

Patogenetska podloga za terapijske odluke u liječenju nasljednih solidnih tumora

Kanceljak, Kristina

Master's thesis / Diplomski rad

2020

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:927946>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-04**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Kristina Kanceljak

**Patogenetska podloga za terapijske odluke u
liječenju nasljednih solidnih tumora**

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2020.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Klinici za onkologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb i Katedri za patofiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom doc. dr. sc. Natalije Dedić Plavetić i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2019./2020.

POPIS KRATICA

ADP (engl. *adenosine diphosphate*) – adenzin difosfat, nukleotid

AIP (engl. *aryl hydrocarbon receptor interacting protein*) – tumor supresorski gen

ATM (engl. *ataxia teleangiectasia mutated*) – tumor supresorski gen

BARD1 (engl. *BRCA1 associated RING domain 1*) – gen čiji protein sudjeluje u popravku oštećene DNA zajedno s BRCA1 proteinom

BRCA 1 i 2 (engl. *Breast Cancer genes 1 and 2*) – tumor supresorski geni koji sudjeluju u popravku oštećene DNA

BRIP1 (engl. *BRCA1 interacting protein C-terminal helicase 1*) – gen koji sudjeluje u popravku dvostrukih lomova DNA

CDH1 (engl. *cadherin 1*) – tumor supresorski gen

CHEK2 (engl. *checkpoint kinase 2*) – tumor supresorski gen

DCIS (engl. *ductal carcinoma in situ*) – intraduktalni karcinom, karcinom in situ

del - delecija

DNA (engl. *deoxyribonucleic acid*) – deoksiribonukleinska kiselina

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

ER/PR – estrogenski/progesteronski receptor

ERBB2 (engl. *Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 2*) – gen koji kodira receptor za humani epidermalni čimbenik rasta 2

FANC (engl. *Fanconi anemia complementation group A, B, C, D, D2, F, G, I, J, L, M, N*) – grupa gena koja sudjeluje u popravku DNA

FDA (engl. *Food and Drug Administration*) – Američka uprava za hranu i lijekove

G1 (engl. *gap 1 phase*) – faza 1 staničnog ciklusa u eukariota

HER2 / HER2/neu (engl. *human epidermal growth factor receptor 2*) – receptor za humani epidermalni čimbenik rasta 2

HER2+/- – status receptora HER2 pozitivan(+) ili negativan (-)

HNF1A (engl. *HNF1 homeobox A*) – transkripcijski aktivator

IARC (engl. *International Agency for Research on Cancer*) – Međunarodna agencija za istraživanje raka

MLH1 (engl. *mutL homolog 1*) – gen koji sudjeluje u popravku krivo sparenih baza

MSH2, 3 i 6 (engl. *mutS homolog 2,3 and 6*) – geni koji sudjeluju u popravku krivo sparenih baza

MUTYH (engl. *mutY DNA glycosylase*) – gen koji sudjeluje u popravku oštećene DNA

NCCN (engl. *National Comprehensive Cancer Network*) – nacionalna sveobuhvatna mreža za rak

NGS (engl. *next generation sequencing*) – tehnologija sekvenciranja nove generacije

NSM (engl. *nipple sparing mastectomy*) – mastektomija s poštedom kože i bradavice

NTHL1 (engl. *nth like DNA glycosylase 1*) – gen koji sudjeluje u popravku oksidativnog oštećenja DNA

p21 – protein 21

PALB2 (engl. *partner and localizer of BRCA2*) – tumor supresorski gen

PARP (engl. *poly (ADP-ribose) polymerase*) – enzim poli(ADP-riboza) polimeraza koji sudjeluje u popravku jednolančanih lomova DNA

PCR (engl. *polymerase chain reaction*) – metoda lančane reakcije polimeraza, tehnika kojom se umnažaju specifični slijedovi DNA ili RNA

PMS2 (engl. *postmeiotic segregation increased 2*) – gen koji sudjeluje u popravku krivo sparenih baza

PTEN (engl. *phosphatase and tensin homolog*) – tumor supresorski gen

RCB (engl. *residual cancer burden*) – sustav klasifikacije odgovora tumora na liječenje

RNA (engl. *ribonucleic acid*) – ribonukleinska kiselina

SSM (engl. *skin sparing mastectomy*) – mastektomija s poštedom kože

STK11 (engl. *serine/threonine protein-kinase 11*) – tumor supresorski gen

TP53/p53 (engl. *tumor protein p53*) – tumor supresorski gen 53/protein 53

VHL – tumor supresorski gen Von Hippel-Lindau

VUS (engl. *variant of uncertain significance*) – varijanta nepoznatog značaja

XPA (engl. *xeroderma pigmentosum, complementation group A*) – gen koji kodira protein koji sudjeluje u popravku oštećene DNA

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. GENETIKA NASLJEDNOG RAKA.....	1
1.2. NASLJEDNI SINDROMI RAKA.....	4
1.3. GENETIČKO SAVJETOVANJE	4
1.4. GENETIČKO TESTIRANJE	7
1.5. NASLJEDNI KARCINOM DOJKE	7
1.5.1. PENETRANTNOST GENA.....	8
1.5.2. <i>BRCA1</i> i <i>BRCA2</i>	8
1.5.3. <i>TP53</i>	9
1.5.4. <i>PTEN</i>	9
1.5.5. <i>CHEK2</i>	10
1.5.6. <i>ATM</i>	10
1.5.7. <i>PALB2</i>	10
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	11
3. ISPITANICI I METODE	12
4. REZULTATI.....	14
5. RASPRAVA.....	22
6. ZAKLJUČAK	25
7. ZAHVALE.....	26
8. LITERATURA.....	27
9. ŽIVOTOPIS	33

Patogenetska podloga za terapijske odluke u liječenju nasljednih solidnih tumora

Kristina Kanceljak

Sažetak: Nasljedni sindromi raka čine raznovrsne skupine genetskih sindroma koje karakterizira rani razvoj histogenetski različitih neoplazmi koje se pojavljuju u nekoliko članova obitelji. Iako su mnogi rijetki, oni čine 3-10 % svih zloćudnih bolesti. Cilj ovoga istraživanja bio je utvrditi raspodjelu patogenih ili vjerojatno patogenih varijanti u nekoliko penetrantnih gena visokog rizika kao što su *BRCA1* i *BRCA2*, *PALB2*, *TP53*, *PTEN*, *STK11*, *CDH1* te genima za popravak krivo sparenih baza (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6* i *PMS2*) i njihov utjecaj na terapijske odluke u liječenju raka dojke. Provedena je retrospektivna neintervencijska studija na Klinici za onkologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb u razdoblju od 1. veljače 2019. godine do 31. siječnja 2020. godine. U navedenom je razdoblju od godine dana u genetičkom savjetovaštvu proces savjetovanja prošla 161 osoba, a multigenским panelom za nasljedni rak koji uključuje 113 gena, genetički je testirana 101 osoba.

Patogene varijante otkrivene su u 6 pacijentica (54,55 %) s karcinomom dojke testiranih tijekom neoadjuvantnog liječenja, među kojima je 4 (36,36 %) imalo patogenu varijantu *BRCA1* gena, 1 pacijentica (9,09 %) *BRCA2* gena, a 1 pacijentica (9,09 %) patogenu varijantu *ATM* gena. Sve bolesnice s *BRCA* mutacijama bile su podvrgnute radikalnoj mastektomiji. Također, u pacijentica s metastatskim rakom dojke opažene su patogene varijante gena *BRCA1*, *CHEK2* i *AIP* (12,50 %) te vjerojatno patogene varijante u genima *TP53*, *CHEK2*, *BRIP1*, *BRCA1* i *PALB2* (20,83 %). Pacijenticama s *BRCA* i *PALB2* patogenom varijantom odobren je talazoparib, PARP-inhibitor, kao terapija metastatske bolesti. Ostale značajnije patogene varijante uočene su u genima *HNF1A*, *AIP*, *ATM*, *MSH6*, *BRIP1*, *BARD1*, *FANCI*. Zaključno, ovo istraživanje ukazuje na važnost genetičkog testiranja za nasljedni rak dojke radi pravilnog odabira terapijskih opcija i potrebe za uključivanjem više gena relevantnih za rak dojke s obzirom na njihovu prisutnost kod velikog broja bolesnica.

Ključne riječi: genetičko testiranje, nasljedni rak dojke, *BRCA* geni, patogene i vjerojatno patogene varijante

Pathogenetic basis of therapeutic decisions in the treatment of hereditary solid tumors

Kristina Kanceljak

Summary: Hereditary cancer syndromes are consisted of a diverse group of genetic syndromes that characterize early development of different histogenetic neoplasms that occur in several family members. Although many of them are rare, they make up to 3-10 % of all malignancies. The aim of this study was to determine the distribution of pathogenic and likely pathogenic variants in several high- and moderate-penetrance genes such as *BRCA1* and *BRCA2*, *PALB2*, *TP53*, *PTEN*, *STK11*, *CDH1* and mismatch repair genes (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*) and their impact on therapeutic decisions in the treatment of breast cancer. Retrospective non-interventional study was conducted in the Department of Oncology in University Hospital Center Zagreb during the period from February 1, 2019 until January 31, 2020. During this one year period, genetic counseling was attended by 161 clients and multi-gene panel testing including 113 genes was performed on 101 participants. Pathogenic variants were found in 6 breast cancer patients (54.55 %) during neoadjuvant treatment, 4 of them (36.36 %) in *BRCA1*, 1 (9.09 %) in *BRCA2* and 1 (9.09 %) in *ATM*. All patients with *BRCA* mutations were subjected to radical mastectomy. Also, patients with metastatic disease of breast cancer had pathogenic variants in *BRCA1*, *CHEK2* and *AIP* genes (12.50 %) and likely pathogenic variants in *TP53*, *CHEK2*, *BRIP1*, *BRCA1* and *PALB2* (20.83 %). Based on these genetic test results, women with *BRCA* and *PALB2* likely pathogenic variants were assigned to receive talazoparib, PARP inhibitor, as a treatment option for metastatic disease. Other significant pathogenic and likely pathogenic variants were detected in *HNFI1A*, *AIP*, *ATM*, *MSH6*, *BRIP1*, *BARD1* and *FANCI*.

In conclusion, this study shows the importance of genetic testing for hereditary breast cancer in order to properly select therapeutic options and the need of including more genes relevant to breast cancer in testing.

Key words: genetic testing, hereditary breast cancer, *BRCA* genes, pathogenic and likely pathogenic variants

1. UVOD

1.1. GENETIKA NASLJEDNOG RAKA

Tumorski je proces složen i dugotrajan proces koji se odvija kontinuirano. Rezultat je postupnog nakupljanja genetskih promjena unutar stanice, što na kraju rezultira nekontroliranim proliferacijama, invazijom u okolna tkiva, ali i metastaziranjem na udaljena mjesta (1). Zajedničko svojstvo svih karcinoma je da proizlaze iz jedne stanice u kojoj se akumulira niz genetskih i epigenetskih promjena koje dovode do promjena u aktivnosti gena i tako do izmijenjenih fenotipova (2). Pretpostavka da tumori proizlaze iz somatske stanice određenom genetskom promjenom potječe s početka 20. stoljeća (2). Razvojem i dostupnošću tehnologije u ranim 1970-ima ta se definicija precizirala time da je zloćudna preobrazba povezana djelovanjem višestrukih specifičnih gena (2). Identificirano je mnoštvo gena uključenih u tumorigenezu i progresiju tumora čiji su produkti zaduženi za važne stanične procese, uključujući staničnu proliferaciju, pokretljivost i diferencijaciju te uspostavljanje stanične besmrtnosti (1). Također, poznato je da su potrebne godine do maligne alteracije stanice koju posreduju tumor supresorski geni gubitkom svoje funkcije te onkogeni svojom pojačanom aktivnošću (3). Proto-onkogeni su uključeni u prijenos signala te time reguliraju normalnu staničnu proliferaciju i diferencijaciju (4). Određuju sintezu čimbenika rasta, protein-kinaza, ras-bjelančevina, koćničara apoptoze te jezgrenih proteina odgovornih za kontrolu napredovanja staničnog ciklusa, replikaciju DNA i ekspresiju gena (3,5). Nekoliko je načina kojima se mogu aktivirati onkogeni - mutacijama u samom genu, povećanjem broja kopija gena (amplifikacijom) te kromosomskom translokacijom (4). Primjerice, amplifikacija protoonkogen *ERBB2* koji kodira tirozin-kinazni humani receptor epidermalnog faktora rasta 2 (HER2 ili HER2/neu) nalazi se u 20-30 % slučajeva karcinoma dojke i čini tumor zloćudnijim i težim za liječenje (6). S druge strane, tumor supresorski geni u normalnim uvjetima inhibiraju staničnu proliferaciju i razvoj tumora, a njihovim gubitkom ili inaktivacijom dolazi do eliminacije regulatornih proteina i posljedične abnormalne proliferacije stanica (7). Kako bi protoonkogen postao onkogen dovoljna je inaktivacija jednog alela istog protoonkogen, dok je za očitovanje mutacija tumor supresorskih gena nužna inaktivacija dvaju alela (4). Najviše istraživanih promjena tumor supresorskih gena je u *TP53*, još poznatom pod nazivom "čuvar genoma" zbog uloge koju ima u zaustavljanju nastanka tumora pri oštećenjima DNA, erozijama telomera, aberantnim proliferativnim signalima i prisustvu hipoksije (8). Naime, njegov produkt p53 funkcionira kao transkripcijski

regulator koji upravlja staničnim odgovorom na stres zaustavljajući daljnje napredovanje staničnog ciklusa, pospješuje apoptozu, a vjerojatno i inhibira angiogenezu (9). Primjerice, pri oštećenju DNA dolazi do indukcije p53 što rezultira pojačanom regulacijom p21 važnog za zaustavljanje G1 faze staničnog ciklusa radi popravka DNA (1).

Nadalje, mnoge mutacije tumor supresorskih gena su nasljedne i pokazuju sklonost razvoju nasljednih sindroma. Na primjer, nasljedne mutacije *ATM* gena dovode do pojave ataksije-teleangiektazije, *CDHI* do hereditarnog difuznog želučanog karcinoma, *XPA* do pigmentne kseroderme, *VHL* do von Hippel-Lindauova sindroma, *SMAD4* do juvenilnog polipoznog sindroma, a *STK11* do Peutz-Jeghersovog sindroma (10).

Nadalje, citogenetske i molekularne studije pokazale su da je stvaranje tumora često povezano s nakupljanjem inverzija, delecijama ili translokacijama kao posljedicom pogrešnog popravka dvolančanih lomova u DNA tijekom replikacije, odnosno križnog spajanja DNA u mejozi (11). Popravak dvolančanih lomova DNA odvija se homogomnom rekombinacijom i nehomolognim povezivanjem krajeva DNA (12). Oni su nužni ne samo za patološke dvolančane lomove kao pri kromosomskim translokacijama, već i pri fiziološkim dvolančanim lomovima tijekom rekombinacije. Stoga, bolesnici kojima nedostaju takvi mehanizmi popravka osjetljivi su na ionizirajuće zračenje, ali su i vrlo imunodeficijentni. (12). Proteini koji sudjeluju u prepoznavanju oštećenja i aktivaciji mehanizama popravaka jesu primjerice *BRCA1* koja sudjeluje u izboru mehanizma popravka homologne rekombinacije te protein *BRCA2* koji je dio kompleksa koji sudjeluje u samoj homolognoj rekombinaciji (3). Dobar primjer za razumijevanje navedenih mehanizama jest rak dojke i terapijsko djelovanje na tumorske stanice. Naime, ciljana terapija karcinoma dojke već je duži niz godina sredstvo djelovanja na hormonske receptore u tumorskim stanicama, međutim 15 % karcinoma dojke ne izražava nikakav hormonski receptor i predstavlja veliki izazov u liječenju. Trostruko negativni karcinomi dojke nalaze se u 70 % nositelja *BRCA1* mutacije i u 20 % u nositelja *BRCA2* mutiranog gena te je otkriveno da je kod takvih karcinoma oštećen jedan od glavnih puteva popravljavanja oštećene DNA – homologna rekombinacija (13). Otkrićem PARP enzima i njihove uloge u popravku DNA otvorila se mogućnost razvoja novih tipova antineoplastičnih lijekova - PARP-inhibitora koji inhibiraju mehanizam popravaka jednolančanih lomova DNA te ako ne bivaju popravljani postaju dvolančani i posljedično se prisustvom mutacije *BRCA* gena ne mogu popraviti i tumorska stanica umire (4).

Osim navedenih promjena, greška se može dogoditi i pri komplementarnom sparivanju baza pri čemu nastaje veliki broj krivo sparenih baza (3). Jedan od načina rješavanja tog problema jest popravak krivo sparenih baza (engl. *mismatch repair*) koje između ostaloga popravljaju i novonastale petlje u mikrosatelitima (3). Gubitak aktivnosti popravka krivo sparenih baza rezultira mikrosatelitnom nestabilnošću koja je otkrivena u 15 % svih karcinoma debelog crijeva, od čega je njih 3 % povezano s Lynchovim sindromom, a ostalih 12 % uzrokovano je sporadičnom, stečenom hipermetilacijom promotora gena *MLH1*. Kolorektalni tumori s mikrosatelitnom nestabilnošću imaju karakteristična obilježja, kao što su sklonost nastanku tumora u proksimalnom crijevu, limfocitna infiltracija i slabo diferencirani, mucinozni izgled. Također, takvi tumori imaju bolju prognozu i nemaju isti odovor na onkoplastično liječenje (14).

Osim genetskih promjena koje dovode do razlika u genetičkom kodu, epigenetske promjene pridonose stvaranju nasljednih promjena ekspresije gena, ali bez izazivanja promjena u nukleotidnoj sekvenci DNA te su stoga reverzibilne (5). Jedna od glavnih epigenetskih promjena koje utječu na aktivnost i ekspresiju gena jest DNA-metilacija (hipo- i hipermetilacija) citozinskih ostataka kojom dolazi do aktivacije onkogeni ili utišavanja tumor-supresora (5). Na staničnoj razini, može doći do disregulacije ključnih staničnih procesa, uključujući kontrolu transkripcije, popravka DNA i staničnog ciklusa (15). Pored toga, objavljeno je mnogo istraživanja o prognostičkim značajkama temeljem ekspresije malih nekodirajućih RNA i mikroRNA, a rezultati se mogu pronaći u bazama podataka poput Cancer Genome Anatomy Project, Stanford Microarray Database, ONCOMINE i dr. (16). Također, svoju ulogu u nastanku raka posjeduju i mehanizmi povezani sa skraćivanjem krajeva kromosoma, odnosno pokazalo se da je u 85 do 90 % analiziranih tumorskih stanica aktivan enzim telomeraza kojim se produljuju telomere i osigurava neograničena dioba (4). Aktivnost telomeraze potisnuta je u gotovo svim normalnim ljudskim somatskim stanicama i dovodi do ograničene replikacije i staničnog starenja. U prisutnosti virusnih onkogeni ili nekih somatskih mutacija dolazi do prekida staničnog starenja i aktivacije telomeraze, nužnih za kontinuirani rast većine tumora (17).

1.2. NASLJEDNI SINDROMI RAKA

Nasljedni sindromi raka čine raznolike skupine genetskih sindroma koje karakterizira rani razvoj histogenetski različitih neoplazmi u specifičnim organima koje se pojavljuju u nekoliko članova obitelji (18). Opisano je više od 200 nasljednih sindroma raka koji se većinom nasljeđuju na autosomno dominantan način (19). Iako su mnogi rijetki, oni čine 3-10 % svih zloćudnih bolesti, što doprinosi značajnom teretu morbiditeta i smrtnosti u ljudskoj populaciji (18, 19).

Nasljeđivanje mutacija osjetno povećava životni rizik za razvoj raka u odnosu na opću populaciju, stoga je prvi korak u procjeni rizika upravo prepoznavanje pojedinaca i obitelji koji mogu biti u toj skupini. Izuzev toga, neophodno je utvrditi kandidate s ciljem smanjenja globalnog opterećenja rakom (engl. *cancer burden*) (20).

Značajke nasljednog karcinoma uključuju raniju dob početka razvoja tumora nego što je opaženo u općoj populaciji, više primarnih karcinoma (sinkroni ili metakroni), bilateralnu zahvaćenost, rijetke karcinome i pozitivnu obiteljska anamnezu u prvom ili drugom koljenu za isti tip tumora ili neki drugi karcinom (21).

1.3. GENETIČKO SAVJETOVANJE

Da bi se omogućila procjena rizika oboljenja, prepoznavanje osoba s nasljednom predispozicijom za rak od presudne je važnosti. Najčešće se temelji na pažljivom prikupljanju podataka obiteljske povijesti bolesti koja uključuje najmanje tri generacije i crtanju obiteljskog stabla (20). Naime, obiteljska stabla pružaju informacije o načinima nasljeđivanja pojedinog karcinoma i članovima obitelji koji su pogodni za genetičko testiranje. Ukoliko je rizik razvoja zloćudnih bolesti povišen (>20 %), mogu se izmijeniti preporuke za probir koje se koriste u općoj populaciji. (22)

Genetičko savjetovanje neophodni je dio procesa genetičkoga testiranja kojeg provodi educirana osoba, a kojim se kroz razgovor pomaže pojedincima da donose informirane odluke i da im se osigura odgovarajuća podrška po potrebi (20). Pokušavaju se objasniti medicinske činjenice o genetičkom poremećaju, utjecaj genetičkih čimbenika na zastupljenost bolesti unutar obitelji te načine kojima se može djelovati s obzirom na specifični rizik pojave

genetičkog poremećaja. Savjetovanje se provodi prije i nakon genetičkog testiranja. Prije testiranja uzima se detaljna osobna i obiteljska anamneza, sastavlja obiteljsko stablo te se osobu informira o svim aspektima bolesti (prevencija, dijagnoza, liječenje). Ukoliko je osoba zadovoljila kriterije za genetičko testiranje, potpisuje informirani pristanak, a rezultat testa usmeno se priopćuje u genetičkom savjetovalištu te se pritom obraća pažnja na moguće emocionalne reakcije. Važno je naglasiti kako genetičko savjetovanje nije obavezno i daje priliku osobi da ostane neinformirana (23). Najznačajniji preduvjeti za upućivanje na genetičko testiranje za rak dojke izdvojeni su i prikazani u Tablici 1 (24).

Tablica 1. Izdvojeni značajniji preduvjeti za upućivanje na genetičko testiranje za rak dojke

	OBOLJELI OD RAKA DOJKE	ZDRAVI POJEDINCI
1.	Srodnik u obitelji s nositeljem mutacije za nasljedni rak dojke i jajnika	Dokazana BRCA1 ili BRCA2 mutacija u obitelji
2.	Muškarci oboljeli od raka dojke	U obitelji muška osoba oboljela od raka dojke
3.	Dijagnoza trustruko negativnog raka dojke prije 60. godine	U obitelji srodnica s trostruko negativnim rakom dojke prije 60. godine
4.	Dijagnoza raka dojke prije 45. godine	Barem jedna krvna srodnica s rakom dojke dobivenog prije 45. godine
5.	Dijagnoza raka dojke prije 50. godine + još 1 kriterij (jedan ili više srodnika s rakom dojke/rakom gušterače/rakom prostate ili nepoznata obiteljska anamneza)	Barem 2 krvne srodnice s rakom dojke u prvom ili drugom koljenu
6.	Dijagnoza raka dojke u u bilo kojoj dobi + još 1 kriterij (jedan ili više srodnika s rakom dojke prije 50. godine, 2 ili više srodnika s rakom dojke u bilo kojoj dobi, 1 ili više srodnika s invazivnim rakom jajnika, 2 ili više srodnika s rakom gušterače/prostate, bliski muški srodnik s rakom dojke, pripadnost etničkoj skupini Aškenaza Židova	Barem 1 krvna srodnica s invazivnim rakom jajnika u prvom ili drugom koljenu ili barem 3 vrste raka u osobnoj ili obiteljskoj anamnezi

1.4. GENETIČKO TESTIRANJE

Za dokazivanje pojedinačne mutacije do 2012. godine najčešće su se koristile PCR metode te Sangerova metoda sekvenciranja DNA, što je skup i dugotrajan proces. S pojavom sekvenciranja nove generacije, NGS-a (engl. *next generation sequencing*), pojavila se mogućnost istovremenog testiranja višestrukih gena. Međutim, kao i kod drugih metoda, i kod multigeniskog testiranja postoje prednosti i nedostaci koje treba uzeti u obzir. Primjerice, moguća je identifikacija promjena koje nisu dobro istražene i opisane, a znatno se povećava i učestalost pronalaska varijanti nejasnog značaja jer su mnogi testirani geni rijetki i nedovoljno proučeni što dovodi do kliničkih i etičkih dvojbi (20, 25).

Nadalje, važno je jasno protumačiti rezultate pristiglih nalaza. Radi olakšavanja interpretacije nalaza i odabira ciljnih strategija prevencije i praćenja nositelja mutacija, Međunarodna agencija za istraživanje raka (IARC) razvila je sustav klasifikacije varijanti s pet kategorija temeljen na stupnju vjerojatnosti patogenosti (26, 27). Prema tome, varijanta je klasificirana patogenom (klasa 5) ako je vjerojatnost patogenosti >99 %, a vjerojatno patogenom (klasa 4) ako je vjerojatnost 95-99 %. Varijanta nejasnog značaja (klasa 3) ima vjerojatnost patogenosti 5-94,9 %, dok su vjerojatno nepatogene (0,1-4,9 %) i nepatogene varijante (<0,1 %) benigne (26).

IARC-ove varijante klase 4 i 5 smatraju se patogenim mutacijama i kao takve mogu utjecati na terapijske odluke kod oboljelog pacijenta. Također, preporučuje se genetičko testiranje srodnika nositelja varijante klase 5, ali i 4 (27).

1.5. NASLJEDNI KARCINOM DOJKE

Doba u kojem živimo vrijeme je naglog procvata saznanja o genetskoj podlozi karcinoma dojke i sve boljeg usmjeravanja i praćenja osoba s postojećim nasljednim mutacijama gena relevantnih za rak dojke. Karcinom dojke razvija se u 12 % žena do 90-ak godina, a pozitivnu obiteljsku anamnezu bilježi njih 15-20 % (28). Nasljednim faktorima pripisuje se 10-30 % slučajeva karcinoma dojke, no samo 5-10 % karcinoma identificirano je s čvrstom nasljednom komponentom, od čega se 4-5% pripisuje visoko penetrantnim genima koji se nasljeđuju autosomno dominantno i slijedi Mendelov obrazac nasljeđivanja. (29)

Mnoga su istraživanja dokazala da karcinom dojke u mlađih ljudi ima agresivniji i lošiji tijek te se pojavljuje u 5-12 % slučajeva u žena mlađih od 45 godina. Zahvaćene žene imaju rizik 29 % od razvoja karcinoma jajnika do 50. godine, a 44 % je rizik do 70. godine. Bolest u ranoj životnoj dobi, visoka incidencija bilateralnog tumora te ponavljajuća korelacija (engl. *repetitive correlation*) s rakom jajnika su neke od značajki nasljednog karcinoma dojke (30).

1.5.1. PENETRANTNOST GENA

Predisponirajući geni za rak mogu se kategorizirati prema njihovom relativnom riziku za određenu vrstu raka. Visoko penetrantni geni povezani su s relativnim rizikom raka višim od 5, dok geni s niskom penetracijom imaju relativni rizik oko 1,5, a umjereno penetrantni geni od 1,5 do 5. *BRCA1* i *BRCA2* najčešće su mutirani visoko penetrantni geni u karcinomu dojke, ali danas se široko primjenjuju i dodatni geni povezani s nasljednim karcinomom dojke pri analizi patogenetske podloge raka dojke (29).

1.5.2. *BRCA1* i *BRCA2*

Prvi geni povezani s nasljednim karcinomom dojke bili su *BRCA1* i *BRCA2*, a otkriveni su 1994. i 1995. godine. Saznanjem o njihovim funkcijama i ulogama tijekom popravljanja DNA stečena je ogromna količina znanja o patogenezi nasljednog karcinoma dojke i jajnika, prevalenciji određenih mutacija među raznim etničkim skupinama, različitoj penetrantnosti i mogućim metodama praćenja nositelja navedenih mutacija (31).

Oko 30 % slučajeva s nasljednim rakom dojke i jajnika ima mutacije u *BRCA1* i *BRCA2* genima, od čega *BRCA1* mutacije nose 80-90 % rizika za razvoj karcinoma dojke. Značajno je povećan i životni rizik od raka jajnika koji se procijenjuje na oko 40-65 % (32).

Osim što pridonose razvoju karcinoma dojke u oba spola, mutacije *BRCA2* gena otkrivene su i u malignim tumorima drugih sijela, poput gušterače, prostate, grkljana, debelog crijeva i želuca (33). Posljedično, potrebno je obratiti pažnju na navedene tumore pri razmatranju obiteljske anamneze.

Tumori dojke sa spomenutim mutiranim genima međusobno se razlikuju po histopatološkim karakteristikama. Naime, karcinomi povezani s *BRCA1* mutacijom nerijetko su invazivni duktalni adenokarcinomi (74 %) s predominacijom medularnog karcinoma (13 %), osobito atipičnog medularnog karcinoma. Također, posjeduju znatno povećanu limfocitnu infiltraciju, nekroze u tkivu, mitotsku aktivnost, a u većini su slučajeva negativni na hormonske receptore (34). Nasuprot tome, određene su studije pokazale da osim duktalnih invazivnih karcinoma kod *BRCA2* tumora učestalije se pojavljuju DCIS s mikrokalcifikacijama (35) te pleomorfni lobularni karcinom (36).

1.5.3. *TP53*

Nasljedne mutacije *TP53* gena uzrokuju Li-Fraumenijev sindrom otkriven 1969. godine. Uključuje širok spektar malignih oboljenja - sarkome, tumore mozga, adrenokortikalne karcinome i leukemije, a srednja dob pri dijagnozi prvog zloćudnog tumora je uglavnom 25 godina (37).

TP53 je tumor supresorski gen smješten na kratkom kraku 17. kromosoma čija se osnovna uloga zasniva na induciranju apoptoze, popravka DNA i promjena u metabolizmu (38). Mutacije koje zahvaćaju *TP53* u 74 % slučajeva su mutacije krivog smisla (engl. *missense*), ali mogu se očekivati i besmislene mutacije (engl. *nonsense*) te delecije (37), a njihova učestalost u karcinomu dojke varira između 15 i 71 % (39). Najzastupljeniji podtipovi su trostruko negativni karcinom dojke (80 %) te HER2-pozitivni tumori (72 %) (40).

1.5.4. *PTEN*

PTEN je tumor-supresor koji se nalazi na dugom kraku 10. kromosoma, a njegove nasljedne mutacije uzrok su Cowdenovog sindroma. Cowdenov sindrom autosomno je dominantni poremećaj koji zahvaća više organskih sustava s povećanim rizikom od tumora dojke, štitnjače, mozga, gastrointestinalnog sustava i drugih organa (41). Rizik za nastanak karcinoma dojke pri nasljednoj mutaciji ovoga gena iznosi 20-50 % (42).

1.5.5. *CHEK2*

CHEK2 gen kodira serin-treonin kinazu, koja se aktivira kao odgovor na oštećenje DNA (43). Gubitak njegove funkcije uglavnom je povezan s karcinomom dojke, a najučestalije promjene koje dovode do mutacije dotičnog gena jesu pogrešne mutacije te delecije i to 1100delC te I157T (44). Također, u određenim je istraživanjima dokazana 72 % pozitivnost karcinoma dojke na estrogenske receptore (45).

1.5.6. *ATM*

ATM gen djeluje kao regulator velikog broja proteina, primjerice p53, BRCA1, RAD17, NBS1 i dr. (46). Mutacija *ATM* gena rezultira rijetkom neurodegenerativnom bolešću, ataksija-teleangiektazijom. Postotak heterozigota u odrasloj populaciji iznosi 1-2 %, a homozigoti boluju od cerebelarne ataksije, teleangiektazije, imunodeficijencije te imaju povećani rizik od određenih zloćudnih bolesti. Također, varijanta V2424G smatra se patogenom i neke studije ističu njezin visoki rizik za razvoj karcinoma dojke (47).

1.5.7. *PALB2*

PALB2 gen kodira protein koji ima tumor supresorsku ulogu i sunazočan je BRCA2 proteinu u jezgri stanice (48). Smatra se partnerom i lokalizatorom BRCA2. Mutacije u jednom alelu dovode do razvoja karcinoma dojke, a u oba alela do nastanka Fanconijeve anemije (49). Određene studije pokazale su da rizik za karcinom dojke u nositelja *PALB2* mutacije bez srodnika s malignim oboljenjem iznosi 33 %, dok u nositelja s pozitivnom obiteljskom anamnezom iznosi 58 % (50).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog istraživanja je ispitati utjecaj prisustva patogenih ili vjerojatno patogenih varijanti u nekoliko penetrantnih gena visokog i umjerenog rizika (primjerice *BRCA1* i *2*, *TP53*, *PTEN*, *STK11*, *PALB2*, *ATM*, *BARD1*) te genima za popravak krivo sparenih baza (primjerice *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* i *PMS2*) na terapijske odluke (vrstu kirurškog zahvata te izbor sustavne terapije) u liječenju raka dojke.

3. ISPITANICI I METODE

Provedena je retrospektivna neintervencijska studija na Klinici za onkologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb u razdoblju od 1. veljače 2019. godine do 31. siječnja 2020. godine. U navedenom je razdoblju kroz genetičko savjetovalište prošla 161 osoba uslijed dijagnoze karcinoma i/ili obiteljske anamneze opterećene tumorskim bolestima, a multigeniskim panelom za nasljedni rak koji uključuje 113 gena, genetički je testirana 101 osoba sukladno smjernicama za upućivanje opisanim u uvodu ovoga rada.

Zdravih testiranih bilo je 24, a oboljelih s određenim karcinomom u osobnoj anamnezi 76. Testirane su 72 bolesnice s karcinomom dojke te po jedna osoba s adenokarcinomom kolona, adenokarcinomom rektuma, cistadenokarcinomom pankreasa te seroznim adenokarcinomom jajnika. Za jednu testiranu osobu nije bilo podataka o oboljenju. Pacijentice s rakom dojke bile su u različitim stadijima bolesti te je njih 11 testirano na početku neoadjuvantnog kemoterapijskog liječenja, 24 bolesnice bile su u tijeku liječenja metastatske bolesti, a 41 ispitanica na adjuvantnom liječenju.

Genetičko testiranje provedeno je u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Zagreb te Centru za translacijska i klinička istraživanja Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. DNA je izolirana iz periferne krvi te su biblioteke za sekvenciranje pripremljene korištenjem kompleta reagensa Nextera Flex for Enrichment optimiziranom metodom tagmentacije DNA. Sekvenciranje je provedeno na uređaju MiniSeq (Illumina). Analiza podataka je napravljena korištenjem Variant Studio programskog paketa i pretraživanjem sljedećih baza: ExAC, gnomAD, 1000 Genomes, ClinVar, OMIM, COSMIC, Pubmed. Za procjenu patogenosti mutacije korišteni su in silico programi SIFT, PolyPhen i Mutation Taster. Nadalje, prikupljeni su klinički podatci ispitanika s karcinomom uvidom u medicinsku dokumentaciju iz bolničkog informacijskog sustava dobivenu rutinskom obradom. Dijagnoza je postavljena temeljem nalaza slikovnih metoda, a potvrđeni su i dijagnoza i podtip tumora patohistološkim nalazom iz cilindra tkiva dobivenih biopsijom širokom iglom. Karcinom dojke podijeljen je u pet surogatnih podtipova prema karakteristikama statusa estrogenskih i progesteronskih receptora i proliferacijskog indeksa Ki-67, a prikazani su u Tablici 2 (51).

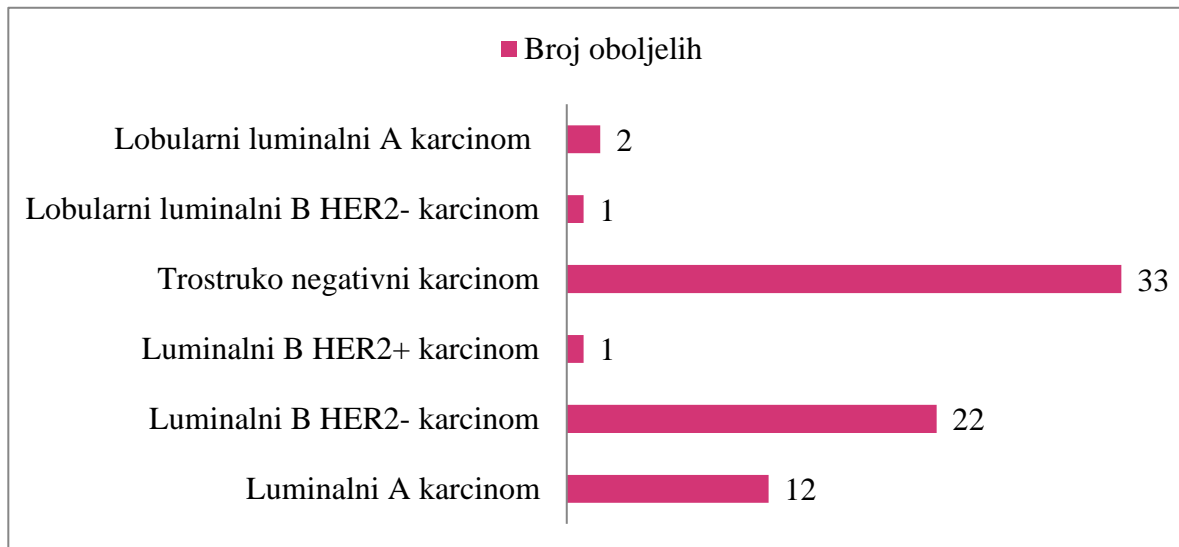
Tablica 2. Obilježja surogatnih podtipova karcinoma dojke

Podtip tumora	ER	PR	HER2	Ki-67
Luminalni tip A	pozitivan	pozitivan (>20%)	negativan	nizak (<20%)
Luminalni tip B HER2+	pozitivan	negativan ili nizak	pozitivan	visok (≥20%)
Luminalni tip B HER2-	pozitivan	negativan ili nizak	negativan	visok (≥20%)
HER2+ obogaćeni	negativan	negativan	pozitivan	
Trostruko negativan rak dojke	negativan	negativan	negativan	

S obzirom na opservacijski retrospektivni dizajn, bez intervencije i prikupljanja ili čuvanja uzoraka, grupni prikaz rezultata te zaštitu identiteta ispitanika šifrom, nije bio potreban dodatni informirani pristanak osim onih koji su već potpisali pri odluci o genetičkom testiranju i potrebi za sustavnim onkološkim liječenjem. Etičko povjerenstvo KBC-a Zagreb suglasno je s provođenjem ovoga istraživanja koje se vodi pod brojem 02/21 AG.

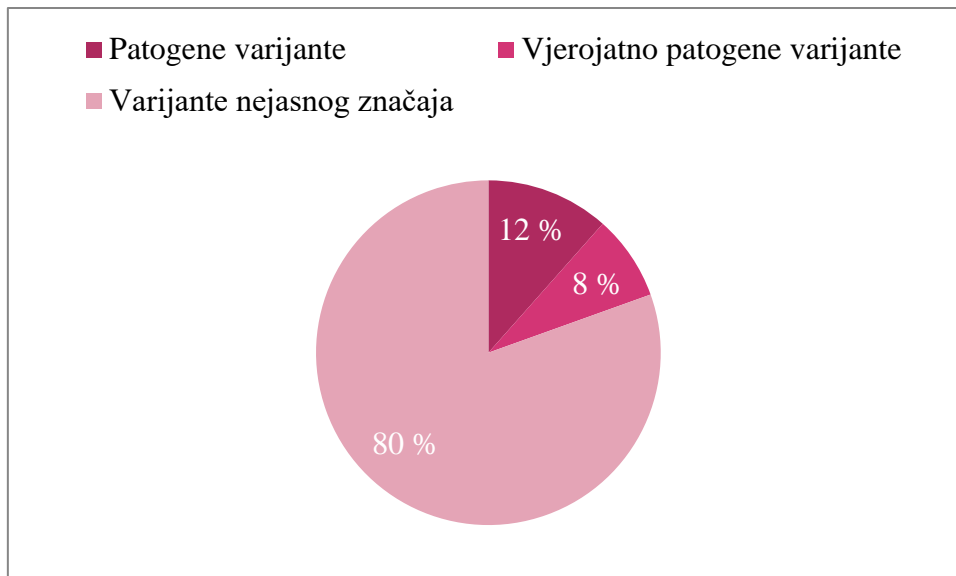
4. REZULTATI

U navedenom razdoblju prikupljeni su podatci o 101 testiranoj osobi, među kojima su bile 24 zdrave, 76 oboljelih, a za jednu osobu nije bilo kliničkih podataka. Maligni tumor dojke imale su 72 testirane pacijentice te je zabilježen 1 sarkom i 71 karcinom. Raspodjela podtipova karcinoma dojke među oboljelim bolesnicama prikazana je na Slici 1.

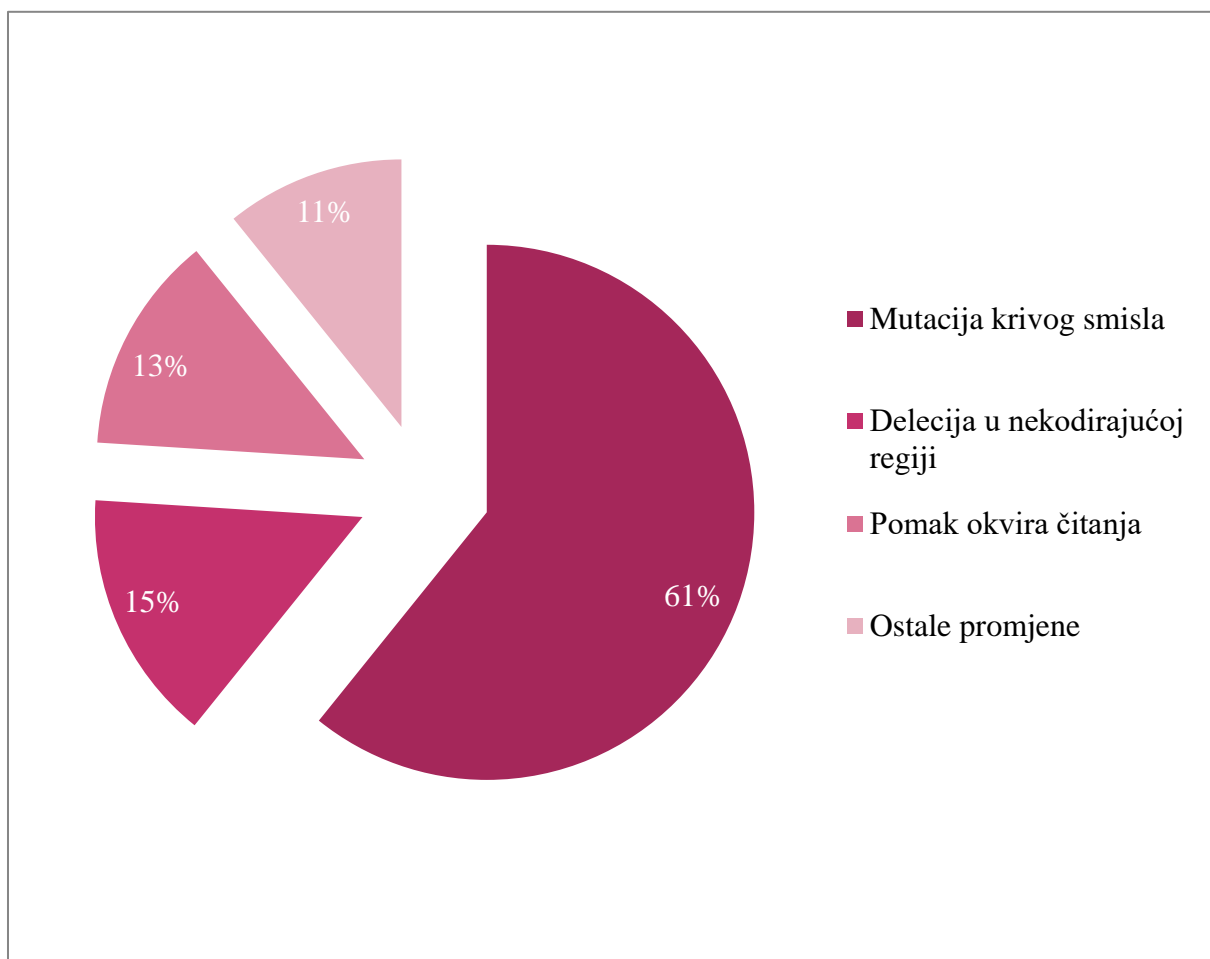


Slika 1. Raspodjela podtipova karcinoma dojke

Multigenkim panelom za nasljedni rak detektirana je u 94 ispitanika (93,07 %) određena mutacija, a ukupno je zabilježeno 250 mutacija. Otkriveno je 48 (19,20 %) patogenih i vjerojatno patogenih varijanti te 202 (80,80 %) varijante nejasnog značaja (Slika 2). Geni s visokom učestalošću potonjih varijanti jesu geni koji sudjeluju u popravku krivo sparenih baza (*MSH2*, *MSH3*, *MSH6* i *PMS2*) prisutni u 18 % uočenih mutacija te geni iz *FANC* obitelji (*FANCA*, *FANCB*, *FANCC*, *FANCD*, *FANCD2*, *FANCF*, *FANCG*, *FANCI*) primjećeni u 10 % svih mutacija. Najčešće promjene koje su uzrokovale mutacije jesu mutacija krivog smisla (60,80 %) koja je u 91,45 % slučajeva bila prisutna kod varijanata nejasnog značaja, delecija u nekodirajućoj regiji (15,20 %) te pomak okvira čitanja (13,20 %) sa 60,41 % u klasama 4 i 5 (Slika 3).



Slika 2. Udio promjena prisutnih u nalazima genetičkog testiranja



Slika 3. Distribucija najčešćih promjena koje su rezultirale mutacijama testiranih gena.

Od ukupno 72 pacijentice s tumorom dojke, njih 56 (77,78 %) imalo je pozitivnu obiteljsku anamnezu, 14 (19,44 %) negativnu obiteljsku anamnezu, a za 2 osobe podatci o malignim bolestima u obitelji su nepoznati. Podrobnija analiza obiteljskih anamneza pacijentica sa zloćudnim tumorom dojke te zdravih osoba prikazana je u Tablici 3.

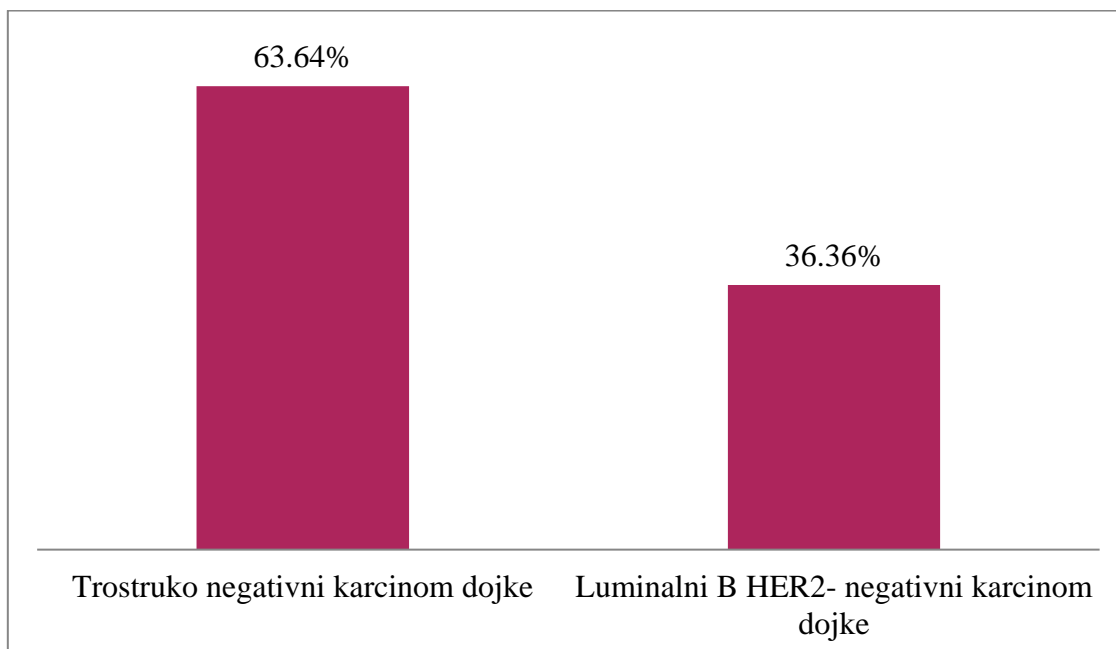
Tablica 3. Analiza obiteljskih anamneza pacijentica s karcinomom dojke i zdravih testiranih¹

OBITELJSKA ANAMNEZA	PACIJENTICE S TUMOROM DOJKE	ZDRAVI TESTIRANI¹
≥ 1 srodnika s rakom dojke	47,89 %	83,33 %
≥ 1 srodnika s rakom jajnika	16,67 %	8,33 %
≥ 1 srodnika s rakom gušterače	9,72 %	4,16 %
≥ 1 srodnika s rakom prostate	8,33 %	8,33 %
ostala učestala sijela tumora	pluća, želudac, bubreg, endometrij	debelo crijevo, pluća
negativna	19,44 %	4,17 %

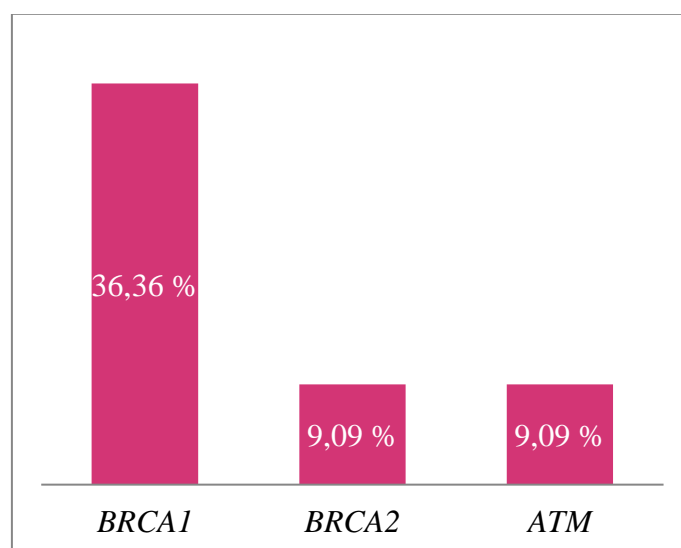
Rani i lokalno uznapredovali stadij karcinoma dojke imalo je 11 pacijentica te su testirane sa svrhom adekvatnog odabira vrste neoadjuvantnog sustavnog liječenja, kao i vrste i opsega kirurškog zahvata (radikalni nasuprot poštednog zahvata, profilaktička mastektomija kontralateralne dojke). Medijan njihovih godina iznosio je 38, a najzastupljeniji podtip karcinoma bio je trostruko negativni karcinom dojke prisutan u 7 pacijentica (63,64 %). Ostale 4 pacijentice (36,36 %) imale su luminalni B HER2 negativni karcinom dojke (Slika 4). Evaluacijom nalaza obiteljske anamneze zabilježen je u 8 bolesnica (72,73 %) podatak o bliskim srodnicima s dijagnozom raka, od čega je 6 (54,55 %) imalo rak dojke, a 2 (18,18 %) rak jajnika. Patogene varijante otkrivene su u 6 pacijentica (54,55 %) s lokalno

¹Ukupna suma prelazi vrijednost 100 % jer pojedina osoba može imati više srodnika s različitim sijelima karcinoma.

uznapredovalim rakom dojke, među kojima je 4 (36,36 %) imalo mutaciju *BRCA1* gena, 1 pacijentica (9,09 %) mutaciju *BRCA2* gena i 1 pacijentica (9,09 %) mutaciju *ATM* gena, a vjerojatno patogene varijante utvrđene su kod 2 bolesnice (18,18 %) (Slika 5). Varijante nejasnog kliničkog značaja bile su prisutne među 6 pacijentica (54,55 %).

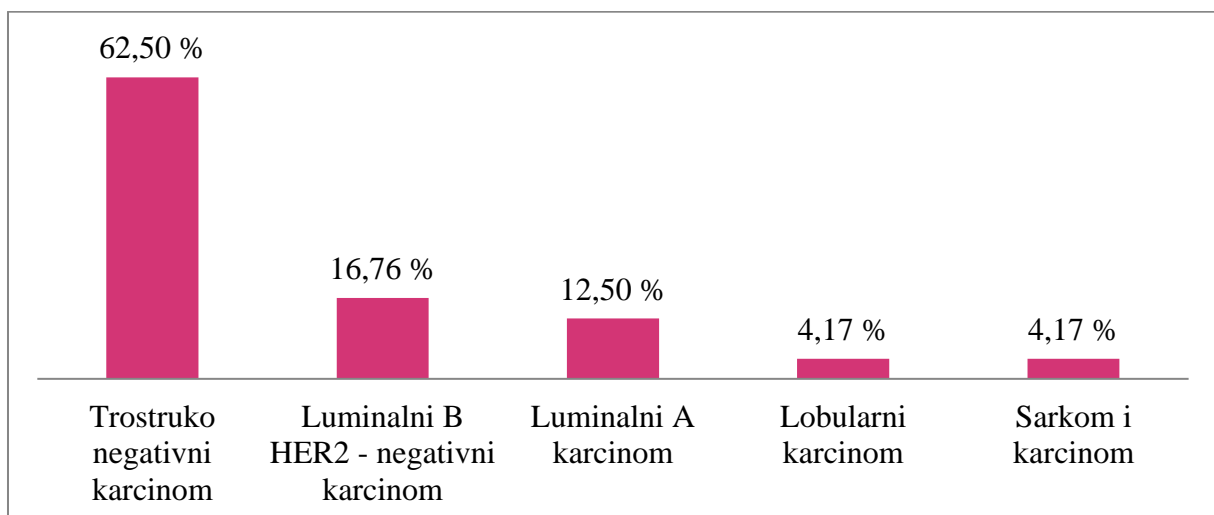


Slika 4. Zastupljenost podtipova karcinoma dojke u pacijentica testiranih tijekom neoadjuvantnog liječenja

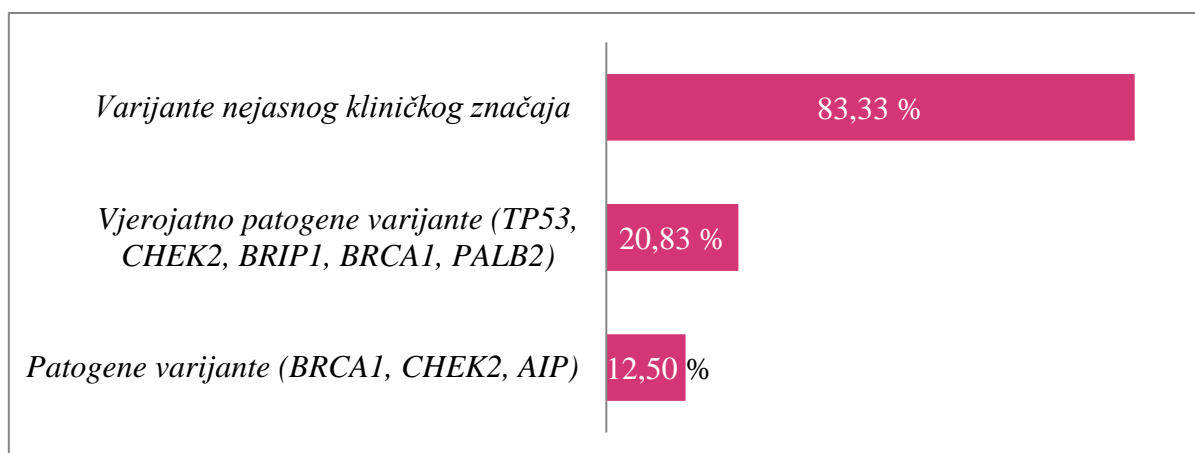


Slika 5. Patogene varijante gena utvrđene u pacijentica testiranih tijekom neoadjuvantnog liječenja raka dojke

S obzirom na pristigle nalaze genetičkog testiranja, pacijentice s utvrđenim *BRCA* mutacijama bile su podvrgnute radikalnoj mastektomiji umjesto pošteđenim kirurškim zahvatima, a jedna od terapijskih opcija u neoadjuvantnom liječenju jest i dodavanje soli platine koja povećava vjerojatnost postizanja patološkog kompletnog odgovora. Također, među testiranim bolesnicama s karcinomom dojke, njih 24 je imalo metastatsku bolest s medijanom godina 46. Patohistološki su nalazi potvrdili u 15 pacijentica (62,50 %) trostruko negativni karcinom dojke, u 4 pacijentice (16,76 %) luminalni B HER2 negativni tumor, u 3 pacijentice (12,50 %) luminalni A, kod 1 pacijentice (4,17 %) lobularni karcinom, a 1 je pacijentica (4,17 %) imala 2 istovremeno maligna tumora, karcinom dojke i mekotkivni sarkom (Slika 6). Bliske srodnike s malignim oboljenjima imalo je 15 bolesnica (62,50 %), od čega je 10 članova obitelji imalo rak dojke, a 3 rak jajnika. Patogene su mutacije otkrivene kod 8 pacijentica (33,33 %), a varijante nejasnog kliničkog značaja u 20 testiranih bolesnica (83,33 %). Patogene varijante gena *BRCA1*, *CHEK2* ili *AIP* detektirane su kod njih 3 (12,50 %). Nadalje, 5 pacijentica (20,83 %) imalo je vjerojatno patogene varijante u genima *TP53*, *CHEK2*, *BRIP1*, *BRCA1* i *PALB2* (Slika 7). Na temelju rezultata nađenih mutacija u posljednja dva spomenuta gena, dvjema je ženama odobreno milosrdno liječenje talazoparibom, PARP-inhibitorom. Istodobno, nekoliko je pacijentica tijekom provedbe neoadjuvantnog liječenja progrediralo u metastatski stadij, a s obzirom na utvrđene *BRCA* mutacije posljedično su primile talazoparib.



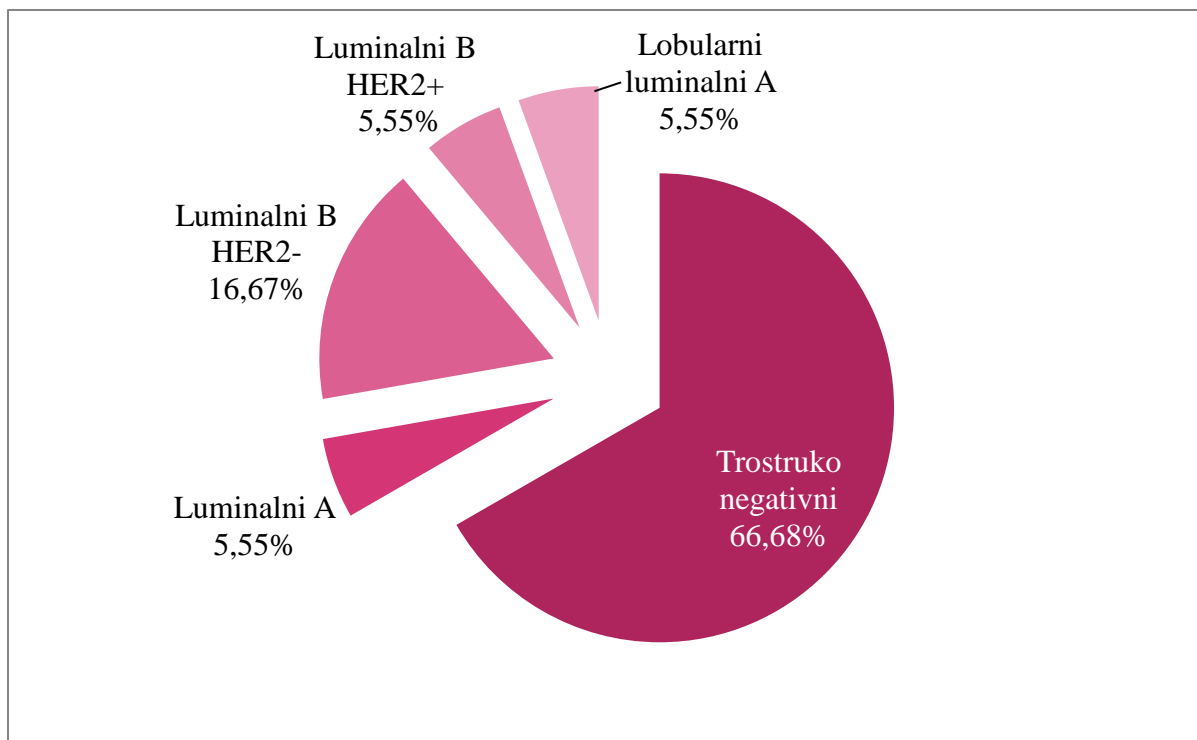
Slika 6. Distribucija podtipova karcinoma dojke u metastatskih bolesnica podvrgnutih genetičkom testiranju



Slika 7. Zastupljenost varijanti mutacija u bolesnica s metastatskom bolešću raka dojke²

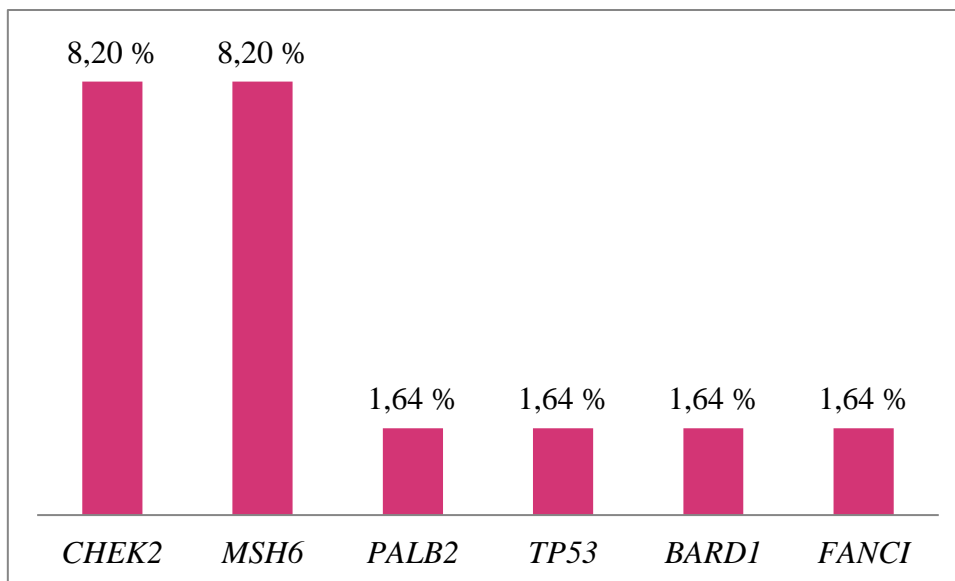
Analizom nositelja *BRCA* gena ustanovljena je ukupno 21 patogena ili vjerojatno patogena varijanta, a 1 varijanta nejasnog značaja. Nadalje, 20 (90,91 %) pacijenata imalo je razvijenu malignu bolest, a 2 (9,09 %) je bilo zdravo te je medijan godina nositelja *BRCA* gena iznosio 35,5. Pozitivnu obiteljsku anamnezu na malignu bolest imalo je 18 bolesnika (81,81 %), a njih 16 imalo je pozitivni karcinom dojke u prvom ili drugom koljenu. Serozni adenokarcinom jajnika ustanovljen je kod 1 pacijentice, kao i adenokarcinom kolona, a preostalih 18 pacijentica oboljelo je od karcinoma dojke, od čega je više od 60 % imalo trostruko negativni karcinom. Zastupljenost ostalih podtipova karcinoma dojke u *BRCA* nositeljica prikazana je na Slici 8.

²Ukupna suma prelazi vrijednost 100 % jer pojedina osoba može imati više varijanti mutacija istovremeno



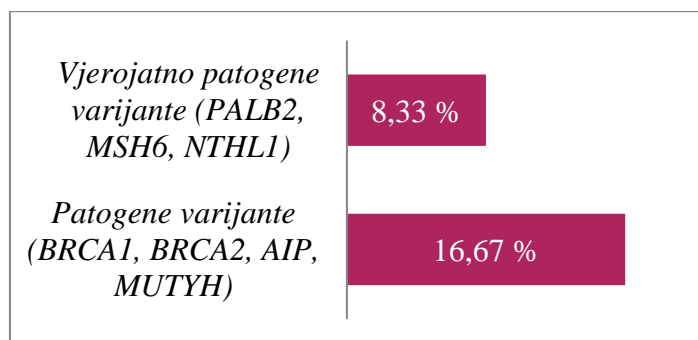
Slika 8. Udio pojedinih podtipova raka dojke u nositelja BRCA mutacija.

Daljnijim pregledom podataka, analizirana je 61 oboljela osoba s karcinomom dojke koja je bila podvrgnuta genetičkom testiranju, a nije bila nositeljica BRCA mutacije. Patogenu ili vjerojatno patogenu varijantu imalo je 18 osoba (29,51 %), od kojih su patogene varijante uočene u genima *HNF1A* (1,64 %), *AIP* (1,64 %), *CHEK2* (3,28 %), *ATM* (1,64 %), a vjerojatno patogene u *MSH6* genu (8,20 %), *CHEK2* (4,92 %), *PALB2* (1,64 %) te genima *TP53*, *BRIP1*, *MUTYH*, *BARD1*, *FANCI* i *NTHL1* (svaki po 1,64 %) (Slika 9).



Slika 9. Zastupljenost učestalijih patogenih i vjerojatno patogenih varijanti gena u oboljelih s karcinomom dojke, a nisu nositelji BRCA mutacije.

Nadalje, od 24 zdrave testirane osobe, 23 su imale pozitivnu obiteljsku anamnezu, a u 20 (86,96 %) je bio prisutan karcinom dojke u prvom i drugom koljenu. U svih zdravih testiranih uočena je varijanta nejasnog značaja, a 4 (16,67 %) su imale po 1 patogenu varijantu (*AIP*, *BRCA2*, *BRCA1* i *MUTYH*) te 2 (8,33 %) vjerojatno patogene varijante (*MSH6*, *PALB2*, *NTHL1*) (Slika 10).



Slika 10. Udio patogenih i vjerojatno patogenih varijanti gena u zdravih testiranih.

5. RASPRAVA

U provedenom smo istraživanju sa svrhom odabira adekvatne terapije genetičkim testiranjem dokazali mutacije u oboljelih te pravodobno prepoznali osobe pod rizikom za razvoj karcinoma dojke. Rezultati multigenetskog testiranja bili su izazovni za tumačenje jer mnogi geni uključeni u panel, kao i njihove varijante, nisu u potpunosti istraženi te je potrebno dodatno ulaganje u njihovo istraživanje. Najveći broj varijanti gena, njih 80,80 %, spada pod varijante nejasnog značaja. Njihova zastupljenost u našem istraživanju nije iznenađujuća s obzirom na 113 gena uključenih u panel. Iako klinički značaj ostaje nepoznat kliničarima i pacijentima, moguća je naknadna reklasifikacija identificiranih varijanti (52). Jedna retrospektivna kohortna studija spominje kako je 24,9 % varijanti nejasnog značaja reklasifikirano (u višu ili nižu klasu) unutar 12 godina (53). Stoga je važno ažurno pratiti smjernice kako bi se ispitanici vratili u savjetovalište u trenutku pojave novih dokaza te uputa za daljnje postupanje.

Najčešća promjena koja je dovela do mutacija ispitanih gena bila je mutacija krivog smisla koja je u 91,45 % slučajeva bila prisutna među varijantama nepoznatog značaja. Među klinički signifikantnim varijantama najzastupljenija promjena bila je pomak okvira čitanja, i to u 60,41 %, dok je u studiji s turskom, rumunjskom i grčkom populacijom ta vrsta promjene iznosila 34,2 % (54). Nadalje, rezultati našeg israživanja potvrđuju prethodne dokaze o povezanosti pozitivne obiteljske anamneze s rizikom za razvoj karcinoma dojke. Navodi se da rodbina žene s karcinomom dojke ima dvostruko do trostruko viši rizik od razvitka bolesti, osobito ako osoba ima sestru i majku s karcinomom dojke i/ili jajnika (55). Međutim, važno je, osim prisustva karcinoma dojke u obitelji, saznati specifična obilježja poput broja oboljelih, podtipova karcinoma te dobi pri oboljenju (56). U našem istraživanju nismo analizirali ostala obilježja radi nepotpunih rezultata obiteljske anamneze. U našoj populaciji je u 83,33 % zdravih testiranih bio potvrđen karcinom dojke u prvom ili drugom koljenu te su rezultati testiranja bili pozitivni na patogene i vjerojatno patogene varijante u 25 % ispitanika što ukazuje na važnost testiranja zdravih osoba.

Patogene varijante nasljednih mutacija u *BRCA1* i *BRCA2* genima odgovorne su za do 30 % nasljednih karcinoma dojke, osobito trostruko negativnog i bilateralnog raka dojke (57). U našem je istraživanju 25 % testiranih pacijentica s karcinomom dojke imalo mutaciju *BRCA* gena. Štoviše, u njih je potvrđena povezanost razvoja raka s nastankom u ranijoj dobi, osobito

prije 50-e godine i agresivnijim podtipom tumora, odnosno trostruko negativnim karcinomom dojke koji je bio prisutan u 66,68 % pacijentica.

Klinički signifikantne varijante u drugim genima mnogo su rjeđe, no identificirane su u ovom istraživanju te je dokazano da doprinose razvoju nasljednih karcinoma dojke. Najprisutnije patogene i vjerojatno patogene varijante ostalih gena jesu *MSH6* (8,20%) i *CHEK2* (8,20%) te *TP53*, *BARD1*, *FANCI*, *PALB2* i *ATM* (1,64 %). Mnoga su istraživanja dokazala povezanost određenih varijanti *CHEK2* gena i nasljednog raka dojke što se može vidjeti i u našoj testiranoj populaciji (58, 59, 60). Ono što iznenađuje jest visoki postotak pacijentica s mutacijama u genima za popravak krivo sparenih baza, osobito *MSH6* genu koji je jedan od gena koji su odgovorni za nastanak Lynchovog sindroma. Nekoliko je studija (61, 62) prepoznalo moguću povezanost između nositeljica mutiranog *MLH1* gena, koji također sudjeluje u nastanku Lynchovog sindroma, i povećanog rizika za nastanak raka dojke. Međutim, prema NCCN-ovim smjernicama zasada nema dovoljno dokaza za preporuke praćenja žena s Lynchovim sindromom te su potrebna daljnja ispitivanja povezanosti *MLH1*, *MSH2*, *MSH1* i *PMS2* gena i raka dojke.

Osim toga, zanimljiv je podatak o 10 % prisutnosti varijanata nejasnog značaja u genima iz FANC obitelji s prevladavanjem *FANCA* gena. *FANC* je grupa gena odgovornih za Fanconijevu anemiju (FA), a uključuje *FANCA* gen, *FANCB*, *FANCC*, *FANCD1* (koji se naziva i *BRCA2*), *FANCD2*, *FANCE*, *FANCG*, *FANCI*, *FANCI* (naziva se i *BRIP1*), *FANCL*, *FANCM* i *FANCN* (naziva se i *PALB2*) koji svoju ulogu imaju u popravljajući oštećene DNA (63). Značajna je regija *FANCA* gena jer na njoj često dolazi do gubitka heterozigotnosti u tumorima dojke. Rezultati istraživanja iznijeli su povezanost *FANCA* mutacije s povećanim rizikom od raka dojke, kao i doprinos razvoju obiteljskog raka dojke (64). Također, studija provedena u Finskoj dokazala je utjecaj mutacije *FANCM*-a na snažnu predispoziciju za razvoj karcinoma dojke (65). Na temelju toga otvoren je veliki prostor za istraživanje mogućih utjecaja navedenih gena na karcinom dojke te utvrđivanje kliničkih smjernica za daljnje postupanje kod nositelja tih gena.

Nadalje, jedan od ciljeva našeg istraživanja bio je pronaći patogene i vjerojatno patogene varijante gena prije donošenja plana liječenja za pacijente koji su podvrgnuti neoadjuvantnom liječenju s obzirom na to da se BRCA status proučava kao prediktivni pokazatelj terapijskog odgovora na derivate platine i ključni je čimbenik u kirurškom odlučivanju (66, 67). Na malom broju bolesnika otkrili smo značajan broj patogenih i vjerojatno patogenih varijanti s

visokom kliničkom relevantnošću. Nasljedne mutacije *BRCA1* i *BRCA2* prevladavaju kod pacijenata s TNBC-om, podtipom tumora koji ima najviše koristi od novih terapijskih mogućnosti. Znakovite su kliničke studije koje se provode u svijetu sa svrhom primjene PARP inhibitora tijekom neoadjuvantnog liječenja. Naime, jedna od njih obuhvatila je 20 ispitanica koje su imale pozitivnu *BRCA* mutaciju te su primile neoadjuvantni peroralni PARP-inhibitor talazoparib jednom dnevno kroz 6 mjeseci prije definitivnog zahvata za rani rak dojke. Određivanjem ostatnog tumora, RCB-a, 53% pacijenata je bilo bez ostatnog tumora (RCB-0), a 63% je imalo minimalnu ostatnu bolest (RCB-I) što ukazuje na izvrsnu prognozu bolesnica (68).

Nadalje, u retrospektivnim i prospektivnim opservacijskim studijama dokazano je da bilateralna profilaktička mastektomija smanjuje incidenciju karcinoma dojke za 90 % ili više u nositelja *BRCA* mutacija (69). Zlatni standard u tom slučaju jest mastektomija s poštedom kože i/ili bradavice (SSM/NSM) kojom se uklanja svo žljezdano tkivo dojke do prsnoga mišića ili, ukoliko baza mamile nije zahvaćena tumorom, s poštedom bradavica-mamila kompleksa (69, 16). Sukladno tome, u našoj maloj skupini sve su bolesnice s mutacijama *BRCA1* i *BRCA2* bile podvrgnute radikalnoj mastektomiji, a ne poštednom operativnom zahvatu bez obzira na dobar odgovor na neoadjuvantnu kemoterapiju.

Naša je studija obuhvatila i pacijentice s metastatskim karcinomom dojke kako bi im se omogućila milosrdna primjena PARP-inhibitora s obzirom na to da su dva PARP inhibitora, olaparib i talazoparib, odobreni 2018. godine od strane FDA za pacijente s karcinomom dojke u uznapređovalom stadiju i dokazanom *BRCA* mutacijom, a nekoliko mjeseci kasnije u 2019. godini odobreni su i od EMA-e (70). Naime, dvjema našim pacijenticama koje su bile nositeljice patogenih varijanti *BRCA1* i *PALB2* gena odobren je talazoparib koji još uvijek dobivaju. Rezultati studije OlympiAD pokazali su da je medijan preživljenja bio znatno duži u skupini koja je primala olaparib (7 mjeseci), nego u skupini sa standardnom terapijom (4,2 mjeseca), a rizik za progresiju bolesti bio je manji za 42% (71). Također, EMBRACA studija s 431 ispitanikom pokazala je produljenje preživljenja bez progresije primjenom talazopariba (72).

6. ZAKLJUČAK

Ovim istraživanjem ustanovljena je važnost genetičkog testiranja u pacijentica s karcinomom dojke radi odlučivanja o daljnjim postupcima liječenja, ali i zdravih ispitanika opterećenih obiteljskom anamnezom raka dojke.

Na malom broju tek dijagnosticiranih bolesnica otkriven je značajan broj patogenih i vjerojatno patogenih varijanti s visokom kliničkom relevantnošću od kojih svaka peta bolesnica s rakom dojke nije imala pozitivnu obiteljsku anamnezu. Patogene varijante *BRCA* gena opažene su u bolesnica s trostruko negativnim karcinomom dojke, podskupinom tumora koja može imati najviše koristi od novih terapijskih opcija. Također, prednosti multigeniskog testiranja imaju i pacijentice koje su ranije oboljele te se temeljem nalaza odlučuje hoće li ići na preventivne operativne zahvate druge dojke. Posljedično, *BRCA* nositeljice češće su podvrgnute radikalnim mastektomijama radi smanjenja rizika od razvoja novoga karcinoma.

Osim toga, bolesnice u metastatskom stadiju imaju mogućnost primjene PARP-inhibitora ukoliko se utvrde patogene ili vjerojatno patogene varijante u genima *BRCA1* i *2*, a iznimno i *PALB2*.

Konačno, ovo istraživanje pokazuje kako je potrebno u genetičko testiranje za nasljedni rak dojke osim *BRCA* gena uključiti i ostale relevantne gene koji su dokazani kod nemalog broja bolesnica.

7. ZAHVALE

Željela bih od srca zahvaliti svojoj mentorici doc. dr. sc. Nataliji Dedić Plavetić na prenesenom znanju, stručnim savjetima, korekcijama, inspiraciji i brizi tijekom pisanja ovoga rada.

Također, hvala roditeljima, majci Biserki i ocu Damiru, sestri Tamari, svim prijateljima i kućnoj molitvenoj zajednici Angelus koji su me pratili podrškom i molitvom tijekom ovog izazovnog, ali divnog studiranja.

8. LITERATURA

1. Chung DC, Haber DA. Principles of Clinical Cancer Genetics. Boston: Springer; 2010.
2. Ponder BA. Cancer genetics. *Nature*. 2001;411(6835):336-341. doi:10.1038/35077207
3. Gamulin S, Marušić M, Kovač Z i sur. Patofiziologija. 6. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2005.
4. Vrdoljak E, Šamija M, Kusić Z, Petković M, Gugić D, Krajina Z. Klinička onkologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2013.
5. Turnpenny P, Ellard S. Emeryjeve osnove medicinske genetike. 14. izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2011.
6. Harari D, Yarden Y. Molecular mechanisms underlying ErbB2/HER2 action in breast cancer. *Oncogene*. 2000;19(53):6102-6114. doi:10.1038/sj.onc.1203973
7. Cooper GM. The Cell: A Molecular Approach. 2. izd. Sunderland: Sinauer Associates; 2000.
8. Woods DB, Vousden KH. Regulation of p53 function. *Exp Cell Res*. 2001;264(1):56-66. doi:10.1006/excr.2000.5141
9. Elledge RM, Allred DC. Prognostic and predictive value of p53 and p21 in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1998; 52:79-98.
<https://doi.org/10.1023/A:1006163101948>
10. Nagy R, Sweet K, Eng C. Highly penetrant hereditary cancer syndromes. *Oncogene*. 2004;23(38):6445-6470. doi:10.1038/sj.onc.1207714
11. Pastink A, Eeken JC, Lohman PH. Genomic integrity and the repair of double-strand DNA breaks. *Mutat Res*. 2001;480-481:37-50. doi:10.1016/s0027-5107(01)00167-1
12. Lieber MR. The mechanism of double-strand DNA break repair by the nonhomologous DNA end-joining pathway. *Annu Rev Biochem*. 2010;79:181-211. doi:10.1146/annurev.biochem.052308.093131
13. Livraghi L, Garber JE. PARP inhibitors in the management of breast cancer: current data and future prospects. *BMC Med*. 2015;13:188. Published 2015 Aug 13. doi:10.1186/s12916-015-0425-1
14. Boland CR, Goel A. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology*. 2010;138(6):2073-2087.e3. doi:10.1053/j.gastro.2009.12.064

15. Herceg Z, Vaissière T. Epigenetic mechanisms and cancer: an interface between the environment and the genome. *Epigenetics*. 2011;6(7):804-819.
doi:10.4161/epi.6.7.16262
16. Beketić-Orešković L, Šantek F. Karcinom dojke, multidisciplinarno liječenje. Zagreb: Medicinska naklada; 2018.
17. Shay JW, Wright WE. Telomerase activity in human cancer. *Curr Opin Oncol*. 1996;8(1):66-71. doi:10.1097/00001622-199601000-00012
18. Katabathina VS, Menias CO, Prasad SR. Imaging and Screening of Hereditary Cancer Syndromes. *Radiol Clin North Am*. 2017;55(6):1293-1309.
doi:10.1016/j.rcl.2017.06.011
19. Nagy R, Sweet K, Eng C. Highly penetrant hereditary cancer syndromes. *Oncogene*. 2004;23(38):6445-6470. doi:10.1038/sj.onc.1207714
20. Stein GS, Luebbers KP. *Cancer: Early Detection, Treatment and Recovery*. 2. izd. Hoboken: Wiley-Blackwell. 2019.
21. Rahner N, Steinke V. Hereditary cancer syndromes. *Dtsch Arztebl Int*. 2008;105(41):706-714. doi:10.3238/arztebl.2008.0706
22. Mahon SM. The Three-Generation Pedigree: A Critical Tool in Cancer Genetics Care. *Oncol Nurs Forum*. 2016;43(5):655-660. doi:10.1188/16.ONF.655-660
23. Brkljačić B, Dedić Plavetić N, Haller H, Levanat S, Podolski P, Šerman LJ. Hrvatske smjernice za genetičko savjetovanje i testiranje na nasljedni rak dojke i jajnika. Zagreb: Medicinska naklada; 2016.
24. Vlajčić Z, Stanec Z. Smjernice za onkoplastično liječenje raka dojke stručnih društava HLZ-a. Zagreb: Hrvatski liječnički zbor; 2018
25. McLean N, Delatycki MB, Macciocca I, Duncan RE. Ethical dilemmas associated with genetic testing: which are most commonly seen and how are they managed?. *Genet Med*. 2013;15(5):345-353. doi:10.1038/gim.2012.138
26. Gradishar Wj. *Optimizing breast cancer management: Multi-gene panel testing in breast cancer management*. Cham: Springer. 2018.
27. Plon SE, Eccles DM, Easton D, i sur. Sequence variant classification and reporting: recommendations for improving the interpretation of cancer susceptibility genetic test results. *Hum Mutat*. 2008;29(11):1282-1291. doi:10.1002/humu.20880
28. Pasche B. Recent advances in breast cancer genetics. *Cancer Treat Res*. 2008;141:1-10. doi:10.1007/978-0-387-73161-2_1

29. Apostolou P, Fostira F. Hereditary breast cancer: the era of new susceptibility genes. *Biomed Res Int.* 2013;2013:747318. doi:10.1155/2013/747318
30. Mehrgou A, Akouchekian M. The importance of BRCA1 and BRCA2 genes mutations in breast cancer development. *Med J Islam Repub Iran.* 2016;30:369.
31. Somasundaram K. BRCA1 and BRCA1 Genes and Inherited Breast and/or Ovarian Cancer: Benefits of Genetic Testing. *Indian J Surg Oncol.* 2010;1(3):245-249. doi:10.1007/s13193-011-0049-7
32. Marchina E, Fontana MG, Speziani M, i sur. BRCA1 and BRCA2 genetic test in high risk patients and families: counselling and management. *Oncol Rep.* 2010;24(6):1661-1667. doi:10.3892/or_00001031
33. Lubinski J, Phelan CM, Ghadirian P, i sur. Cancer variation associated with the position of the mutation in the BRCA2 gene. *Fam Cancer.* 2004;3(1):1-10. doi:10.1023/B:FAME.0000026816.32400.45
34. Honrado E, Benítez J, Palacios J. Histopathology of BRCA1- and BRCA2-associated breast cancer. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2006;59(1):27-39. doi:10.1016/j.critrevonc.2006.01.006
35. Krammer J, Pinker-Domenig K, Robson ME, i sur. Breast cancer detection and tumor characteristics in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Breast Cancer Res Treat.* 2017;163(3):565-571. doi:10.1007/s10549-017-4198-4
36. Armes JE, Egan AJ, Southey MC, i sur. The histologic phenotypes of breast carcinoma occurring before age 40 years in women with and without BRCA1 or BRCA2 germline mutations: a population-based study. *Cancer.* 1998;83(11):2335-2345.
37. Guha T, Malkin D. Inherited *TP53* Mutations and the Li-Fraumeni Syndrome. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2017;7(4):a026187. doi:10.1101/cshperspect.a026187
38. GeneCards - the human gene database [Internet]. *TP53* gene; [pristupljeno 20.4.]. Dostupno na: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=TP53>
39. Børresen-Dale AL. *TP53* and breast cancer. *Hum Mutat.* 2003;21(3):292-300. doi:10.1002/humu.10174
40. Darb-Esfahani S, Denkert C, Stenzinger A, i sur. Role of *TP53* mutations in triple negative and *HER2*-positive breast cancer treated with neoadjuvant anthracycline/taxane-based chemotherapy. *Oncotarget.* 2016;7(42):67686-67698. doi:10.18632/oncotarget.11891

41. Lynch ED, Ostermeyer EA, Lee MK, i sur. Inherited mutations in PTEN that are associated with breast cancer, cowden disease, and juvenile polyposis. *Am J Hum Genet.* 1997;61(6):1254-1260. doi:10.1086/301639
42. Seo M, Cho N, Ahn HS, Moon HG. Cowden syndrome presenting as breast cancer: imaging and clinical features. *Korean J Radiol.* 2014;15(5):586-590. doi:10.3348/kjr.2014.15.5.586
43. GeneCards - the human gene database [Internet]. CHEK2 gene; [pristupljeno 22.4.]. Dostupno na: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CHEK2>
44. Apostolou P, Papatotiriou I. Current perspectives on CHEK2 mutations in breast cancer. *Breast Cancer (Dove Med Press).* 2017;9:331-335. Published 2017 May 12. doi:10.2147/BCTT.S111394
45. Cybulski C, Huzarski T, Byrski T, i sur. Estrogen receptor status in CHEK2-positive breast cancers: implications for chemoprevention. *Clin Genet.* 2009;75(1):72-78. doi:10.1111/j.1399-0004.2008.01111.x
46. GeneCards - the human gene database [Internet]. ATM gene; [pristupljeno 18.4.]. Dostupno na: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ATM>
47. Jerzak KJ, Mancuso T, Eisen A. Ataxia-telangiectasia gene (*ATM*) mutation heterozygosity in breast cancer: a narrative review. *Curr Oncol.* 2018;25(2):e176-e180. doi:10.3747/co.25.3707
48. GeneCards - the human gene database [Internet]. PALB2 gene; [pristupljeno 21.4.]. Dostupno na: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=PALB2>
49. Evans MK, Longo DL. PALB2 mutations and breast-cancer risk. *N Engl J Med.* 2014;371(6):566-568. doi:10.1056/NEJMe1405784
50. Antoniou AC, Casadei S, Heikkinen T, i sur. Breast-cancer risk in families with mutations in PALB2. *N Engl J Med.* 2014;371(6):497-506. doi:10.1056/NEJMoa140038
51. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, et al. Strategies for subtypes--dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Ann Oncol.* 2011;22(8):1736-1747. doi:10.1093/annonc/mdr304
52. Slavin TP, Manjarrez S, Pritchard CC, Gray S, Weitzel JN. The effects of genomic germline variant reclassification on clinical cancer care. *Oncotarget.* 2019;10(4):417-423. Published 2019 Jan 11. doi:10.18632/oncotarget.26501

53. Mersch J, Brown N, Pirzadeh-Miller S, i sur. Prevalence of Variant Reclassification Following Hereditary Cancer Genetic Testing. *JAMA*. 2018;320(12):1266-1274. doi:10.1001/jama.2018.13152
54. Tsaousis GN, Papadopoulou E, Apeessos A, et al. Analysis of hereditary cancer syndromes by using a panel of genes: novel and multiple pathogenic mutations. *BMC Cancer*. 2019;19(1):535. Published 2019 Jun 3. doi:10.1186/s12885-019-5756-4
55. Bain C, Speizer FE, Rosner B, Belanger C, Hennekens CH. Family history of breast cancer as a risk indicator for the disease. *Am J Epidemiol*. 1980;111(3):301-308. doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a112901
56. Brewer HR, Jones ME, Schoemaker MJ, Ashworth A, Swerdlow AJ. Family history and risk of breast cancer: an analysis accounting for family structure. *Breast Cancer Res Treat*. 2017;165(1):193-200. doi:10.1007/s10549-017-4325-2
57. Valencia OM, Samuel SE, Viscusi RK, Riall TS, Neumayer LA, Aziz H. The Role of Genetic Testing in Patients With Breast Cancer: A Review. *JAMA Surg*. 2017;152(6):589-594. doi:10.1001/jamasurg.2017.0552
58. Bell DW, Kim SH, Godwin AK, i sur. Genetic and functional analysis of CHEK2 (CHK2) variants in multiethnic cohorts. *Int J Cancer*. 2007;121(12):2661-2667. doi:10.1002/ijc.23026
59. Rare, evolutionarily unlikely missense substitutions in CHEK2 contribute to breast cancer susceptibility: results from a breast cancer family registry case-control mutation-screening study. *Breast Cancer Res*. 2011;13(1):R6. Published 2011 Jan 18. doi:10.1186/bcr2810
60. Dufault MR, Betz B, Wappenschmidt B, i sur. Limited relevance of the CHEK2 gene in hereditary breast cancer. *Int J Cancer*. 2004;110(3):320-325. doi:10.1002/ijc.20073
61. Harkness EF, Barrow E, Newton K, i sur. Lynch syndrome caused by MLH1 mutations is associated with an increased risk of breast cancer: a cohort study. *J Med Genet*. 2015;52(8):553-556. doi:10.1136/jmedgenet-2015-103216
62. Dowty JG, Win AK, Buchanan DD, i sur. Cancer risks for MLH1 and MSH2 mutation carriers. *Hum Mutat*. 2013;34(3):490-497. doi:10.1002/humu.22262
63. GeneCards - the human gene database [Internet]. FANCA gene; [pristupljeno 29.3.]. Dostupno na: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=FANCA>

64. Abbasi S, Rasouli M. A rare FANCA gene variation as a breast cancer susceptibility allele in an Iranian population. *Mol Med Rep.* 2017;15(6):3983-3988.
doi:10.3892/mmr.2017.6489
65. Kiiski JI, Tervasmäki A, Pelttari LM, i sur. FANCM mutation c.5791C>T is a risk factor for triple-negative breast cancer in the Finnish population. *Breast Cancer Res Treat.* 2017;166(1):217-226. doi:10.1007/s10549-017-4388-0
66. Garutti M, Pelizzari G, Bartoletti M, i sur. Platinum Salts in Patients with Breast Cancer: A Focus on Predictive Factors. *Int J Mol Sci.* 2019;20(14):3390. Published 2019 Jul 10. doi:10.3390/ijms20143390
67. Smith KL, Isaacs C. BRCA mutation testing in determining breast cancer therapy. *Cancer J.* 2011;17(6):492-499. doi:10.1097/PPO.0b013e318238f579
68. Litton JK, Scoggins ME, Hess KR, i sur. Neoadjuvant Talazoparib for Patients With Operable Breast Cancer With a Germline BRCA Pathogenic Variant. *J Clin Oncol.* 2020;38(5):388-394. doi:10.1200/JCO.19.01304
69. Alaofi RK, Nassif MO, Al-Hajeili MR. Prophylactic mastectomy for the prevention of breast cancer: Review of the literature. *Avicenna J Med.* 2018;8(3):67-77.
doi:10.4103/ajm.AJM_21_18
70. OncologyPRO [Internet]. Current approvals as of May 2019; [pristupljeno 13.6.2020.]. Dostupno na: <https://oncologypro.esmo.org/oncology-in-practice/anti-cancer-agents-and-biological-therapy/parp-inhibition-and-dna-damage-response-ddr/parp-inhibitors/clinical-activity/breast-cancer/current-approvals>
71. Robson M, Im SA, Senkus E, i sur. Olaparib for Metastatic Breast Cancer in Patients with a Germline BRCA Mutation. *N Engl J Med.* 2017;377(6):523-533.
doi:10.1056/NEJMoa1706450
72. Litton JK, Rugo HS, Ettl J, i sur. Talazoparib in Patients with Advanced Breast Cancer and a Germline BRCA Mutation. *N Engl J Med.* 2018;379(8):753-763.
doi:10.1056/NEJMoa1802905

9. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 10. studenog 1995. godine u Zagrebu gdje sam pohađala osnovnu i srednju školu. Nakon završene II. gimnazije, upisala sam 2014. godine Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Sudjelovala sam u organizacijskom timu studentskog kongresa ZIMS 2016. godine te napisala nekoliko stručnih članaka za studentski časopis Medicinar. Volontirala sam u raznim aktivnostima socijalnog i duhovno-religioznog karaktera, a dvije sam godine volontirala u Udruzi Krijesnica na pedijatrijskim onkološkim odjelima kao Mladi mentor. Tečno govorim engleski, a služim se osnovama njemačkog i francuskog jezika.