74).

ICON4 studija je kod pacijentica s platina-osjetljivim relapsom bolesti pokazala napredak u ukupnom preživljenju i produljenje PFS pri upotrebi kombinirane terapije karboplatina i paklitaksela u usporedbi s monoterapijom karboplatinom. U velikoj CALYPSO studiji s 976 pacijentica uspoređivala se polikemoterapija karboplatinom i liposomalnim doksorubicinom, odnosno karboplatinom i paklitakselom. Kombinacija s liposomalnim doksorubicinom pokazala je statistički dulji PFS, 11,3 naspram 9,4 mjeseci. Nije bilo značajne razlike u ukupnom preživljenju između dvije studijske skupine (40,73).

Pridruživanje bevacizumaba kemoterapiji s karboplatinom i gemcitabinom u studiji OCEANS je dovelo do poboljšanja PFS za 4 mjeseca kod platina-osjetljive bolesti u usporedbi sa samim karboplatinom i gemcitabinom. Međutim, nije bilo značajne razlike u ukupnom preživljenju (40). Istraživanje faze III, GOG-0213, u pacijentica s platina-osjetljivim povratom bolesti pokazalo je poboljšano ukupno preživljenje dodavanjem bevacizumaba standardnoj kemoterapiji (karboplatin i paklitaksel) (79).

FDA je na temelju ENGOT-OV16/NOVA studije odobrila primjenu nirapariba za terapiju održavanja platina-osjetljivog relapsa bolesti (40,70). Na temelju rezultata studije ARIEL3, odobren je rukaparib u istoj indikaciji budući je statistički značajno produljio PFS u usporedbi s placeboom. Razdoblje do progresije bolesti za pacijentice s BRCA mutacijama je

iznosilo 16,6 mjeseci u usporedbi s 5,4 mjeseca za placebo (40,70,80).

FDA je također odobrila olaparib u terapiji održavanja platina-osjetljivog povrata bolesti na temelju istraživanja Studije 19, SOLO2 i OPINION (81). Studija 19 je istraživanje faze II u kojem se uspoređivala terapija održavanja olaparibom kod pacijentica s platina-osjetljivim relapsom bolesti nakon što su primile dvije ili više linija kemoterapije temeljene na platini. Značajno duže PFS uočeno je u skupini s olaparibom u usporedbi s placebom. Olaparib je pokazao najveću korist za pacijentice s detektiranim BRCA mutacijama budući je PFS iznosio 11,2 mjeseci u usporedbi s 4,3 mjeseca u skupini s placebom (82). U studiji faze III SOLO2/ENGOT-Ov21 koja je promatrala učinak olapariba u terapiji održavanja kod pacijentica s platina-osjetljivim relapsom bolesti i dokazanim BRCA mutacijama, pokazano je značajno poboljšanje PFS bez promjene kvalitete života. Osim pojave anemije, nuspojave olapariba su bile blage i lako su se kontrolirale (83). Istraživanje faze IIIb, OPINION, je proučavalo monoterapiju održavanja olaparibom u pacijentica bez zametnih BRCA mutacija s platina-osjetljivim relapsom bolesti, a koje su primile dvije ili više linija kemoterapije temelje na platini. Potvrđena je klinička korist u takvih pacijentica (84).

Pacijentice s platina-rezistentnim relapsom bolesti liječe se monokemoterapijom koja ne sadrži soli platine. U tu svrhu koriste se liposomalni doksorubicin, topotekan, etopozid i gemcitabin. Stope odgovora su niske i iznose oko 10%, s PFS od 3-4 mjeseca i s medijanom preživljenja od 9-12 mjeseci. U AURELIA studiji s platina-rezistentnom bolesti monokemoterapija (tjedni paklitaksel, topotekan, pegilirani doksorubicin) uz bevacizumab je statistički značajno produžio PFS te osigurao bolju kvalitetu života (40,73).

U studiji SOC-1, sekundarna citoredukcija nakon koje je uslijedila kemoterapija je pokazala značajno duži PFS u usporedbi sa samom kematerapijom u pacijentica s platina-osjetljivim relapsom bolesti (85). Rezultati su u skladu s prethodno provedenim istraživanjem faze III, DESKTOP III, gdje je pokazano produženje PFS u skupini podvrgnutoj inicijalnom citoreduktivnom kirurškom zahvatu recidiva s ostvarenom R0 resekcijom (86).

## **2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

Primarni cilj istraživanja jest prikazati mutacijski status BRCA1 i BRCA2 gena i vrste BRCA1 i BRCA2 mutacija u bolesnica sa uznapredovalim, seroznim, visoko-gradusnim karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice, nakon ostvarenog odgovora na kemoterapiju temeljenu na platini koja se ordinirala u prvolinijskom liječenju odnosno u terapiji recidiva. U istraživanju je obrađeno 200 bolesnica sa seroznim, visoko-gradusnim karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice, odnosno testirani su njihovi uzorci krvi i/ili tumora, i to u razdoblju od 01. siječnja 2016. do 31. prosinca 2021. godine na Zavodu za patologiju, sudsku medicinu i citologiju Kliničkog bolničkog centra Split. Prikupljeni su i obrađeni podatci 55 BRCA mutiranih bolesnica dijagnosticiranih, liječenih i praćenih u Klinici za onkologiju i radioterapiju Kliničkog bolničkog centra Split u razdoblju od 19. rujna 2000. do 31. prosinca 2021. godine.

Kliničke osobitosti bolesnica s BRCA mutiranim (BRCAm) karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice uključuju prikaz i analizu različitih demografskih karakteristika bolesnica (dob bolesnica u trenutku dijagnoze raka jajnika, jajovoda i potrbušnice, obiteljsku anamnezu), karakteristike bolesti (primarno sjelo bolesti, histološki podtip, stupanj diferenciranosti tumora, FIGO stadij bolesti), osobitosti onkološkog liječenja i status bolesti na kraju praćenja.

Sekundarni cilj istraživanja uključuje prikaz bolesnica s BRCAm karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice koje su razvile metakrono ili sinkrono druge karcinome tijekom svog života (prikaz vrste mutacije BRCA1 i BRCA2 gena uz vrstu sinkrono i metakrono nastalog karcinoma).

#### HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA je:

Očekuje se da će kliničke osobitosti bolesnica, patohistološke osobitosti tumora, BRCA status i vrste BRCA mutacija, kao i način liječenja oboljelih od BRCAm, seroznog, visoko-gradusnog karcinoma jajnika, jajovoda i potrbušnice biti usporedivi s podacima iz dostupne medicinske literature, respektirajući specifičnosti raznih naroda i rasa.

### **3. ISPITANICE I METODE ISTRAŽIVANJA**



### **3.1. Ispitanice**

U ovom retrospektivnom istraživanju uključeno je 55 bolesnica s BRCAm, uznapredovalim, seroznim, visokogradusnim karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice koje su dijagnosticirane, liječene i praćene na Klinici za onkologiju Kliničkog bolničkog centra Split. Sve bolesnice su prije ili nakon kirurškog liječenja primile kemoterapiju temeljenu na platini i sve ostvarile odgovor na istu (potpuni ili djelomični odgovor). Nakon toga su liječene PARP inhibitorom olaparibom, u terapiji održavanja u prvolinijskom liječenju, odnosno u slučaju povrata bolesti. BRCA mutacijski status, odnosno vrste BRCA mutacija definirane su iz uzoraka krvi i/ili tumora bolesnica u razdoblju od 01. siječnja 2016. do 31. prosinca 2021. godine u Kliničkom zavodu za patologiju, sudsku medicinu i citologiju KBC.

### **3.2. Mjesto studije**

Ova retrospektivna studija je provedena na Klinici za onkologiju i radioterapiju Kliničkog bolničkog centra Split i Kliničkom zavodu za patologiju, sudsku medicinu i citologiju KBC Split uz dopuštenje Etičkog povjerenstva navedene ustanove.

### **3.3. Prikupljeni podatci**

Podatci o demografskim i kliničkim osobitostima ispitanica te patološkim i molekularnim osobinama tumora prikupljeni su, unešeni u bazu podataka i analizirani. Prikupljeni podatci su uključivali osnovne informacije o ispitanicama: dob u trenutku postavljanja dijagnoze karcinoma jajnika te osobnu i obiteljsku anamnezu vezanu za zloćudne bolesti. Prikupljeni su podatci o samom tumoru, odnosno definiralo se primarno sijelo bolesti, stadij bolesti prilikom postavljanja dijagnoze, histološki tip, gradus, BRCA mutacijski status i vrsta BRCAm. Stupnjevanje proširenosti karcinoma jajnika određeno je prema FIGO klasifikaciji.

### **3.4. Etička načela**

Plan ovog istraživanja je u skladu sa Zakonom o zaštiti prava pacijenata (NN169/04, 37/08), Zakonom o provedbi Opće uredbe o zaštiti podataka (NN 42/18) te odredbama Kodeksa liječničke etike i deontologije (NN55/08, 139/15) i pravilima Helsinške deklaracije WMA 1964

- 2013 na koje upućuje Kodeks. Etičko povjerenstvo KBC-a Split je odobrilo istraživanje rješenjem broj 2181-147/01/06/M.S.-22-02.

### **3.5. Opis istraživanja**

Ova retrospektivna studija je provedena analizom podataka prikupljenih iz povijesti bolesti 55 bolesnica s karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice kojima je definiran BRCA mutacijski status i vrsta BRCA mutacija, a dijagnosticirane su, liječene i praćene na Klinici za onkologiju i radioterapiju KBC Split. Po potvrđenoj dijagnozi bolesti sve ispitanice prezentirane su na multidisciplinarnom timu za ginekološke tumore KBC Split gdje se definirala strategija liječenja.

### **3.6. Statistički postupci**

U obradi podataka korištene su metode deskriptivne statistike. Kategorijske varijable su prikazane postotcima. Kontinuirane varijable su prikazane kao medijan i interkvartilni raspon (IQR). Za prikupljanje i obradu podataka koristili smo Excel 2007, Microsoft corp.

## **4. REZULTATI**

U ovom retrospektivnom istraživanju uključeno je 55 bolesnica s karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice kojima je BRCA status definiran u Kliničkom zavodu za patologiju, sudsku medicinu i citologiju KBC Split, a liječene su i praćene u Klinici za onkologiji i radioterapiju Kliničkog bolničkog centra Split u razdoblju od 19. rujna 2000. do 31. prosinca 2021. godine.

Medijan životne dobi bolesnica s BRCAm, seroznim visoko-gradusnim karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice visokog gradusa iznosio je 54 godine. Najmlađa bolesnica imala je 36 godina, a najstarija 76 godina. Udio bolesnica mlađih od 50 godina iznosio je 33%. Medijan životne dobi nositeljica BRCA1 mutacija iznosio je 52 godina (raspon 36-76), a nositeljica BRCA2 mutacija 56 godina (raspon 47-68). Karakteristike dobi bolesnica navedene su u Tablici 1.

**Tablica 1.** Dob bolesnica s BRCAm, seroznim, visoko-gradusnim karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice u trenutku postavljanja dijagnoze bolesti

<b>BRCA mutirane bolesnice</b>		
<b>Dob</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
- < 50 godina	18	32,7
- ≥ 50 godina	37	67,3
<b>BRCA status</b>	<b>Medijan (raspon) godina</b>	
BRCAm	54 (36-76)	
BRCA1m	52 (36-76)	
BRCA2m	56 (47-68)	

Karcinom jajnika, jajovoda i potrbušnice se najčešće dijagnosticirao u FIGO stadiju III i IV (48 bolesnica, 87%). Sve bolesnice su imale patohistološki potvrđen serozni karcinom visokog gradusa (55 bolesnica, 100%). Gledajući primarno sijelo bolesti, prednjačio je jajnik (40 bolesnica, 72,7%), potom jajovod (15 bolesnica, 27,3%), dok ni jedna bolesnica nije dijagnosticirana s primarnim karcinomom potrbušnice. U Tablici 2 prikazane su patohistološke osobitosti BRCAm karcinoma jajnika, jajovoda i potrbušnice.

**Tablica 2.** Osobitosti BRCAm, seroznih, visoko-gradusnih karcinoma jajnika, jajovoda i potrbušnice

	N	%
FIGO stadij*		
- I i II	7	12,7
- III i IV	48	87,3
Primarno sijelo bolesti		
- jajnik	40	72,7
- jajovod	15	27,3
- potrbušnica	0	0

\*FIGO – međunarodno udruženje ginekologa i obstetričara od franc. *Federation Internationale de Gynecologieet d'Obsterique*

U razdoblju od 01. siječnja 2016. do 31. prosinca 2021. godine na Zavodu za patologiju, sudsku medicinu i citologiju KBC Split testirano je 200 uzoraka krvi i/ili tumorskog tkiva bolesnica s uznapredovalim, seroznim, visoko-gradusnim karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice na postojanje BRCA mutacije. Pozitivan BRCA mutacijski status je dokazan u 55 bolesnica, iz čega je razvidno da incidencija BRCA mutacija kod naših bolesnica s područja Dalmacije iznosi 27,5%. Tablica 3 pokazuje odnos broja testiranih i BRCAm bolesnica s karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice u Dalmaciji.

**Tablica 3.** Udio BRCAm bolesnica u Dalmaciji u razdoblju od 01. siječnja 2016. do 31. prosinca 2021.

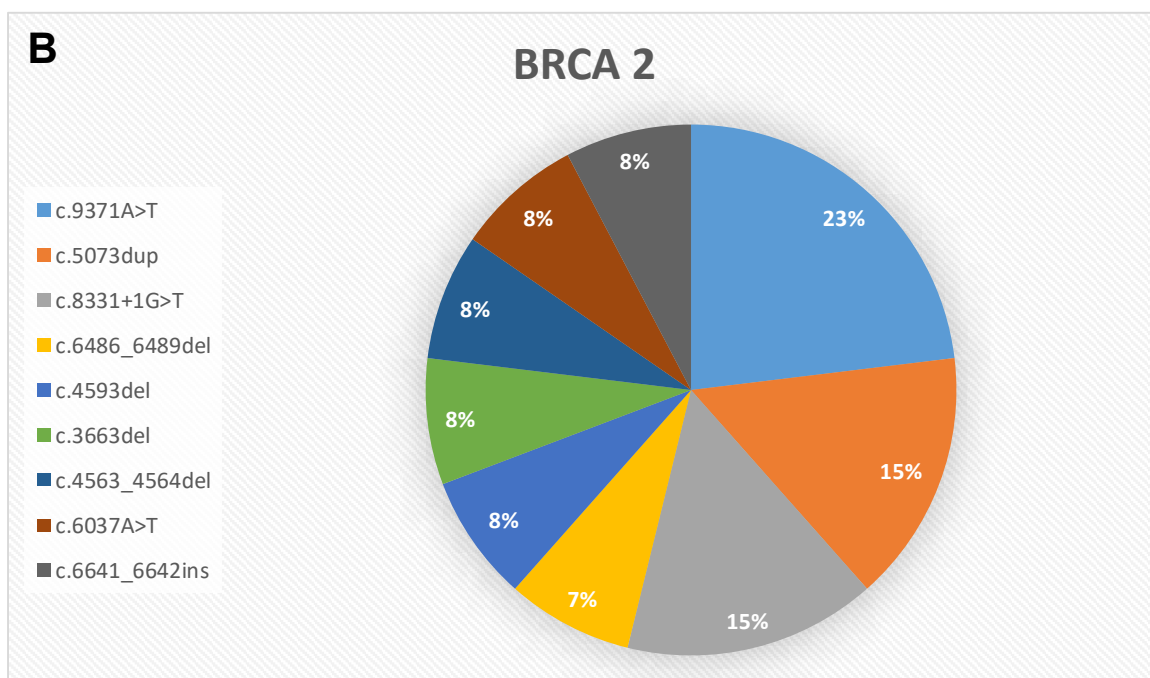
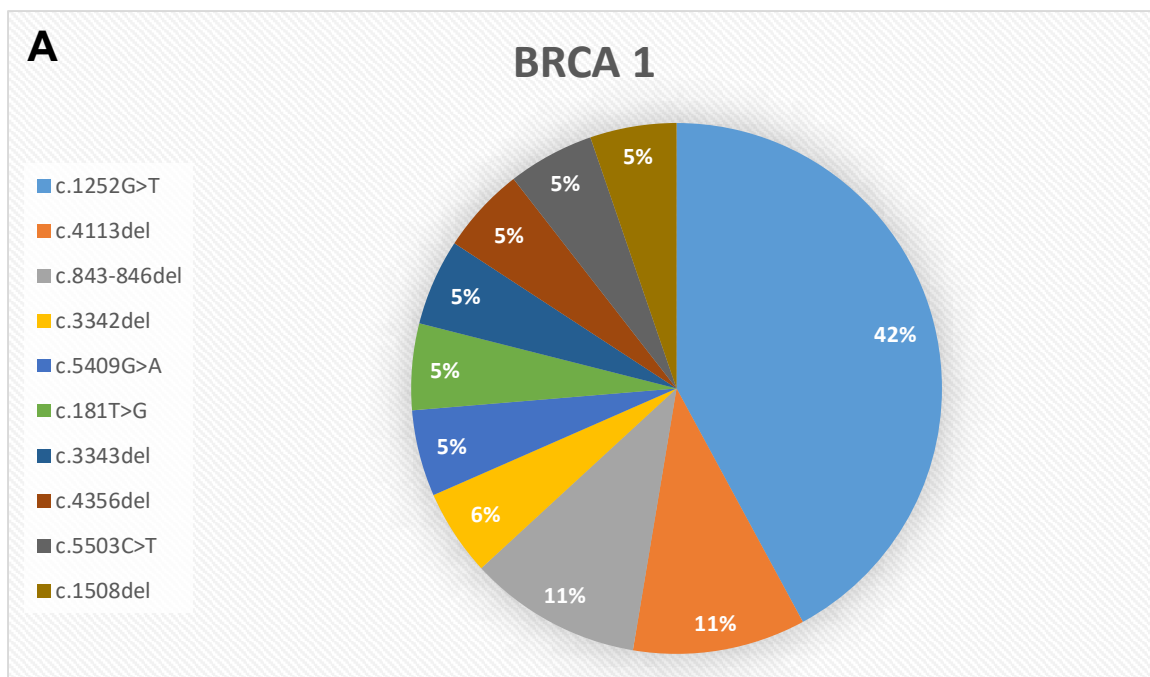
	N	%
Broj testiranih bolesnica s karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice	200	100
Broj BRCAm bolesnica s karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice	55	27,5

U našoj studijskoj populaciji mutacije BRCA1 gena su zastupljenije (37 bolesnica, 67%), od mutacija BRCA2 gena (18 bolesnica, 33%). Pet bolesnica (9%) s definiranom patogenom mutacijom BRCA1 gena je imalo varijantu nesigurnog značenja BRCA2 gena (VUS u BRCA2 genu). Najčešća BRCA1 mutacija prisutna u 18 bolesnica (32,7%) je bila frameshift mutacija c.5266dup (p.Gln1756fs). Slijedeća po učestalosti BRCA1 mutacija, prisutna u 8 bolesnica (14,5%), bila je c.1252G>T (p.Glu418Ter) nonsense mutacija. Dvije najčešće mutacije BRCA2 gena prisutne u našoj studijskoj populaciji bile su c.6641dup (5 bolesnica, 9%) i c.9371A>T (3 bolesnice, 6%).

U Tablici 4 i na Slici 3 su prikazane vrste i udio BRCA1 i BRCA2 mutacija u našoj studijskoj populaciji.

**Tablica 4.** Vrste i udio BRCA1 i BRCA2 mutacija u studijskoj populaciji bolesnica s BRCAm, seroznim, visoko-gradusnim karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice

<b>Gen</b>	<b>Tip mutacije</b>	<b>Broj nositelja</b>	<b>%</b>
<b>BRCA 1</b>		<b>37</b>	<b>67</b>
BRCA1	c.5266dup	18	32,7
BRCA1	c.1252G>T	8	14,5
BRCA1	c.4113del	2	3,6
BRCA1	c.843-846del	2	3,6
BRCA1	c.3342del	1	1,8
BRCA1	c.5409G>A	1	1,8
BRCA1	c.181T>G	1	1,8
BRCA1	c.3343del	1	1,8
BRCA1	c.4356del	1	1,8
BRCA1	c.5503C>T	1	1,8
BRCA1	c.1508del	1	1,8
<b>BRCA 2</b>		<b>18</b>	<b>33</b>
BRCA2	c.6641dup	5	9
BRCA2	c.9371A>T	3	6
BRCA2	c.5073dup	2	3,6
BRCA2	c.8331+1G>T	2	3,6
BRCA2	c.6486_6489del	1	1,8
BRCA2	c.4593del	1	1,8
BRCA2	c.3663del	1	1,8
BRCA2	c.4563_4564del	1	1,8
BRCA2	c.6037A>T	1	1,8
BRCA2	c.6641_6642ins	1	1,8



**Slika 3.** Vrste i udio BRCA1 (A) i BRCA2 mutacija (B) u studijskoj populaciji bolesnica s BRCAm, seroznim, visoko-gradusnim karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice



Gotovo sve bolesnice s BRCAm, seroznim, visoko-gradusnim karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice su imale pozitivnu obiteljsku anamnezu na zloćudne bolesti (80%, 40 bolesnica). U 4 bolesnice status obiteljskog opterećenja na zloćudne bolesti nije bio poznat. Udio srodnika naših bolesnica s pozitivnom obiteljskom anamnezom za rak dojke i jajnika iznosio je 58%. Tablica 5 prikazuje obiteljsko opterećenje zloćudnim bolestima u 55 bolesnica s BRCAm, seroznim, visoko-gradusnim karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice.

**Tablica 5.** Status obiteljskog opterećenja zloćudnim bolestima kod BRCAm bolesnica koje su dijagnosticirane i liječene od seroznog, visoko-gradusnog karcinoma jajnika, jajovoda i potrbušnice u Dalmaciji

<b>Pozitivna obiteljska anamneza</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
- Pozitivna obiteljska anamneza za bilo koji karcinom	44	80
- Negativna obiteljska anamneza za bilo koji karcinom	7	12,7
- Pozitivna obiteljska anamneza za karcinom dojke i jajnika	32	58,2
- Negativna obiteljska anamneza za karcinom dojke i jajnika	12	21,8
- Nepoznat status obiteljskog opterećenja	4	7,3

Bolesnice s BRCAm karcinomom jajnika razvile su tijekom svog života druge zloćudne bolesti, sinkrono ili metakrono. U našoj studijskoj populaciji 20 bolesnica je dijagnosticirano s najmanje još jednom zloćudnom bolesti (36%). Od toga je 14 bolesnica bilo s BRCA1 mutacijom (25%), s 6 bolesnica s BRCA2 mutacijom (11%). Dvije bolesnice s BRCA1 i jedna bolesnica s BRCA2 mutacijom su razvile sinkrono karcinom dojke. Ostalih 17 bolesnica je razvilo metakrono drugi karcinom, najčešće karcinom dojke, i to uglavnom prije dijagnoze karcinoma jajnika, jajovoda i potrbušnice. Ostali metakrono nastali karcinomi bili su iz gastrointestinalnog trakta (rak gušterače, želuca i kolorektuma). Tablica 6 pokazuje pozitivnu osobnu anamnezu u bolesnica s BRCAm karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice.

**Tablica 6.** Prikaz BRCAm bolesnica s rakom jajnika koje su razvile metakrono i sinkrono drugu zloćudnu bolest (N=20, 36%)

<b>Gen</b>	<b>Vrsta BRCA mutacije</b>	<b>Metakrono ili sinkrono nastala zloćudna bolest</b>
BRCA1	c.5266dup	Rak debelog crijeva metakrono
BRCA1	c.1252G>T	Rak dojke metakrono
BRCA1	c.5266dup	Obostrani rak dojke metakrono
BRCA1	c.5409G>A	Rak rektuma metakrono
BRCA1	c.843_846del	Rak dojke sinkrono
BRCA1	c.5266dup	Rak dojke i promijelocitna leukemija metakrono
BRCA1	c.5266dup	Obostrani rak dojke metakrono
BRCA1	c.5266dup	Rak dojke metakrono
BRCA2	c.5073dup	Rak dojke metakrono
BRCA2	c.5073dup	Rak debelog crijeva metakrono
BRCA1	c.5266dup	Rak dojke metakrono
BRCA1	c.5266dup	Sinkroni i metakroni rak dojke (obostrani rak dojke)
BRCA2	c.6641dup	Rak želudca metakrono
BRCA2	c.9371A>T	Rak dojke metakrono
BRCA1	c.1252G>T	Rak dojke metakrono
BRCA1	c.843_846del	Rak dojke metakrono
BRCA2	c.6641dup	Rak dojke sinkrono
BRCA1	c.5503C>T	Obostrani rak dojke metakrono
BRCA2	c.8331+1G>T	Rak gušterače metakrono
BRCA1	c.1508del	Rak dojke metakrono

Sve bolesnice su prezentirane na MDT za ginekološke bolesti radi definiranja načina onkološkog liječenja. Bolesnice s karcinomom jajnika liječene su kirurški primarnom ili intervalnom citoredukcijom uz kemoterapiju temeljenu na platini. Sve bolesnice su imale potvrđen odgovor na kemoterapiju temeljenu na platini (najčešće polikemoterapija s karboplatinom i paklitakselom). U našoj studijskoj populaciji 37 bolesnica (67%) se liječilo ili još uvijek prima PARP inhibitor olaparib, 6 bolesnica u prvolinijskom liječenju, i 31 bolesnica u terapiji održavanja za povrat bolesti. U Tablici 7 prikazan je način onkološkog liječenja bolesnica uključenih u ispitivanje.

**Tablica 7.** Sistemno liječenje BRCAm karcinoma jajnika, jajovoda i potrbušnice

	N (%)
Kemoterapija temeljena na platini u prvolinijskom liječenju	
- da	55 (100)
- ne	0
Terapija održavanja PARP inhibitorom u prvolinijskom liječenju	
	6 (11)
Kemoterapija temeljena na platini kod povrata bolesti	
- da	31 (100)
- ne	0
Terapija održavanja PARP inhibitorom	
	31 (56)
Bez povrata bolesti, u kliničkom praćenju	
	22 (40)

Ishodi na kraju ovog ispitivanja (31. prosinac 2021.) su sljedeći: 1 bolesnica (2%) je izgubljena iz praćenja; 16 bolesnica (29%) je umrlo od zloćudne bolesti, 15 bolesnica zbog recidiva karcinoma jajnika i 1 bolesnica zbog metakrono dijagnosticiranog karcinoma želuca; 16 bolesnica (29%) je živo i liječe se zbog povrata bolesti, a 22 bolesnice (40%) su žive bez znakova bolesti.

## **5. RASPRAVA**

Naše retrospektivno istraživanje je uključilo BRCA testiranje na uzorcima krvi i/ili tkiva tumora kod 200 bolesnica s uznapredovalim seroznim visokogradusnim karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice. Mutacije BRCA1 i/ili BRCA2 gena potvrđene su kod 55 bolesnica koje su po dijagnozi bolesti, liječene i pomno praćene na Klinici za onkologiju Kliničkog bolničkog centra Split. Sve bolesnice s BRCA mutacijama su primile kemoterapiju temeljenu na platini te ostvarile odgovor na istu. Kod povrata bolesti slijedila je terapija održavanja olaparibom, odnosno isti je ordiniran i u prvolinijskom liječenju od trenutka odobrenja za navedenu indikaciju od strane HZZO (svibanj 2021.).

Rak jajnika, jajovoda i potrbušnice predstavlja ozbiljni svjetski javno-zdravstveni problem budući je najagresivniji ginekološki tumor. Prema globalnim podacima, 2020. godine otkriveno je 313 959 novoboljelih, te prijavljeno 207 252 umrlih od ove bolesti (29). U Republici Hrvatskoj rak jajnika se nalazi na osmom mjestu po učestalosti, ali je i dalje vodeći uzrok smrtnosti među ginekološkim tumorima (30).

Zbog nepostojanja programa rane detekcije i zbog nespecifične kliničke slike bolesti, rak jajnika se još uvijek najčešće dijagnosticira u uznapredovalom stadiju. Često recidivira unatoč optimalnom kirurškom liječenju, kemoosjetljivosti tumora te primjeni bevacizumaba u prvolinijskom liječenju i terapiji recidiva (87-89). Zahvaljujući boljem razumijevanju biologije karcinoma jajnika, jajovoda i potrbušnice te definirajući specifične mutacije u službi meta ciljne terapije dogodili su se pomaci u ishodima liječenja. Svjedočimo izvrsnim rezultatima niza kliničkih ispitivanja faze III s PARP inhibitorima u terapiji održavanja nakon odgovora na kemoterapiju temeljenu na platini, bilo u prvolinijskom liječenju ili terapiji recidiva. U populaciji bolesnica kojima je poremećena homologna rekombinacija, osobito kod nositeljica BRCA mutacija, navedeno liječenje je podiglo stopu odgovora, produžilo preživljenje do napredovanja bolesti, a u prvolinijskom liječenju (s ili bez bevacizumaba) rezultiralo statistički značajno produženim ukupnim preživljenjem (90-96).

Vrlo važna osobitost visoko-gradusnih karcinoma jajnika, jajovoda i potrbušnice jest poremećena homologna rekombinacija. Razlog nastalom neredu su mutacije BRCA gena, ali i mutacije drugih, manje penetrantnih gena (CHEC2, PRIP1, BARD1, ATM, RAD51C, RAD51D i PALB2) koji doprinose češćem i ranijem nastanku zloćudnih bolesti, posebno raka dojke i jajnika (97). Prevalencija BRCA mutacija kod seroznog visoko-gradusnog karcinoma jajnika/jajovoda i potrbušnice je relativno visoka i kreće se oko 20% (uključujući zametne i

somatske mutacije BRCA1 i BRCA2 gena) (62). Nositelji/ce BRCA1 i BRCA2 mutacija imaju povećan rizik za razvoj karcinoma jajnika/jajovoda/potrbušnice, kao i za razvoj karcinoma dojke kod žena i muškaraca, bilo unilateralnog ili bilateralnog. Kumulativni 10-godišnji rizik za nastanak kontralateralog raka dojke iznosi 23,8% kod nositelji/ca mutiranog BRCA1 gena te 18,7% kod nositelji/ca mutiranog BRCA2 gena (22).

Incidencija BRCA mutacija u naših bolesnica s područja Dalmacije sa seroznim visoko-gradusnim karcinomom jajnika/jajovoda i potrbušnice iznosila je 27,5%. Rezultati su usporedivi s podacima triju izvješća o BRCA statusu oboljelih od karcinoma jajnika iz Bjelorusije. Ista skupina autora izvještava o 14% incidenciji mutacija BRCA1 gena 2014. godine, odnosno 25,4% incidenciji BRCA1/2 mutacija 2021. godine (98,99). Prije njih, Bogdanova sa suradnicima izvještava o 26% prevalenciji navedenih mutacija za bolesnice iz regije Minska (100). Učestalost BRCA1 mutacija među poljskim bolesnicama je 23,2%, odnosno BRCA2 mutacija od 6% (101). Istraživanje vrste mutacija BRCA1 i BRCA2 gena među slovenskim bolesnicama s karcinomom jajnika i dojke je pokazalo visoku incidenciju od 39%. Temeljem navedenog na nacionalnoj razini je uveden brzi skrining test za definiranje BRCA statusa (102). Studijski rad proveden na 87 bolesnica sa visoko-gradusnim karcinomom jajnika u Tajlandu je pokazalo incidenciju BRCA mutacija sličnu našim rezultatima, od 25,7% (103).

Medijan životne dobi naših bolesnica s BRCAm seroznim, visoko-gradusnim karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice iznosio je 54 godine. Udio bolesnica mlađih od 50 godina iznosio je 33%. Medijan životne dobi nositeljica BRCA1 mutacija iznosio je 52 godine, a nositeljica BRCA2 mutacija 56 godina. Naši rezultati su usporedivi s izvješćima drugih naroda. Na uzorku od 54 uzastopnih neselektiranih bolesnica s karcinomom jajnika iz Bjelorusije, Savanevich sa suradnicima izvještava u većem udjelu BRCA mutiranih bolesnica mlađih od 50 godina (35%) (99). Medijan životne dobi bolesnica s BRCA mutiranim karcinomom jajnika u Poljskoj iznosio je 55,5 godina (104).

U našoj studijskoj populaciji bolest se najčešće dijagnosticirala u uznapređovalom stadiju, i gledajući primarno sjelo prednjačio je jajnik (72,7%). Niti jedna bolesnica nije imala dijagnosticiran primarni karcinom potrbušnice. Veliki udio bolesnih žena je imao pozitivnu obiteljsku anamnezu na zloćudne bolesti (80%, 40 bolesnica). Udio srodnika naših bolesnica s pozitivnom obiteljskom anamnezom za rak dojke i jajnika iznosio je 58%. Prema istraživanjima u Bjelorusiji, 34,8% bolesnica je imalo pozitivnu obiteljsku anamnezu, s tim da je 50,9% srodnika preboljelo karcinom dojke ili jajnika (99). Slične podatke o obiteljskom

opterećenju nalazimo kod niza izvješća drugih naroda (97,99,101,102,104-106). Interesantna je relativno niska incidencija pozitivne obiteljske anamneze među bolesnicama s BRCA mutiranim nasljednim karcinomom dojke i jajnika u Litvi. Više od 70% bolesnih s rakom dojke i više od 85% bolesnih s rakom jajnika nije imalo/prijavilo prvog ili drugog srodnika s karcinomom dojke i jajnika (107).

Kod naših bolesnica s rakom jajnika mutacije BRCA1 gena su zastupljenije (37 bolesnica, 67%), od mutacija BRCA2 gena (18 bolesnica, 33%). Pet bolesnica (9%) s definiranom patogenom mutacijom BRCA1 gena je imalo varijantu nesigurnog značenja BRCA2 gena. Najčešća mutacija BRCA1 gena u našoj studijskoj populaciji je frameshift mutacija c.5266dup (p.Gln1756fs) detektirana u 18 bolesnica (32,7%), dok je najčešća mutacija BRCA2 gena c.6641dup potvrđena kod 5 bolesnica (9%). Iako istraživanje s Tajlanda nije analiziralo vrste BRCA mutacija, ono je potvrdilo veću pojavnost zametnih BRCA1 mutacija (16,1%) naspram BRCA2 mutacija (5,7%) (103). Velika talijanska analiza oboljelih od nasljednog karcinoma dojke i jajnika potvrdila je prevagu BRCA1 mutacija (27,8%), u odnosu na BRCA2 mutacije (6,3%), odnosno mutacije oba gena kod iste bolesnice (2,7%). Ova retrospektivna analiza nije definirala vrste BRCA mutacija (97). BRCA1m, c.5266dup, je najčešća BRCA mutacija kod slavenskih naroda (99,101,102,104-106). U Bjelorusiji je učešće navedene mutacije među svim BRCA1 mutacijama od 49-60% (99). U Poljskoj je ona također najčešća BRCA1 mutacija, s učešćem od 6% (104). Istraživanje BRCA statusa kod bolesnica u Češkoj Republici je pokazalo veću pojavnost BRCA1 mutacije (21%), naspram BRCA2 mutacije (6%). Na uzorku od 151 bolesnice s rakom dojke ili jajnika, najveću incidenciju imala BRCA1m, c.5266dup, s učešćem od 51,4% (101). Jedna od tri najčešće BRCA1 mutacije kod slovenskih bolesnica s karcinomom dojke i jajnika je c.5266dup (102). Mutacija BRCA1 gena, c.5266dup je druga po učestalosti među Askenaži Židovima (108). Meta analiza provedena na 11 studija iz Maroka, 5 studija iz Alžira i 9 studija iz Tunisa je pokazala da je c.5266dup treća po učestalosti BRCA1m u bolesnica s rakom dojke i jajnika, s učešćem od 8,5% (109). Potvrda jakoj heterogenosti BRCA mutacija vidi se po različitim vrstama BRCA mutacija koje imaju različitu pojavnost u populacijama s različitim geografskih regija, a osobito u različitim etničkim skupinama i rasama. Izvješća iz Maroka, Saudijske Arabije, Libanona, Jordana, Vijetnama, Koreje i Indije pokazuju drugačiju učestalost i vrste BRCA mutacija u oboljelih od karcinoma jajnika (110-116).

Bolesnice s BRCA mutiranim karcinomom jajnika razvijaju tijekom svog života druge zloćudne bolesti, sinkrono ili metakrono. U našoj studijskoj populaciji 20 bolesnica je dijagnosticirano s najmanje još jednom zloćudnom bolesti (36%). Među njima je 14 bolesnica

imalo dokazanu BRCA1 mutaciju (25%), s 6 bolesnica BRCA2 mutaciju (11%). Sedamnaest bolesnica je razvilo metakrono drugi karcinom, najčešće karcinom dojke, i to uglavnom prije dijagnoze karcinoma jajnika. Ostali metakrono nastali karcinomi bili su iz gastrointestinalnog trakta (karcinom gušterače, želudca i kolorektuma). Velika populacijska analiza na preko 15000 bolesnica s rakom dojke liječenih ipsilateralnom kirurgijom je pokazala povišen rizik za nastanak kontralateralnog karcinoma dojke kod nositeljica mutacija BRCA1, BRCA2 i CHEK2 gena, odnosno PALB2 gena. Među premenopausalnim ženama, 10-godišnja incidencija kontralateralnog karcinoma dojke znosi 33% za nositeljice mutacije BRCA1 gena, 27% na nositeljice mutacije BRCA2 gena, 13% za nositeljice mutacije CHEK2 gena te 35% za nositeljice mutacije PALB2 gena. U postmenopausalnih bolesnica navedena incidencija je manja i iznosi 12% za nositeljice mutacije BRCA1 gena, 9% za nositeljice mutacija BRCA2 gena te 4% za nositeljice mutacije CHEK2 gena (117). Više studijskih izvješća potvrđuje do 10% veći rizik nastanka obostranog karcinoma dojke kod nositeljica BRCA1 mutacije, i to kod c.5266dup, u odnosu na nositeljice drugih BRCA mutacija (101,102,104,105).

Ograničenje ove studije jest retrospektivni dizajn, relativno mali broj bolesnica te uključenost samo jednog kliničkog bolničkog centra u Republici Hrvatskoj. Snaga naše studije leži u činjenici da se po prvi puta do sada prezentira spektar, odnosno vrste mutacija BRCA1 i BRCA2 kod bolesnica sa seroznim visoko-gradusnim karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnica s područja Dalmacije, odnosno južne Hrvatske.

Obzirom na visoku pojavnost BRCA mutacija u bolesnica sa seroznim visoko-gradusnim karcinomom jajnika te poboljšanje ishoda ciljanom terapijom, danas se u praksi provodi testiranje bolesnih. Putem genskog savjetovanja sugerira se testiranje srodnika oboljelih s ciljem detekcije nositelja mutacija BRCA gena (i mutacija drugih gena koji podižu rizik razvoja karcinoma jajnika, jajovoda i potrbušnice), a kojima preventivni kirurški zahvati mogu smanjiti incidenciju i smrtnosti od raka jajnika. Drugim riječima, ovakva izvješća i analize su važna i dobrodošla jer naglašavaju potrebu i važnost genetičkih savjetovanja i testiranja, osmišljene programe probira te kroz multidisciplinarnost pravovremenu personalizaciju u liječenju oboljelih.



## **6. ZAKLJUČCI**

- Medijan životne dobi bolesnica sa seroznim, BRCAm, visoko-gradusnim karcinomom jajnika, jajovoda i potrbušnice je iznosio 54 godine. Najmlađa bolesnica imala je 36 godina, a najstarija 76 godina. Udio bolesnica mlađih od 50 godina iznosio je 33%. Medijan životne dobi nositeljica BRCA1 mutacija iznosio je 52 godina (raspon 36-76), a nositeljica BRCA2 mutacija 56 godina (raspon 47-68).
- Karcinom jajnika, jajovoda i potrbušnice se najčešće dijagnosticiran u FIGO stadiju III i IV (48 bolesnica, 87%). Sve bolesnice su imale patohistološki potvrđen serozni karcinom visokog gradusa (55 bolesnica, 100%). Gledajući primarno sijelo bolesti, prednjačio je jajnik (40 bolesnica, 72,7%), potom jajovod (15 bolesnica, 27,3%), dok ni jedna bolesnica nije imala dijagnosticiran primarni karcinom potrbušnice.
- Sve bolesnice su prezentirane na MDT za ginekološke bolesti radi definiranja načina onkološkog liječenja. Bolesnice s karcinomom jajnika liječene su kirurški primarnom ili intervalnom citoredukcijom uz kemoterapiju temeljenu na platini. Sve bolesnice su imale potvrđen odgovor na kemoterapiju temeljenu na platini (najčešće polikemoterapija s karboplatinom i paklitakselom). U našoj studijskoj populaciji 37 bolesnica (67%) se liječilo ili još uvijek prima PARP inhibitor olaparib, 6 bolesnica u prvolinijskom liječenju i 31 bolesnica u terapiji održavanja za povrat bolesti.
- Gotovo sve bolesnice s BRCA mutiranim seroznim karcinomom visokog gradusa jajnika, jajovoda i potrbušnice su imale pozitivnu obiteljsku anamnezu na zloćudne bolesti (80%, 40 bolesnica). U 4 bolesnice status obiteljskog opterećenja na zloćudne bolesti nije bio poznat. Udio srodnika naših bolesnica s pozitivnom obiteljskom anamnezom za rak dojke i jajnika iznosio je 58%.
- Od 200 testiranih bolesnica sa seroznim visokogradusnim karcinomom jajnika/jajovoda, BRCA mutacije se detektirane kod 55 bolesnica (27,5%).
- U našoj studijskoj populaciji mutacije BRCA1 gena su zastupljenije (37 bolesnica, 67%) u usporedbi s mutacijama BRCA2 gena (18 bolesnica, 33%). Najčešća BRCA1 mutacija prisutna u 18 bolesnica (32,7%) je bila frameshift mutacija c.5266dup (p.Gln1756fs). Ta je mutacija najčešća u slavenskih naroda. Slijedeća po učestalosti BRCA1 mutacija, prisutna u 8 bolesnica (14,5%) bila je nonsense c.1252G>T (p.Glu418Ter) mutacija. Dvije najčešće mutacije BRCA2 gena prisutne u našoj

studijskoj populaciji bile su c.6641dup (5 bolesnica, 9%) i c.9371A>T (3 bolesnice, 6%).

- Bolesnice s BRCA mutiranim karcinomom jajnika razvile su tijekom svog života druge zloćudne bolesti, sinkrono ili metakrono. Dvadeset bolesnica je dijagnosticirano s najmanje još jednom zloćudnom bolesti (36%). Od toga je 14 bolesnica bilo s BRCA1m (25%), s 6 bolesnica BRCA2m (11%). Dvije bolesnice s BRCA1 i jedna bolesnica s BRCA2 mutacijom su razvile sinkrono karcinom dojke. Ostalih 17 bolesnica je razvilo metakrono drugi karcinom, najčešće karcinom dojke, i to uglavnom prije dijagnoze karcinoma jajnika, jajovoda i potrbušnice. Ostali metakrono nastali karcinomi bili su iz gastrointestinalnog trakta (rak gušterače, želuca i kolorektuma).
- U zaključku, kliničke osobitosti bolesnica s BRCAm karcinom jajnika/jajovoda i potrbušnice su usporedive s podacima brojnih studija objavljenih u dostupnoj svjetskoj medicinskoj literaturi, respektirajući specifičnost različitih naroda i rasa. Ovakva izvješća i analize su važna i dobrodošla jer naglašavaju potrebu i važnost genetičkih savjetovanja i testiranja, osmišljene programe probira te kroz multidisciplinarnost pravovremenu personalizaciju u liječenju oboljelih.

## **7. LITERATURA**

1. Carusillo A, Mussolino C. DNA Damage: From threat to treatment. *Cells*. 2020;9:1665.
2. National Center for Biotechnology Information [Internet]. Bethesda, Maryland: NCBI; 2022. Biochemistry, DNA Structure [citirano 12. ožujka 2023.]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538241/>
3. Ekundayo B, Bleichert F. Origins of DNA replication. *PLoS Genet*. 2019;15:e1008320.
4. Chatterjee N, Walker GC. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environ Mol Mutagen*. 2017;58:235-63.
5. Huang R, Zhou PK. DNA damage repair: historical perspectives, mechanistic pathways and clinical translation for targeted cancer therapy. *Signal Transduct Target Ther*. 2021;6:254.
6. Reisländer T, Groelly FJ, Tarsounas M. DNA damage and cancer immunotherapy: A sting in the tale. *Mol Cell*. 2020;80:21-8.
7. Shi C, Qin K, Lin A, Jiang A, Cheng Q, Liu Z i sur. The role of DNA damage repair (DDR) system in response to immune checkpoint inhibitor (ICI) therapy. *J Exp Clin Cancer Res*. 2022;41:268.
8. Liu Y, Lu LY. BRCA1 and homologous recombination: implications from mouse embryonic development. *Cell Biosci*. 2020;10:49.
9. Varol U, Kucukzeybek Y, Alacacioglu A, Somali I, Altun Z, Aktas S i sur. BRCA genes: BRCA 1 and BRCA 2. *J BUON*. 2018;23:862-6.
10. Venkitaraman AR. How do mutations affecting the breast cancer genes BRCA1 and BRCA2 cause cancer susceptibility? *DNA Repair*. 2019;81:102668.
11. Hawsawi YM, Al-Numair NS, Sobahy TM, Al-Ajmi AM, Al-Harbi RM, Baghdadi MA i sur. The role of BRCA1/2 in hereditary and familial breast and ovarian cancers. *Mol Genet Genomic Med*. 2019;7:e879.
12. Fu X, Tan W, Song Q, Pei H, Li J. BRCA1 and breast cancer: Molecular mechanisms and therapeutic strategies. *Front Cell Dev Biol*. 2022;10:813457.
13. Xie C, Luo J, He Y, Jiang L, Zhong L, Shi Y. BRCA2 gene mutation in cancer. *Medicine*. 2022;101:e31705.
14. Hopkins JL, Lan L, Zou L. DNA repair defects in cancer and therapeutic opportunities. *Genes Dev*. 2022;36:278-93.

15. Park SY, Kim Y, Kim S, Katapodi MC. Informational needs of individuals from families harboring BRCA pathogenic variants: A systematic review and content analysis. *Genet Med.* 2023;25:100001.
16. Makhnoon S, Arun B, Bedrosian I. Helping patients understand and cope with BRCA mutations. *Curr Oncol Rep.* 2022;24:733-40.
17. Anczuków O, Ware MD, Buisson M, Zetoune AB, Stoppa-Lyonnet D, Sinilnikova OM i sur. Does the nonsense-mediated mRNA decay mechanism prevent the synthesis of truncated BRCA1, CHK2, and p53 proteins? *Hum Mutat.* 2008;29:65-73.
18. Boussios S, Rassy E, Moschetta M, Ghose A, Adeleke S, Sanchez E i sur. BRCA mutations in ovarian and prostate cancer: Bench to bedside. *Cancers.* 2022;14:3888.
19. Lei H, Zhang M, Zhang L, Hemminki K, Wang XJ, Chen T. Overview on population screening for carriers with germline BRCA mutation in China. *Front Oncol.* 2022;12:1002360.
20. Hatano Y, Tamada M, Matsuo M, Hara A. Molecular trajectory of BRCA1 and BRCA2 mutations. *Front Oncol.* 2020;10:361.
21. Grzelak D. Treatment Options for Germline BRCA-Mutated Metastatic Pancreatic Adenocarcinoma. *J Adv Pract Oncol.* 2021;12:488-91.
22. Yoshida R. Hereditary breast and ovarian cancer (HBOC): review of its molecular characteristics, screening, treatment, and prognosis. *Breast Cancer.* 2021;28:1167-80.
23. Sánchez-Lorenzo L, Salas-Benito D, Villamayor J, Patiño-García A, González-Martín A. The BRCA gene in epithelial ovarian cancer. *Cancers.* 2022;14:1235.
24. Sekine M, Nishino K, Enomoto T. Differences in ovarian and other cancers risks by population and *BRCA* mutation location. *Genes.* 2021;12:1050.
25. Riis ML. Management of patients with BRCA mutation from the point of view of a breast surgeon. *Ann Med Surg.* 2021;65:102311.
26. Conte C, Pelligra S, Sarpietro G, Montana GD, Della Corte L, Bifulco G i sur. Hereditary women's cancer: management and risk-reducing surgery. *Medicina.* 2023;59:300.
27. Maccaroni E, Giampieri R, Lenci E, Scortichini L, Bianchi F, Belvederesi L i sur. BRCA mutations and gastrointestinal cancers: When to expect the unexpected? *World J Clin Oncol.* 2021;12:565-80.
28. Hodgson A, Turashvili G. Pathology of hereditary breast and ovarian cancer. *Front Oncol.* 2020;10:531790.

29. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71:209-49.
30. Hrvatski zavod za javno zdravstvo [Internet]. Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo; 2022. Bilten Incidencija raka u Hrvatskoj 2020. godine [citirano 09. travnja 2023]. Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/aktualnosti/bilten-incidencija-raka-u-hrvatskoj-2020-godine/>
31. Makki J. Diversity of breast carcinoma: Histological subtypes and clinical relevance. *Clin Med Insights Pathol.* 2015;8:23-31.
32. Smolarz B, Nowak AZ, Romanowicz H. Breast cancer-epidemiology, classification, pathogenesis and treatment (review of literature). *Cancers.* 2022;14:2569.
33. Eliyatkin N, Yalçın E, Zengel B, Aktaş S, Vardar E. Molecular classification of breast carcinoma: From traditional, old-fashioned way to a new age, and a new way. *J Breast Health.* 2015;11:59-66.
34. Teng NMY, Price CA, McKee AM, Hall LJ, Robinson SD. Exploring the impact of gut microbiota and diet on breast cancer risk and progression. *Int J Cancer.* 2021;149:494-504.
35. Shiovitz S, Korde LA. Genetics of breast cancer: a topic in evolution. *Ann Oncol.* 2015;26:1291-9.
36. Chamseddine RS, Wang C, Yin K, Wang J, Singh P, Zhou J i sur. Penetrance of male breast cancer susceptibility genes: a systematic review. *Breast Cancer Res. Treat.* 2022;191:31–8.
37. Gupta RK, Roy AM, Gupta A, Takabe K, Dhakal A, Opyrchal M i sur. Systemic therapy de-escalation in early-stage triple-negative breast cancer: Dawn of a new era? *Cancers.* 2022;14:1856.
38. Ghose A, Bolina A, Mahajan I, Raza SA, Clarke M, Pal A i sur. Hereditary ovarian cancer: Towards a cost-effective prevention strategy. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19:12057.
39. De Leo A, Santini D, Ceccarelli C, Santandrea G, Palicelli A, Acquaviva G i sur. What is new on ovarian carcinoma: Integrated morphologic and molecular analysis following the new 2020 World Health Organization classification of female genital tumors. *Diagnostics.* 2021;11:697.
40. Berek JS, Renz M, Kehoe S, Kumar L, Friedlander M. Cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum: 2021 update. *Int J Gynaecol Obstet.* 2021;155:61-85.

41. Haffner MC, Zwart W, Roudier MP, True LD, Nelson WG, Epstein J i sur. Genomic and phenotypic heterogeneity in prostate cancer. *Nat Rev Urol.* 2021;18:79-92.
42. Imyanitov EN, Kuligina ES, Sokolenko AP, Suspitsin EN, Yanus GA, Iyevleva AG i sur. Hereditary cancer syndromes. *World J Clin Oncol.* 2023;14:40-68.
43. Park W, Chawla A, O'Reilly EM. Pancreatic cancer: A review. *JAMA.* 2021;326:851-62.
44. Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Cell.* 2017;32:185-203.e13.
45. Kasuga A, Okamoto T, Udagawa S, Mori C, Mie T, Furukawa T i sur. Molecular features and clinical management of hereditary pancreatic cancer syndromes and familial pancreatic cancer. *Int J Mol Sci.* 2022;23:1205.
46. Rosen MN, Goodwin RA, Vickers MM. *BRCA* mutated pancreatic cancer: A change is coming. *World J Gastroenterol.* 2021;27:1943-58.
47. Zambrano-Román M, Padilla-Gutiérrez JR, Valle Y, Muñoz-Valle JF, Valdés-Alvarado E. Non-melanoma skin cancer: A genetic update and future perspectives. *Cancers.* 2022;14:2371.
48. Saginala K, Barsouk A, Aluru JS, Rawla P, Barsouk A. Epidemiology of Melanoma. *Med Sci.* 2021;9:63.
49. Lopes J, Rodrigues CMP, Gaspar MM, Reis CP. Melanoma management: From epidemiology to treatment and latest advances. *Cancers.* 2022;14:4652.
50. Zocchi L, Lontano A, Merli M, Dika E, Nagore E, Quaglino P i sur. Familial melanoma and susceptibility genes: A review of the most common clinical and dermoscopic phenotypic aspect, associated malignancies and practical tips for management. *J Clin Med.* 2021;10:3760.
51. Toussi A, Mans N, Welborn J, Kiuru M. Germline mutations predisposing to melanoma. *J Cutan Pathol.* 2020;47:606-16.
52. Gumaste PV, Penn LA, Cymerman RM, Kirchhoff T, Polsky D, McLellan B. Skin cancer risk in *BRCA1/2* mutation carriers. *Br J Dermatol.* 2015;172:1498-1506.
53. Lee YC, Lee YL, Li CY. *BRCA* genes and related cancers: A meta-analysis from epidemiological cohort studies. *Medicina.* 2021;57:905.
54. Kurian AW, Ward KC, Howlader N, Deapen D, Hamilton AS, Mariotto A i sur. Genetic testing and results in a population-based cohort of breast cancer patients and ovarian cancer patients. *J Clin Oncol.* 2019;37:1305-15.



55. Lancaster JM, Powell CB, Chen LM, Richardson DL; SGO Clinical Practice Committee. Society of Gynecologic Oncology statement on risk assessment for inherited gynecologic cancer predispositions. *Gynecol Oncol.* 2015;136:3-7.
56. Paluch-Shimon S, Cardoso F, Sessa C, Balmana J, Cardoso MJ, Gilbert F; ESMO Guidelines Committee. Prevention and screening in BRCA mutation carriers and other breast/ovarian hereditary cancer syndromes: ESMO Clinical Practice Guidelines for cancer prevention and screening. *Ann Oncol.* 2016;27:v103-v110.
57. Borovečki A, Braš M, Brkljačić B, Canki-Klain N, Dedić Plavetić N, Grahovac B i sur. Smjernice za genetičko savjetovanje i testiranje na nasljedni rak dojke i jajnika. *Liječnički vjesnik.* 2017;139:110-7.
58. Clarfield L, Diamond L, Jacobson M. Risk-reducing options for high-grade serous gynecologic malignancy in BRCA1/2. *Curr Oncol.* 2022;29:2132-40.
59. Soslow RA, Han G, Park KJ, Garg K, Olvera N, Spriggs DR i sur. Morphologic patterns associated with BRCA1 and BRCA2 genotype in ovarian carcinoma. *Mod Pathol.* 2012;25:625-36.
60. Lisio MA, Fu L, Goyeneche A, Gao ZH, Telleria C. High-grade serous ovarian cancer: Basic sciences, clinical and therapeutic standpoints. *Int J Mol Sci.* 2019;20:952.
61. Shih IM, Wang Y, Wang TL. The origin of ovarian cancer species and precancerous landscape. *Am. J. Pathol.* 2021;191:26–39.
62. Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature.* 2011;474:609-15.
63. Bolton KL, Chenevix-Trench G, Goh C, Sadetzki S, Ramus SJ, Karlan BY i sur. Cancer Genome Atlas Research Network. Association between BRCA1 and BRCA2 mutations and survival in women with invasive epithelial ovarian cancer. *JAMA.* 2012;307:382-90.
64. Boyd J, Sonoda Y, Federici MG, Bogomolny F, Rhei E, Maresco DL i sur. Clinicopathologic features of BRCA-linked and sporadic ovarian cancer. *JAMA.* 2000;283:2260-5.
65. Konstantinopoulos PA, Ceccaldi R, Shapiro GI, D'Andrea AD. Homologous recombination deficiency: Exploiting the fundamental vulnerability of ovarian cancer. *Cancer Discov.* 2015;5:1137-54.
66. Loboda AP, Adonin LS, Zvereva SD, Guschin DY, Korneenko TV, Telegina AV i sur. BRCA mutations-the achilles heel of breast, ovarian and other epithelial cancers. *Int J Mol Sci.* 2023;24:4982.

67. Wang Y, Li N, Ren Y, Zhao J. Association of BRCA1/2 mutations with prognosis and surgical cytoreduction outcomes in ovarian cancer patients: An updated meta-analysis. *J Obstet Gynaecol Res.* 2022;48:2270-84.
68. Yang L, Xie HJ, Li YY, Wang X, Liu XX, Mai J. Molecular mechanisms of platinum-based chemotherapy resistance in ovarian cancer (Review). *Oncol Rep.* 2022;47:82.
69. Miller RE, Elyashiv O, El-Shakankery KH, Ledermann JA. Ovarian cancer therapy: Homologous recombination deficiency as a predictive biomarker of response to PARP inhibitors. *Onco Targets Ther.* 2022;15:1105-17.
70. Wu Y, Xu S, Cheng S, Yang J, Wang Y. Clinical application of PARP inhibitors in ovarian cancer: from molecular mechanisms to the current status. *J Ovarian Res.* 2023;16:6.
71. Haunschild CE, Tewari KS. Bevacizumab use in the frontline, maintenance and recurrent settings for ovarian cancer. *Future Oncol.* 2020;16:225-46.
72. Siminiak N, Czepczyński R, Zaborowski MP, Iżycki D. Immunotherapy in ovarian cancer. *Arch Immunol Ther Exp.* 2022;70:19.
73. Sambasivan S. Epithelial ovarian cancer: Review article. *Cancer Treat Res Commun.* 2022;33:100629.
74. Heublein S, Baum J, Jaeger A, Grimm-Glang D, Olthoff J, Braicu EI i sur. Current treatment practices and prognostic factors in early-stage ovarian cancer-An analysis of the NOGGO/JAGO. *Cancers.* 2023;15:2038.
75. Mangogna A, Munari G, Pepe F, Maffii E, Giampaolino P, Ricci G i sur. Homologous recombination deficiency in ovarian cancer: from the biological rationale to current diagnostic approaches. *J Pers Med.* 2023;13:284.
76. Guy H, Hawkes C, Walder L, Malinowska IA, Gupta D. Systematic literature review of efficacy and safety of first-line maintenance therapy trials in advanced ovarian cancer. *Future Oncol.* 2022;18:3435-47.
77. Alvarez Secord A, O'Malley DM, Sood AK, Westin SN, Liu JF. Rationale for combination PARP inhibitor and antiangiogenic treatment in advanced epithelial ovarian cancer: A review. *Gynecol Oncol.* 2021;162:482-95.
78. Mirza MR, Ávall Lundqvist E, Birrer MJ, dePont Christensen R, Nyvang GB, Malander S i sur. Niraparib plus bevacizumab versus niraparib alone for platinum-sensitive recurrent ovarian cancer (NSGO-AVANOVA2/ENGOT-ov24): a randomised, phase 2, superiority trial. *Lancet Oncol.* 2019;20:1409-19.

79. Coleman RL, Brady MF, Herzog TJ, Sabbatini P, Armstrong DK, Walker JL i sur. Bevacizumab and paclitaxel-carboplatin chemotherapy and secondary cytoreduction in recurrent, platinum-sensitive ovarian cancer (NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group study GOG-0213): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2017;18:779-91.
80. Coleman RL, Oza AM, Lorusso D, Aghajanian C, Oaknin A, Dean A i sur. Rucaparib maintenance treatment for recurrent ovarian carcinoma after response to platinum therapy (ARIEL3): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet.* 2017;390:1949-61.
81. Maiorano BA, Maiorano MFP, Maiello E. Olaparib and advanced ovarian cancer: Summary of the past and looking into the future. *Front Pharmacol.* 2023;14:1162665.
82. Ledermann J, Harter P, Gourley C, Friedlander M, Vergote I, Rustin G i sur. Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed serous ovarian cancer: a preplanned retrospective analysis of outcomes by BRCA status in a randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2014;15:852-61.
83. Pujade-Lauraine E, Ledermann JA, Selle F, Gebski V, Penson RT, Oza AM i sur. Olaparib tablets as maintenance therapy in patients with platinum-sensitive, relapsed ovarian cancer and a BRCA1/2 mutation (SOLO2/ENGOT-Ov21): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2017;18:1274-84.
84. Poveda A, Lheureux S, Colombo N, Cibula D, Lindemann K, Weberpals J i sur. Olaparib maintenance monotherapy in platinum-sensitive relapsed ovarian cancer patients without a germline BRCA1/BRCA2 mutation: OPINION primary analysis. *Gynecol Oncol.* 2022;164:498-504.
85. Shi T, Zhu J, Feng Y, Tu D, Zhang Y, Zhang P i sur. Secondary cytoreduction followed by chemotherapy versus chemotherapy alone in platinum-sensitive relapsed ovarian cancer (SOC-1): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2021;22:439-49.
86. Du Bois A, Sehouli J, Vergote I, Ferron G, Reuss A, Meier W i sur. Randomized phase III study to evaluate the impact of secondary cytoreductive surgery in recurrent ovarian cancer: final analysis of AGO DESKTOP III/ENGOT-ov20. *Proc Am Soc Clin Oncol.* 2020;38:6000.
87. Burger RA, Brady MF, Bookman MA, Fleming GF, Monk BJ, Huang H i sur. Incorporation of bevacizumab in the primary treatment of ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2011;365:2473-83.

88. Aghajanian C, Blank SV, Goff BA, Judson PL, Teneriello MG, Husain A i sur. OCEANS: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III trial of chemotherapy with or without bevacizumab in patients with platinum-sensitive recurrent epithelial ovarian, primary peritoneal, or fallopian tube cancer. *J Clin Oncol.* 2012;30:2039-45.
89. Pujade-Lauraine E, Hilpert F, Weber B, Reuss A, Poveda A, Kristensen G i sur. Bevacizumab combined with chemotherapy for platinum-resistant recurrent ovarian cancer: The AURELIA open-label randomized phase III trial. *J Clin Oncol.* 2014;32:1302-8.
90. Moore K, Colombo N, Scambia G, Kim BG, Oaknin A, Friedlander M i sur. Maintenance olaparib in patients with newly diagnosed advanced ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2018;379:2495-2505.
91. Ray-Coquard I, Pautier P, Pignata S, Pérol D, González-Martín A, Berger R i sur. Olaparib plus bevacizumab as first-line maintenance in ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2019;381:2416-28.
92. González Martín A, Pothuri B, Vergote IB, Christensen RD, Graybill W, Mirza MR i sur. Niraparib therapy in patients with newly diagnosed advanced ovarian cancer (PRIMA/ENGOT-OV26/GOG-3012study). *N Engl J Med.* 2019;381:2391-2402.
93. Poveda A, Floquet A, Ledermann JA, Asher R, Penson RT, Oza AM i sur. Olaparib tablets as maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed ovarian cancer and a BRCA1/2 mutation (SOLO2/ENGOT-ov21): A final analysis of a double-blind, randomized, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2021;22:620-31.
94. Del Campo JM, Matulonis UA, Malander S, Provencher D, Mahner S, Follana P i sur. Niraparib maintenance therapy in patients with recurrent ovarian cancer after a partial response to the last platinum-based chemotherapy in the ENGOT-OV16/NOVA trial. *J Clin Oncol.* 2019;37:2968-73.
95. Diéras V, Han HS, Kaufman B, Wildiers H, Friedlander M, Ayoub JP i sur. Veliparib with carboplatin and paclitaxel in BRCA-mutated advanced breast cancer (BROCADE3): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet.* 2020;21:1269-82.
96. Ledermann JA, Oza AM, Lorusso D, Aghajanian C, Oaknin A, Dean A i sur. Rucaparib for patients with platinum-sensitive, recurrent ovarian carcinoma (ARIEL-3): post-progression outcomes and updated safety results from randomized placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2020;21:710-22.

97. Tasca G, Dieci MV, Baretta Z, Faggioni G, Montagna M, Nicoletto MO i sur. Synchronous and metachronous breast and ovarian cancer: Experience from two large cancer center. *Front Oncol.* 2020;10:608783.
98. Savanevich A, Oszurek O, Lubiński J, Cybulski C, Dębniak T, Narod SA i sur. BRCA1 founder mutations compared to ovarian cancer in Belarus. *Fam Cancer.* 2014;13:445-7.
99. Savanevich A, Ashuryk O, Cybulski C, Lubiński J, Gronwald J. BRCA1 and BRCA2 mutations in ovarian cancer patients from Belarus:update. *Hered Cancer Clin Pract.* 2021;19:13.
100. Bogdanova N, Antonenkova NN, Rogov YI, Karstens JH, Hillemanns P, Dörk T. High frequency and allele-specific differences of BRCA1 founder mutations in breast cancer and ovarian cancer patients from Belarus. *Clin Genet.* 2010;78:364–72.
101. Pohlreich P, Zikan M, Stribrna J, Kleibl Z, Janatova M, Kotlas J i sur. High proportion of recurrent germline mutations in the BRCA1 gene in breast and ovarian cancer patients from the Prague area. *Breast Cancer Res.* 2005;7:R728–36.
102. Krajc M, Teugels E, Zgajnar J, Goelen G, Besic N, Novakovic S i sur. Five recurrent BRCA1/2 mutations are responsible for cancer predisposition in the majority of Slovenian breast cancer families. *BMC Med Genet.* 2008;9:83.
103. Manchana T, Phoolcharoen N, Tantbiroj P. BRCA mutation in high grade epithelial ovarian cancer. *Gynecologic Oncology Rep.* 2019;29:102-5.
104. Kluz T, Jasiewicz A, Marczyk E, Jach R, Jakubowska A, Lubiński J i sur. Frequency of BRCA1 and BRCA2 causative founder variants in ovarian cancer patients in South-East Poland. *Hered Cancer Clin Pract.* 2018;27:6.
105. Sokolenko AP, Mitiushkina NV, Buslov KG, Bit-Sava EM, Iyevleva AG, Chekmariova EV i sur. High frequency of BRCA1 5382insC mutation in Russian breast cancer patients. *Eur J Cancer.* 2006;42:1380–4.
106. Ladopoulou A, Kroupis C, Konstantopoulou I, Ioannidou-Mouzaka L, Schofield AC, Pantazidis A i sur. Germ line BRCA1 & BRCA2 mutations in Greek breast/ovarian cancer families: 5382insC is the most frequent mutation observed. *Cancer Lett.* 2002;185:61–70.
107. Elsakov P, Kurtinaitis J, Petraitis S, Ostapenko V, Razumas M, Razumas T i sur. The contribution of founder mutations in *BRCA1* to breast and ovarian cancer in Lithuania. *Clin Genet.* 2010;78:373-6.
108. Levy-Lahad E, Catane R, Eisenberg S, Kaufman B, Hornreich G, Lishinsky E i sur. Founder BRCA1 and BRCA2 mutations in Ashkenazi Jews in Israel: frequency and

- differential penetrance in ovarian cancer and in breastovarian cancer families. *Am J Hum Genet.* 1997;60:1059–67.
109. ElBiad O, Laraqui A, El Boukhrissi F, Mounjid C, Lamsisi M, Bajjou T i sur. Prevalence of specific and recurrent/founder pathogenic variants in BRCA genes in breast and ovarian cancer in North Africa. *BMC Cancer* 2022;22:208.
  110. Elalaoui SC, Laarabi FZ, Afif L, Lyahyai J, Ratbi I, Jaouad IC i sur. Mutational spectrum of BRCA 1/2 genes in Moroccan patients with hereditary breast and/or ovarian cancer, and review of BRCA mutations in the MENA region. *Breast Cancer Res Treat.* 2022;194:187-198.
  111. Alhuqail A, Alzahrani A, Almubarak H, Al-Qadheeb S, Alghofaili L, Almoghrabi N i sur. High prevalence of deleterious BRCA1 and BRCA2 germline mutations in arab breast and ovarian cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* 2018;168:695-702.
  112. Farra C, Dagher C, Badra R, Hammoud MS, Alameddine R, Awwad J i sur. BRCA mutation screening and patterns among high-risk Lebanese subjects. *Hered Cancer Clin Pract.* 2019;18:4.
  113. Abdel-Razeq H, Abujamous L, Jadaan D. Patterns and prevalence of germline BRCA1 and BRCA2 mutations among high-risk breast cancer patients in Jordan: a study of 500 patients. *J Oncol.* 2020;2020:8362179.
  114. Le TNN, Tran VK, Nguyen TT, Vo NS, Hoang TH, Vo HL i sur. BRCA1/2 mutations in Vietnamese patients with hereditary breast and ovarian cancer syndrome. *Genes.* 2022,13:268.
  115. Park KS, Lee W, Seong MW, Kong SY, Lee KA, Ha JS i sur. A population-based analysis of BRCA1/2 genes and associated breast and ovarian cancer risk in Korean patients: A multicenter Cohort study. *Cancers.* 2021;13:2192.
  116. Kadri MSN, Patel KM, Bhargava PA, Shah FD, Badgujar NV, Tarapara BV i sur. Mutational landscape for Indian hereditary breast and ovarian cancer cohort suggests need for identifying population specific genes and biomarkers for screening. *Front Oncol.* 2021;10:568786.
  117. Yadav S, Boddicker NJ, Na J, Polley EC, Hu C, Hart, SN i sur. Contralateral breast cancer risk among carriers of germline pathogenic variants in ATM, BRCA1, BRCA2, CHEK2, and PALB2. *J Clin Oncol.* 2023;41:1703-13.

## **8. SAŽETAK**

**CILJ ISTRAŽIVANJA:** Mutacije BRCA1 i BRCA2 gena su poznati čimbenici rizika za nastanak raka dojke i jajnika. Spektar BRCA1/2 mutacija u bolesnica sa seroznim karcinomom jajnika visokog gradusa u Hrvatskoj još nije opisan. Ovakve izvješća su važna za optimizaciju genetskog testiranja, strategiju primarne i sekundarne prevencije te za individualizaciju liječenja naših pacijenata s rakom jajnika.

**ISPITANICE I METODE:** Retrospektivno su analizirani podaci iz povijesti bolesti 55 bolesnica s BRCA mutiranim, seroznim, visoko-gradusnim karcinomom jajnika liječenih i praćenih na Odjelu za onkologiju i radioterapiju u Splitu. Prikupljeni podaci uključivali su dob bolesnika u trenutku dijagnoze, obiteljsko opterećenje sa zloćudnim bolestima, primarno sijelo bolesti, histološki podtip, stadij bolesti, BRCA status, vrste BRCA mutacija, značajke kirurškog i onkološkog liječenja, te specifičnosti metakronih i sinkronih karcinoma u bolesnika s BRCAm karcinomom jajnika.

**REZULTATI:** Analizirano je 55 pacijentica s novodijagnosticiranim i/ili rekurentnim BRCAm seroznim, visoko-gradusnim rakom jajnika. Medijan životne dobi u trenutku dijagnoze bolesti bio je 54 godine (raspon 36-76). Otkrili smo 37 pacijenata s mutacijama BRCA1 (67%) i 18 pacijenata s mutacijama BRCA2 gena (33%). Prosječna dob bolesnica za BRCA1m bila je 52 godine (raspon 36-76), a za BRCA2m 56 godina (raspon 47-68). Među BRCA1 mutacijama najčešće su otkrivene mutacije c.5266dup u 18 bolesnika (32,7%) i c.1252G>T u 8 bolesnika (14,5%). Ostale BRCA1m otkrivene u 2 bolesnice bile su c.4113delG i c.843-846del, te u 1 bolesnice: c.3342del, c.5409>A, c.181T>G, c.3343del, c.4356del, c.5503C>T i c.1508del. Dvije najčešće BRCA2m prisutne u našoj populaciji bile su c.6641dup (5 bolesnika, 9%) i c.9371A>T (3 bolesnika, 6%). Ostale BRCA2m otkrivene u 2 bolesnice bile su c.5073dupA i c.8331+1G>T, te u 1 bolesnice: c.6486\_6489del, c.4593del, 3663del, c.4563\_4564del, c.6037A>T i c.9286G>T.

**ZAKLJUČAK:** Najčešća mutacija BRCA1 gena u našoj studiji (c.5266dup, p.Gln1756fs) je najčešća mutacija u stanovnika slavenskih zemalja kao što su Rusija, Bjelorusija, Poljska, Češka, Slovenija, te u sjevernoj Grčkoj, druga po učestalosti u aškenaskoj židovskoj populaciji, a treća po učestalosti u zemljama sjeverne Afrike (Maroko, Alžir i Tunis).



## **9. SUMMARY**

**DIPLOMA THESIS TITLE:** BRCA mutations in ovarian cancer – University Hospital of Split experiences

**OBJECTIVE:** Mutations in BRCA1 and BRCA2 are well-established risk factor for breast and ovarian cancer. The spectrum of BRCA1/2 mutations in high grade serous ovarian cancer patients have not yet been fully described in Croatia. These observations may be important to optimize the genetic testing, primary and secondary prevention strategies and individualize treatment for our ovarian cancer patients.

**PATIENTS AND METHODS:** Data from the medical history of 55 patients with BRCAm high grade serous ovarian cancer treated and followed at the Department of Oncology and Radiotherapy in Split were retrospectively analyzed. Data included age of patient at diagnosis, family history of malignancies, primary disease, histological subtype, stage of disease, BRCA status, spectrum of BRCA mutations, features of surgical and oncological treatment, specific of metachronous and synchronous cancers in patients with BRCAm ovarian cancer.

**RESULTS:** We have analyzed 55 patients with newly diagnosed and/or recurrent BRCAm high grade serous ovarian cancer. The median age of diagnosis was 54 years (range 36-76). We detected 37 patients with BRCA1m (67%) and 18 patients with BRCA2m (33%). The median age of diagnosis for BRCA1m patients was 52 years (range 36-76), and for BRCA2m patients 56 years (range 47-68). Among those with BRCA1m, the most frequently detected mutations were c.5266dup in 18 patients (32,7%) and c.1252G>T in 8 patients (14,5%). Other BRCA1m detected in 2 patients were c.4113del and c.843-846del and in 1 patient were c.3342del, c.5409>A, c.181T>G, c.3343del, c.4356del, c.5503C>T and c.1508del. The two most common BRCA2m present in our population were c.6641dup (5 patients, 9%) and c.9371A>T (3 patients, 6%). Other BRCA2m detected in 2 patients were c.5073dup and c.8331+1G>T and in 1 patient were c.6486\_6489del, c.4593del, 3663delT, c.4563\_4564del, c.6037A>T and c.9286G>T.

**CONCLUSION:** The most common BRCA1m in our study (c.5266dup, p.Gln1756fs) is the most common mutation among other Slavic countries such as Russia, Belarus, Poland, Czech Republic, Slovenia as well as in northern Greece, the second common in the Ashkenazi Jewish population, and the third common in North Africa (Marocco, Algeria and Tunis).

## **10. ŽIVOTOPIS**

## **Osobni podatci:**

**Ime i prezime:** Natko Čović

**Datum rođenja:** [REDACTED]

**Mjesto rođenja:** [REDACTED]

**Državljanstvo:** [REDACTED]

## **Obrazovanje:**

[REDACTED]

[REDACTED] Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu - doktor medicine

## **Znanje stranih jezika:**

[REDACTED]

## **Ostalo:**

[REDACTED]