

## ΟΛΓΑ ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΙΔΟΥ

**“Ιστολογικά και επιδημιολογικά χαρακτηριστικά γυναικών με καρκίνο μαστού-ωοθηκών που φέρουν μεταλλάξεις στα γονίδια BRCA1/2”**

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Ο καρκίνος του μαστού είναι σοβαρή και δυνητικά θανατηφόρα νόσος και είναι η πιο συχνή κακοήθεια στο γυναικείο πληθυσμό. Αποτελεί τη δεύτερη συχνότερη αιτία των θανάτων από κακοήθειες νεοπλασίες στις γυναίκες. Στην Ελλάδα κάθε χρόνο περίπου 6.500 γυναίκες εμφανίζουν τη νόσο. Περίπου 70% των περιστατικών καρκίνου μαστού εμφανίζονται σε γυναίκες χωρίς προηγούμενο οικογενειακό ιστορικό για τη νόσο και θεωρούνται σποραδικές κακοήθειες. Σε ένα ποσοστό γυναικών (30%), όμως, ο καρκίνος του μαστού έχει κληρονομική ή οικογενή αιτιολογία. Οι γενετικοί παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων και των σημαντικότερων σχετικών γονιδίων (BRCA1, BRCA2), είναι δυνατόν να ευθύνονται μέχρι και για το 10% των περιπτώσεων καρκίνου του μαστού στις αναπτυγμένες χώρες. Ο καρκίνος των ωοθηκών αποτελεί τη 2<sup>η</sup> αιτία θανάτου από γυναικολογικό καρκίνο μετά τον καρκίνο του μαστού και την 4<sup>η</sup> αιτία θανάτου στο γυναικείο πληθυσμό.

Όπως προκύπτει από τις μελέτες, το 50% του κληρονομικού καρκίνου του μαστού και η πλειονότητα του κληρονομικού καρκίνου των ωοθηκών αποδίδονται σε μεταλλάξεις δυο γονιδίων: BRCA1 και BRCA2. Σύμφωνα με τα τελευταία δεδομένα, ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του μαστού και των ωοθηκών σε γυναίκες με μετάλλαξη στο γονίδιο BRCA1 είναι 60-85% και 15-40%, αντίστοιχα. Ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του μαστού και των ωοθηκών σε γυναίκες που φέρουν μετάλλαξη στο γονίδιο BRCA2 υπολογίζεται σε 42-51% και 13-21%, αντίστοιχα, ενώ η νόσος εμφανίζεται συνήθως σε μεγαλύτερη ηλικία. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων οι όγκοι που σχετίζονται με μετάλλαξη στο γονίδιο BRCA1 είναι συνήθως βασικού τύπου, χαμηλής διαφοροποίησης και υψηλότερου σταδίου. Το κυριότερο ίσως χαρακτηριστικό των όγκων αυτών είναι ότι δεν εκφράζουν υποδοχείς οιστρογόνων (ER-) και προγεστερόνης (PR-) σε ποσοστό έως 90%. Επιπρόσθετα, στην πλειονότητα τους οι όγκοι αυτοί δεν εκφράζουν υποδοχείς HER2 (HER2-). Τα νεοπλάσματα που σχετίζονται με BRCA2 έχουν παρόμοια έκφραση ορμονικών υποδοχέων με τις σποραδικές περιπτώσεις.

Σκοπός της μελέτης: Να δημιουργήσουμε ένα πρότυπο προσέγγισης ασθενών με οικογενή ιστορικό καρκίνου του μαστού ή των ωοθηκών για γενετική ανάλυση και να γίνει προσπάθεια συλλογής στοιχείων (παθολογοανατομικών, επιδημιολογικών και γενετικών) στις γυναίκες με μεταλλάξεις στα γονίδια BRCA1 και 2 στη Ελλάδα για πρώτη φορά με απώτερο σκοπό τη βελτίωση της γενετικής συμβουλευτικής.

Υλικό και Μέθοδοι: Σε συνεργασία με τέσσερα μεγάλα νοσοκομεία της Αθήνας και της Θεσσαλονίκης: «Αλεξάνδρα», «Άγιος Σάββας», «Μεταξά» και «Παπαγεωργίου» θα μελετηθούν γυναίκες ηλικίας από 19 έως 72 ετών οι οποίες ανήκουν στην ομάδα υψηλού κίνδυνου ανάπτυξης κληρονομικού καρκίνου μαστού/ωοθηκών. Ύστερα από προσεκτική μελέτη του οικογενειακού ιστορικού θα ληφθεί δείγμα αίματος για γενετικό έλεγχο από το πιο επιβεβαρωμένο φαινοτυπικά άτομο της οικογένειας. Θα ελεγχθούν δυο γονίδια (BRCA1 και BRCA2) υπεύθυνα για τη ανάπτυξη κληρονομικού συνδρόμου καρκίνου των μαστού/ωοθηκών.

Στατιστική ανάλυση: Για την περιγραφή των αποτελεσμάτων θα χρησιμοποιηθούν οι μέθοδοι της περιγραφικής και συμπερασματολογικής στατιστικής. Επίσης για τις γραφικές παραστάσεις κατανομών συχνοτήτων των ποιοτικών μεταβλητών (η έκφραση των υποδοχέων, βαθμός διαφοροποίησης κλπ) θα χρησιμοποιηθούν ιστογράμματα, κυκλικά διαγράμματα και ραβδογράμματα με τη βοήθεια του ειδικού στατιστικού προγράμματος SPSS 17.0. Ως στατιστικό επίπεδο αναφοράς θα χρησιμοποιηθεί το p-value 0.05 και 95% διάστημα

εμπιστοσύνης. Οι μη-παραμετρικές δοκιμασίες θα είναι η δοκιμασία του Wilcoxon (Mann-Whitney), Kruskal-Wallis και η δοκιμασία  $\chi^2$ .

Αποτελέσματα: Η μελέτη διήρκησε 3 χρόνια, από τον Απρίλιο του 2009 έως τον Ιούνιο 2012. Από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης οι 129 ασθενείς είναι με διαγνωσμένο καρκίνο του μαστού 70.5% και 30 (16.4%) ασθενείς με καρκίνο των ωθηκών από το σύνολο των 183 ατόμων θετικών για μεταλλάξεις στα γονίδια BRCA1/2. Η εμφάνιση και των δυο νεοπλασμάτων στην ίδια ασθενή παρατηρήθηκε σε 23 (12.6%) περιπτώσεις και το 5.47% των γυναικών με μεταλλάξεις στα προαναφερόμενα γονίδια εμφάνισαν αμφοτερόπλευρο καρκίνο του μαστού. Η μέση ηλικία εμφάνισης της συγκεκριμένης κακοήθειας είναι 41.1 ετών (19-72 ετών) και τα υψηλότερα ποσοστά (65.2%) παρατηρούνται στις ηλικίες από 30 έως 49 ετών ενώ η μέση ηλικία διάγνωσης καρκίνου των ωθηκών σε άτομα με μεταλλάξεις γονιδίων BRCA1 και BRCA2 είναι 48.7 έτη. Όσο μικραίνει η ηλικία διάγνωσης καρκίνου του μαστού τόσο αυξάνεται η πιθανότητα ύπαρξης αρνητικών οιστρογονικών και προγεστερονικών υποδοχέων όπως και του υποδοχέα HER-2 με τα μεγαλύτερα ποσοστά να παρατηρούνται σε ηλικίες κάτω των 35 ετών. Η ίδια αρνητική συσχέτιση υπάρχει και με το βαθμό διαφοροποίησης. Ο πιο συχνός ιστολογικός τύπος καρκίνου του μαστού στην παρούσα εργασία είναι το διηθητικό πορογενές καρκίνωμα (73.6%) ενώ επίσης παρατηρούνται αυξημένα ποσοστά μυελοειδούς καρκινώματος (12.4%=15/121), δεδομένα τα οποία συμφωνούν με τα ευρήματα της βιβλιογραφίας. Όσον αφορά στον καρκίνο των ωθηκών σε όλες τις περιπτώσεις παρατηρήθηκαν τα επιθηλιακά καρκινώματα (σύνολο 50 γυναίκες) με εξαίρεση τα τρία περιστατικά όπου ο ιστολογικός τύπος του καρκίνου παρέμεινε άγνωστος. Το 72.9% (102/128) των ασθενών με μεταλλάξεις στο γονίδιο BRCA1 είχαν αρνητικούς οιστρογονικούς υποδοχείς και έχουν τετραπλάσια πιθανότητα να μην εκφράζουν τους οιστρογονικούς υποδοχείς σε σχέση με τους ασθενείς που φέρουν μετάλλαξη στο γονίδιο BRCA2. Και για τα δυο γονίδια το ποσοστό έλλειψης του HER2 υποδοχέα στην παρούσα διπλωματική εργασία είναι 76.8% (109/142) με τα αυξημένα ποσοστά αρνητικών HER-2/neu υποδοχέων να έχουν οι γυναίκες που φέρουν τη μετάλλαξη στο γονίδιο BRCA1 (98/125=69.5%), χωρίς αυτό να έχει στατιστικά σημαντική διαφορά σε σύγκριση με τις BRCA2 μεταλλάξεις (p-value 0.136).

Συμπεράσματα: Από τη παρούσα μελέτη προκύπτουν τα στοιχεία για τους ασθενείς που φέρουν μεταλλάξεις στα γονίδια BRCA1/2 παρόμοια με αυτά της διεθνούς βιβλιογραφίας. Τα άτομα αυτά και κυρίως οι γυναίκες που φέρουν μεταλλάξεις στο γονίδιο BRCA1 έχουν αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης τριπλά αρνητικού καρκίνου του μαστού, χαμηλότερης διαφοροποίησης και ως συνέπια χειρότερης πρόγνωσης.

## ABSTRACT

***Introduction:*** Breast cancer is a serious and potentially fatal disease and is the most common malignancy in women. It is the second leading cause of death from malignancies in women. In Greece every year about 6,500 women develop the disease. Approximately 70% of breast cancer cases occur in women with no previous family history of the disease and are considered sporadic malignancies. However, in a 30% of women breast cancer has hereditary or familial etiology. Genetic factors, including important related genes (BRCA1, BRCA2), may be responsible for up to 10% of breast cancer cases in developed countries. Ovarian cancer is the second cause of death from gynecologic cancer after breast cancer and the fourth leading cause of death in the female population.

As is clear from the studies, 50% of hereditary breast cancer and the majority of hereditary ovarian cancer are attributed to mutations of two genes: BRCA1 and BRCA2. According to the latest data, the risk of breast and ovarian cancer in women with mutation in BRCA1 gene is 60-85% and 15-40%, respectively. The risk of breast and ovarian cancer in women who carry a mutation in the BRCA2 gene is estimated at 42-51% and 13-21%, respectively, and the disease usually occurs in older age. In the majority of cases the tumors which associated with a mutation in BRCA1 gene usually have the basic type, low grade and higher stage. The major characteristic of these tumors is that they do not express estrogen (ER-) and progesterone (PR-) receptors in up to 90%. Additionally, the majority of these tumors do not express receptors HER2 (HER2-). Neoplasms which associated with BRCA2 have similar expression of hormonal receptors with the sporadic cases.

***Aim of study:*** To create a standard approach in patients with familial history of breast or ovarian cancer for genetic analysis and to attempt collection the data (pathological, epidemiological and genetic) in women with mutations in BRCA1 and 2 genes in Greece for the first time with the aim of improving genetic counseling.

***Material and Methods:*** In collaboration with four major hospitals in Athens and Thessaloniki: "Alexandra", "Agios Savvas", "Metaxa" and "Papageorgiou" women aged 19 to 72 years who are at high risk of developing hereditary breast/ovarian will be studied. After careful analysis of family history a blood sample of the most phenotypically heavy person of family will take for genetic testing. We tested two genes (BRCA1 and BRCA2) responsible for the development of hereditary breast/ovarian cancer syndrome.

***Statistical analysis:*** Methods of descriptive statistics will be used for a description of the results. Histograms, pie charts and bar charts will be used also for the description of qualitative variables (the receptor expression, differentiation, etc.) with the help of specific statistical program SPSS 17.0. P-value of 0.05 and 95% confidence interval will be used as statistical benchmarks. Non-parametric tests such as Wilcoxon test (Mann-Whitney), Kruskal-Wallis test and the X<sup>2</sup> will be used as well.

***Results:*** The study lasted three years, from April 2009 to June 2012. From the results of this study the 129 patients are diagnosed with breast cancer and 30 70.5% (16.4%) patients with ovarian cancer from the total 183 positive individuals for mutations in BRCA1/2 genes. The appearance of both tumors in the same patient was observed in 23 (12.6%) cases and 5.47% of women with mutations in the genes had bilateral breast cancer. The mean age of the onset of this malignancy is 41.1 years (19-72 years) and the highest percentage (65.2%) are observed between the ages of 30 to 49 years while the average age at diagnosis of ovarian cancer in individuals with mutations in BRCA1 and BRCA2 genes is 48.7 years. The smaller is the age at diagnosis of breast cancer the higher is the likelihood of both negative estrogen and progesterone receptors as well as the HER-2 receptor with the highest rates observed at ages below 35 years. The same negative correlation exists with the grade of tumors.

The most common histologic type of breast cancer in the present study is the invasive ductal carcinoma (73.6%) and there is an increased proportion of medullary carcinoma also (12.4% = 15/121). As regards in ovarian cancer, the epithelial carcinomas observed in all cases (total of 50 women) except for the three cases where the histologic type of cancer remained unknown. 72.9% (102/128) of patients with mutations in the BRCA1 gene were negative for estrogen receptors. The percentage of overexpression of HER2 receptor is 76.8% (109/142) for both genes in this thesis with increased rates for women who carry a mutation in the gene BRCA1 to have negative HER-2/neu receptor (98/125 = 69.5%), without a statistically significant difference compared to BRCA2 mutations (p-value 0.136).

Conclusions: From this study generated data on patients carrying mutations in the genes BRCA1/2 similar to those of the literature. These people especially women who carry mutations in the BRCA1 gene have an increased likelihood of triple negative breast cancer, high grade and consistent poorer prognosis.