



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



ΤΜΗΜΑ ΔΗΜΟΣΙΑΣ
ΚΑΙ ΕΝΙΑΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ
DEPARTMENT OF PUBLIC
AND ONE HEALTH
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ UNIVERSITY OF THESSALY

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΤΙΤΛΟΣ

**«Ο ρόλος των γενετικών βιοδεικτών BRCA1 & BRCA2 στον καρκίνο του
μαστού»**

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ ΦΟΙΤΗΤΗ : Καστρινάκη Δέσποινα Ειρήνη

ΑΜ : 2220004, 00124

**ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ ΕΠΙΒΛΕΠΟΝΤΑ : Σάτρα Μαρία, Επίκουρη Καθηγήτρια
Μοριακής Γενετικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας**

ΜΑΙΟΣ 2024

Ευχαριστίες

Θα ήθελα αρχικά να ευχαριστήσω τους γονείς μου που με έχουν βοηθήσει και στηρίζει σε όλες μου τις αποφάσεις και ειδικά στις δύσκολες στιγμές. Επίσης να ευχαριστήσω την αδερφή μου, τις φίλες μου και τις ξαδέρφες μου, οι οποίες έπρεπε να με ακούνε να παραπονιέμαι και να αγχώνομαι καθόλη την διάρκεια της συγγραφής αυτής της πτυχιακής. Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καθηγητές οι οποίοι με βοήθησαν να αναπτύξω τις γνώσεις στα μαθήματα που με ενδιέφεραν και ιδιαίτερα την κυρία Σάτρα για την πολύτιμη βοήθεια και την καθοδήγησή της στα μαθήματα και στην πτυχιακή εργασία.

Δεν θα μπορούσα να τα είχα καταφέρει χωρίς εσάς. Σας ευχαριστώ.

Περίληψη (μέχρι 300 λέξεις)

Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί μια από τις πιο συχνές ασθένειες που πλήττουν γυναίκες και άντρες παγκοσμίως. Οι γενετικοί βιοδείκτες και η ταυτοποίηση τους που σχετίζονται με την πιθανότητα ανάπτυξης καρκίνου του μαστού έχει βελτιώσει και εμβαθύνει την κατανόηση για την λειτουργία της ασθένειας, προσφέροντας πληροφορίες και πρόσβαση σε εξατομίκευση στην πρόληψη, διάγνωση και την θεραπεία της. Μεταξύ άλλων βιοδεικτών, οι μεταλλάξεις των γονιδίων BRCA1 και BRCA2 έχουν οριστεί και αναγνωρισθεί ως σημαντικοί ακέραιοι γενετικοί βιοδείκτες που χρησιμεύουν αποτελεσματικά στην αξιολόγηση της κληρονομικότητας του καρκίνου του μαστού. Η παρούσα πτυχιακή εργασία εστιάζει στην λειτουργία των γονιδίων BRCA ως γενετικοί βιοδείκτες, στις πολλαπλές χρήσεις τους για την έγκαιρη διάγνωση, την πρόγνωση και θεραπεία του καρκίνου του μαστού

Λέξεις Κλειδιά (έως 5):

Καρκίνος του μαστού, BRCA1, BRCA2, γενετικοί βιοδείκτες

Abstract

Breast cancer is one of the most commonly widespread and diseases affecting women and men worldwide. Genetic biomarkers and their identification, which is related to the probability of developing breast cancer, have improved the understanding of the molecular mechanisms underlying the disease, offering information and access to personalized prevention, diagnosis and treatment. Among other biomarkers, BRCA1 and BRCA2 gene mutations have been defined and recognized as important and integral genetic biomarkers that effectively serve to assess breast cancer heredity. This thesis focuses on the function of BRCA genes as genetic biomarkers, their multiple uses for the early diagnosis, prognosis, and treatment of breast cancer.

Key Words:

Breast cancer, BRCA1, BRCA2, genetic biomarkers

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Ευχαριστίες.....	σελ.2
Περίληψη /Λέξεις Κλειδιά	σελ.3
Abstract/Key Words.....	σελ.3
Πίνακας Περιεχομένων	σελ.4
Συνοτομογραφίες/Συντμήσεις.....	σελ.5
 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	 σελ. 6
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο : Καρκίνος του μαστού.....	 σελ. 7
1.1 Χαρακτηριστικά κληρονομικών καρκίνων	σελ. 8
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο :Βιοδείκτες BRCA1 & BRCA2.....	σελ 11
2.1 SCREENING	σελ. 13
2.2 Επικύρωση.....	σελ. 18
2.3 BRCA.....	σελ. 22
2.4 Συστήματα Επιδιόρθωσης DNA.....	σελ. 30
2.5 Γενετικός Έλεγχος.....	σελ. 34
2.6 Γονίδια υψηλής διεισδυτικότητας και παραλλαγές BRCA.....	σελ. 43
2.7 Θεραπεία του καρκίνου του μαστού που σχετίζονται με BRCA1/BRCA2.....	σελ. 47
 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	 σελ. 58
BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	σελ. 60

Συντομογραφίες/Συντμήσεις

BC: καρκίνος του μαστού

OC: καρκίνος των ωοθηκών

HBOC: κληρονομικός καρκίνος του μαστού και των ωοθηκών

DDR: απόκριση σε βλάβη DNA

SSR: επιδιόρθωση μονής έλικας DNA

DSR: επιδιόρθωση διπλής έλικας DNA

NER: επιδιόρθωση εκτομής νουκλεοτιδίων

BER: επισκευή εκτομής βάσεων

MSI: μικροδορυφορική αστάθεια

HRR: ομόλογη επισκευή ανασυνδυασμού

NHEJ: μη-ομόλογες οδοί τελικής σύνδεσης

RRM: αμφιτερόπλευρη μαστεκτομή

MBC: μεταστατικός καρκίνος του μαστού

P/LP: παθογόνες ή πιθανώς παθογόνες

ICD: ανοσοκυτταρικός θάνατος

OS: συνολική επιβίωση

RRSO: σαλπινγο-ωοθηκεκτομή

MIC: μετρονομική χημειοθεραπεία

VUS: παραλλαγές αβέβαιης σημασίας

UB: ουβικουιτινοποίηση

VEGR: αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα

EPC: ενδοθηλιακά πρόδρομα κύτταρα

TEC: ενδοθηλιακά κύτταρα όγκου

Tregs: ρυθμιστικά T- λεμφοκύτταρα

Angs: αντιγόνα

DCs: δένδριτικά κύτταρα

BCSCs: βλαστοκύτταρα καρκίνου

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο καρκίνος γενικότερα αποτελεί μια από τις κύριες αιτίες θανάτου στον κόσμο. Τα ποσοστά των ανθρώπων που έχουν διαγνωστεί ανά χρόνο αυξάνονται, το οποίο είναι εν μέρη θετικό, αλλά παρόλα αυτά επιβαρύνεται συνεχώς το σύστημα της υγείας και μειώνεται η ποιότητα ζωής. Ο καρκίνος του μαστού είναι παγκοσμίως ο πιο διαδεδομένος καρκίνος στις γυναίκες [1]. Με βάση τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO), ο καρκίνος του μαστού ήταν ο πιο συχνός καρκίνος στις γυναίκες σε 157 από τις 185 χώρες το 2022, με 2,3 εκατομμύρια γυναίκες σε σύνολο να διαγνώστηκαν και περίπου 670.000 πέθαναν [2]. Παρόλο που η ύπαρξη του καρκίνου του μαστού έχει αναγνωριστεί τουλάχιστον από τον 17^ο αιώνα, η διασύνδεση του με γενετικούς παράγοντες δεν έγινε μέχρι τον 20^ο αιώνα, μετά από εκτενείς μελέτες σε γυναίκες με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού. Μέσω αυτών των μελετών ανακαλύφθηκε η σχέση μεταξύ γονιδίων BRCA1 και BRCA2 και του αυξημένου κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου του μαστού [1]. Από τότε έχουν γίνει πολλές μελέτες και έρευνες για να ανακαλυφθούν, διαπιστωθούν και να επικυρωθούν διάφοροι γενετικοί και γονιδιωματικοί βιοδείκτες για τον καρκίνο του μαστού ώστε να γίνει πιο εύκολη η πρόγνωση, η πρόληψη, η διάγνωση αλλά και η θεραπεία της νόσου[1,3]. Είναι αναγκαία η πλήρης κατανόηση της λειτουργικής σημασίας των γενετικών βιοδεικτών ώστε να αξιολογηθεί η χρησιμότητά τους. Οι βιοδείκτες γενικότερα μπορούν να ταξινομηθούν, με βάση την κλινική εγκυρότητα, την λειτουργική εργαστηριακή ανάλυση και τα γενετικά επιδημιολογικά στοιχεία, σε αδύναμους ή σε ισχυρούς[3]. Μεταξύ διάφορων παραγόντων που έχουν ανακαλυφθεί και επικυρωθεί, τα BRCA1 και BRCA2 γονίδια έχουν αποδειχθεί να έχουν την μεγαλύτερη επιρροή, ορίζοντάς τους ως σημαντικούς κλινικούς βιοδείκτες ως προς την διαχείριση του κινδύνου και την θεραπεία. Περίπου το 15%-20% των περιπτώσεων καρκίνου του μαστού είναι λόγω γενετικών παραγόντων. Οι γυναίκες με BRCA1 ή/και BRCA2 έχουν αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης καρκίνου του μαστού κατά 55%-66% και πιθανότητα ανάπτυξης καρκίνου των ωοθηκών κατά 15%-58%, ποσοστά που εξαρτώνται από διάφορους συνδυαστικούς παράγοντες[1,3,4].

Gene	BC Risk *	OC Risk*	Other Cancer Risk
BRCA1	60—66%	41-58%	Pancreatic cancer
BRCA2	55-61%	15-16%	Pancreatic and Prostate cancer
ATM	20—40%	2-3%	Pancreatic, Prostate cancer
		Not	
BARD1	20-40%	Assessed	Insufficient Evidence
	Not		
BRIP1	Assessed	5-15%	Insufficient Evidence
		Not	
CDH1	41-60%	Assessed	Hereditary diffuse gastric cancer
		Not	
CHEK2	20-40%	Assessed	Colorectal, kidney, thyroid cancer
PALB2	41-60%	3—5%	Pancreatic cancer
		Not	
PTEN	40-60%	Assessed	Colorectal, renal, thyroid cancer
RAD51C	20-40%	10-15%	Insufficient Evidence
RAD51 D	20-40%	10-20%	Insufficient Evidence
		Not	Brain tumours, sarcoma, acute leukaemia, adrenocortical
TP53	60%	Assessed	tumours

Table 1

Ποσοστά προδιάθεσης για γονίδια βιοδείκτες για τον καρκίνο του μαστού

Genes associated with breast and ovarian cancers. *lifetime risk. Genetic Basis of Breast (BC) and Ovarian Cancer (OC).

Ο έλεγχος γονιδιωματικών και γενετικών βιοδεικτών δίνει την ικανότητα να ανιχνευθούν μοριακές αλλαγές σε γονίδια, ομάδες γονιδίων ή και σε ολόκληρα γονιδιώματα με αποτέλεσμα να εντοπίζονται άτομα με μία ασθένεια που μπορεί να μην είναι εμφανής κλινικά[3]. Συνήθως η αξιολόγηση του κίνδυνου εμφάνισης καρκίνου το μαστού βασίζεται στο οικογενειακό ιστορικό και ειδικά στην παρουσία καρκίνου του μαστού σε νεαρά άτομα[1].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1ο :Καρκίνος του μαστού

Ο καρκίνος του μαστού χαρακτηρίζεται συχνά ως ένα γενετικό νόσημα το οποίο προκαλείται από αλλαγές στα γονίδια, μία ή περισσότερες μεταλλάξεις[5,6]. Τα γονίδια είναι υπεύθυνα για την επιλογή παραγωγής πρωτεϊνών ανάλογα με τον τύπο και τις ανάγκες του κυττάρου. Φυσικά στον ανθρώπινο οργανισμό μπορούν να υπάρξουν λάθη και βλάβες για διάφορες αιτίες όπως την γήρανση του οργανισμού, την έκθεση στο ήλιο, λόγω περιβάλλοντος

ή και επιλογών lifestyle (δίαιτα, ορμόνες, εργασία κτλ.). Έτσι υφίστανται γονίδια που έχουν ως κύρια λειτουργία την επανόρθωση βλαβών στα κύτταρα[6].

Η καρκινογένεση προκαλείται από μία ή περισσότερες αλλαγές σε γονίδια που είναι υπεύθυνα για την ρύθμιση της κυτταρικής διαίρεσης, πολλαπλασιασμού και της απόπτωσης[5]. Υπάρχουν δύο κύριες κατηγορίες γονιδίων των οποίων οι μεταλλάξεις προκαλούν καρκίνο: τα ογκογονίδια και τα ογκοκατασταλτικά γονίδια. Τα ογκογονίδια αποτελούν μεταλλαγμένα πρώτο-ογκογονίδια. Ο ρόλος των πρώτο-ογκογονιδίων είναι να κωδικοποιούν πρωτεΐνες που βοηθούν στον έλεγχο διαίρεσης και διέλευσης από τα στάδια του κυτταρικού κύκλου. Τα πρώτο-ογκογονίδια διαβεβαιώνουν την σωστή λειτουργία, αριθμό και πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Τα πρώτο-ογκογονίδια είναι απαραίτητα για την σωστή λειτουργία του οργανισμού ενώ τα ογκογονίδια προκαλούν την ογκογένεση. Τα ογκογονίδια με την ανώμαλη έναρξη της κυτταρικής διαίρεσης και αναστολή της απόπτωσης, δηλαδή αναστολή προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου, δημιουργούνται μεγάλες μάζες κυττάρων, όγκοι[5,6]. Ο φυσιολογικός ρόλος των ογκοκατασταλτικών γονιδίων είναι η κωδικοποίηση ρυθμιστών στον κυτταρικό κύκλο και διαμεσολαβούν στην φυσιολογική απόπτωση των κυττάρων, με αποτέλεσμα την ρύθμιση της διαίρεσης και πολλαπλασιασμού των κυττάρων. Η λανθασμένη λειτουργία των ογκοκατασταλτικών γονιδίων προκαλεί την ανεξέλεγκτη αύξηση των κυττάρων, προωθώντας έτσι την καρκινογένεση[5].

Ο καρκίνος του μαστού διαχωρίζεται σε κληρονομικό, ο καρκίνος που εμφανίζεται συχνότερα σε συγγενής των καρκινοπαθών, σε οικογενή, δηλαδή καρκίνο του μαστού που εμφανίζεται χωρίς να είναι γνωστός ο γονιδιακός ή γενετικός βιοδείκτης, και τέλος ο σποραδικός καρκίνος του μαστού που δεν μπορεί να βασιστεί σε κάποιο κληρονομικό παράγοντα[5,6]. Ο σποραδικός καρκίνος του μαστού είναι η πιο συχνή μορφή καρκίνου του μαστού που εμφανίζεται συνήθως. Γενικότερα οι οικογενείς καρκίνοι του μαστού παρουσιάζουν πολλαπλές διαφορές σε σύγκριση με τον σποραδικό καρκίνο το μαστού ανεξαρτήτως το φύλου.

1.1 Χαρακτηριστικά κληρονομικών καρκίνων

Ο κληρονομικός καρκίνος παρουσιάζει ισχυρή γονοφαινοτυπική συσχέτιση, δηλαδή για παράδειγμα με τους φορείς μεταλλάξεων στο γονίδιο BRCA1 εμφανίζεται αυξημένη εκπροσώπηση καρκίνων βασικού φαινοτύπου ενώ στους φορείς μεταλλάξεων στο γονίδιο BRCA2 εμφανίζεται αυξημένη εκπροσώπηση καρκίνων μικροθελώδους τύπου στους άνδρες [3,4]. Στους κληρονομικούς καρκίνους εμφανίζεται συνήθως πρόωπη έναρξη σε νεαρή ηλικία,

κυρίως πριν τα 50, τείνει να είναι πιο επιθετική μορφή καρκίνου σε σχέση με τον σποραδικό καρκίνο του μαστού και πιο συχνά κληρονομούνται οι αλλαγές γονιδίων από τους γονείς στα παιδιά, με την διαίρεση των γαμετών, όπου και οι γονείς και τα παιδιά έχουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του μαστού αλλά και καρκίνο των ωοθηκών, του παγκρέατος και του προστάτη[5,7].

Γενικότερα υπάρχουν πολλοί βιοδείκτες υψηλής σημασίας για τον καρκίνο του μαστού και μπορεί να είναι γονίδια ή και υποδοχείς των γονιδίων, ακόμα και πρωτεΐνες παραγμένες από μεταλλαγμένα γονίδια. Η έκφραση υποδοχέων όπως του υποδοχέα οιστρογόνων (ER), του υποδοχέα προγεστερόνης (PR) και του υποδοχέα 2 του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (HER2) αποτελούν σημαντικούς βιοδείκτες που έχουν ενταχθεί κυρίως σε εξετάσεις για την παρακολούθηση των σταδίων του όγκου του καρκίνου του μαστού.[7,8] Το σύμπλεγμα του οιστρογόνου (E2) με τον οιστρογόνο υποδοχέα (ER) ενεργοποιεί αρκετούς «οδούς» που σχετίζονται με την πρόοδο του κύκλου κυττάρων και την πρόληψη της απόπτωσης, ενώ το σύμπλεγμα E2/ERβ προκαλεί, σε πολλές περιπτώσεις, την απόπτωση των κυττάρων[9]. Ο υποδοχέας προγεστερόνης (PR) είναι μια πρωτεΐνη που συνδέεται με την προγεστερόνη, μια ορμόνη που εμπλέκεται στη ρύθμιση του αναπαραγωγικού συστήματος και λειτουργεί ως μεταγραφικός παράγοντας, ρυθμίζοντας την έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων όταν δεσμεύεται από την προγεστερόνη. Ο υποδοχέας 2 του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (HER2) είναι μια πρωτεΐνη που παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων που ανήκει στην οικογένεια των υποδοχέων της τυροσινικής κινάσης ErbB και είναι επίσης γνωστή ως ErbB2 ή νευρογλίνη. Με την χρήση γενετικών ελέγχων, έχουν αναγνωριστεί ως ισχυροί βιοδείκτες 4 υπότυποι του καρκίνου του μαστού όπου η αναγνώρισή τους σχετίζεται και με την χρήση των βιοδεικτών των υποδοχέων ER, PR και HER2. Η ύπαρξη έκφρασης των υποδοχέων οιστρογόνων και του υποδοχέα προγεστερόνης χρησιμοποιούνται για την ευρύς ομαδοποίηση των υπότυπων 'luminal A' και 'luminal B', των ομάδων υπερέκφρασης του υποδοχέα επιδερμικού αυξητικού παράγοντα και στην περίπτωση τις μη-έκφρασης για τους δείκτες σε τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού (όπου ισχύει ER-, PR- και HER2-). Στο luminal A ισχύει η ύπαρξη υποδοχέα οιστρογόνων (ER+) ή και η έκφραση του υποδοχέα προγεστερόνης (PR+) με μη-έκφραση του υποδοχέα 2 του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (HER2-). Στο luminal B ισχύει έκφραση ER+ ή/και PR+ με έκφραση HER2+. Σε περίπτωση υπερέκφρασης του υποδοχέα επιδερμικού αυξητικού παράγοντα ισχύει η μη-έκφραση των υποδοχέων οιστρογόνων ή και του υποδοχέα της προγεστερόνης (ER- ή/και PR- με HER2+). Με βάση την χρήση των συγκεκριμένων βιοδεικτών για την κατηγοριοποίηση

των όγκων στον καρκίνο του μαστού έχει βελτιωθεί η παρακολούθηση και ο καθορισμός της πιθανότητας επιβίωσης. Για παράδειγμα, όγκοι που είναι ‘βασικοί’ σε σποραδικό καρκίνο και όγκοι που εμφανίζουν υπερέκφραση HER2 έχουν θετικά ποσοστά επιβίωσης[8]. Οι όγκοι που σχηματίζονται σε άτομα που είναι φορείς μεταλλάξεων των γονιδίων BRCA παρουσιάζουν διαφορετική δομή και χαρακτηρίστηκα σε σχέση με τους όγκους που σχηματίζονται σε σποραδικούς καρκίνους του μαστού. Πιο συγκεκριμένα, σε σύγκριση με του όγκους σε περίπτωση σποραδικού καρκίνου, σε φορείς BRCA1 μεταλλάξεων οι όγκοι είναι συνήθως τριπλά αρνητικοί, ενώ οι όγκοι των φορέων BRCA2 μεταλλάξεων παρουσιάζουν υψηλότερα επίπεδα θετικότητας υποδοχέων οιστρογόνων[7,8].

Επειδή τα γονίδια BRCA κληρονομούνται με αυτοσωματικό κυρίαρχο μοτίβο σημαίνει πως το παιδί μπορεί να κληρονομήσει είτε μια μετάλλαξη BRCA1 ή/και BRCA2 από τον έναν γονέα (ετερόζυγος φορέας) είτε δυο μεταλλάξεις και από τους δύο γονείς (ομόζυγος φορέας)[5,7]. Συγκεκριμένα, πιο συχνά κληρονομείται η αδρανοποίηση των οδών επιδιόρθωσης η οποία έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει την πρόγνωση και δημιουργεί την απαίτηση για εξατομίκευση της θεραπείας με στόχευση την ευαισθησία σε θεραπείες που βλάπτουν ή καταστρέφουν το DNA ή ανοσοθεραπείες[3,4,5,6]. Οι καρκίνοι του μαστού που εμφανίζονται λόγω μετάλλαξης του γονιδίου BRCA1 εκφράζουν στους όγκους τους κυρίως τριπλό αρνητικό φαινότυπο, περίπου στο 70% με 90% των περιπτώσεων, ενώ στους όγκους που σχετίζονται με μετάλλαξη BRCA2 γονιδίου εμφανίζουν τριπλό αρνητικό φαινότυπο 16% με 23%. Συχνότερο φαινόμενο στους όγκους των καρκίνων του μαστού που βασίζονται στην μετάλλαξη BRCA2 είναι η έκφραση ορμονικών υποδοχέων με κύρια ταξινόμηση των όγκων τους στο luminal A στο περίπου 35% και στο luminal B στο 40% των περιπτώσεων[8,9].

Επίσης, τα άτομα με κληρονομικό καρκίνο του μαστού που είναι φορείς των BRCA είναι πιο πιθανό να υποβληθούν σε εγχείρησης που έχουν στόχο την μείωση του κινδύνου, όπως για παράδειγμα μαστεκτομή ή ωοθηκεκτομή, και πιο στοχευμένες εξατομικευμένες θεραπείες π.χ. χρήση φαρμάκων για αναστολή λειτουργίας των PARP[3,4]. Σε γυναίκες που αποτελούν ετερόζυγους φορείς μεταλλάξεων του BRCA1 έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού που κυμαίνεται από 55% μέχρι και 65% ενώ οι γυναίκες που είναι ετερόζυγους φορείς του BRCA2 έχουν αυξημένο κίνδυνο κατά 45% με 55% (υπολογισμένη πιθανότητα μέχρι την ηλικία των 70 ετών). Για τους άντρες που αποτελούν ετερόζυγους φορείς των γονιδίων BRCA, μέχρι την ηλικία των 70 ετών, έχουν αυξημένο κίνδυνο κατά 1,2% και 6,8% για τα γονίδια BRCA1 και BRCA2 αντίστοιχα. Πρέπει να αναφερθεί πως και ο καρκίνος του παγκρέατος αποτελεί συχνό φαινόμενο σε φορείς μεταλλάξεων BRCA[8].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2ο :Βιοδείκτες BRCA1 & BRCA2

Η έννοια των βιοδεικτών δεν είναι συγκεκριμένη και εμπεριέχει πολλούς ορισμούς προσπαθώντας να συμπεριλάβει όλες τις πιθανές χρήσεις και τα είδη των βιοδεικτών. Βιοδείκτης μπορεί να οριστεί οτιδήποτε, από χημικές ουσίες, γονίδια, συγκεκριμένα χαρακτηριστικά ή αντιδράσεις ως και ολόκληροι οργανισμοί ή η ύπαρξη τους σε ένα περιβάλλον. Με βάση τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, βιοδείκτης είναι η οποιαδήποτε μέτρηση που προκαλείται με την αλληλεπίδραση ενός βιολογικού συστήματος με ένα πιθανό χημικό/βιολογικό/φυσικό κίνδυνο. Οι βιοδείκτες απαραίτητα πρέπει να μπορούν να μετριοούνται με ακρίβεια, να είναι πρακτικά χρήσιμοι και να έχουν αναπαραγωγιμότητα, περνώντας συνεχόμενους και επαναλαμβανόμενους ελέγχους. Βιοδείκτες είναι χρήσιμοι σε διάφορους κλάδους και επιστήμες, για παράδειγμα περιβαλλοντολογία, εγκληματολογία, παλαιοντολογία κτλ. Στον τομέα της υγείας, οι βιοδείκτες ορίζονται ως μία κατηγορία ιατρικών σημείων που αποτελούν ενδείξεις της ιατρικής κατάστασης ενός ατόμου/ασθενή, οι οποίοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν στον τομέα της φαρμακευτικής, της ογκολογίας ή στην απλή εξέταση π.χ. μέτρηση της αρτηριακής πίεσης ή της θυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH)[10].

Οι βιοδείκτες κατατάσσονται σε κατηγορίες με βάση τον ρόλο τους στον κάθε τομέα. Στον τομέα της υγείας διαχωρίζονται με βάση τις πληροφορίες που μας δίνει και την δράση τους στον οργανισμό/ασθενή, κατατάσσοντάς τους σε διαγνωστικούς (diagnostic), προγνωστικούς (prognostic), προβλεπτικούς (predictive), ευαισθησίας/επικινδυνότητας (susceptibility/risk), ασφαλείας (safety), παρακολούθησης (monitoring) και τέλος βιοδείκτες απόκρισης (response)[10].

- Προγνωστικοί βιοδείκτες: Είναι ανεξάρτητοι παράγοντες που χρησιμοποιούνται για το προσδιορισμό της πιθανότητας έκθεσης και εξέλιξης μίας ασθένειας/συνδρόμου, δηλαδή η παρουσία ή η απουσία του βιοδείκτη προσδιορίζει και αξιολογεί την κλινική εξέλιξη και έκβαση ενός ασθενούς. Οι προγνωστικοί βιοδείκτες στοχεύουν κυρίως στην ενημέρωση και όχι απαραίτητα στη θεραπεία, για παράδειγμα στην ενδογενή συμπεριφορά και μέγεθος του όγκου, ειδικά στους καρκίνους του μαστού[10,11].
- Προβλεπτικοί βιοδείκτες: Έχουν την ικανότητά να προβλέψουν εάν ένας ασθενής θα ανταποκριθεί σε μια θεραπεία και μπορούν να βοηθήσουν στον εντοπισμό ατόμων με τον βιοδείκτη που θα ανταποκριθούν θετικά ή αρνητικά στην έκθεση μιας θεραπείας.[10] Παράδειγμα προβλεπτικού βιοδείκτη αποτελεί η ανίχνευση της ενεργοποίησης του HER2 στον καρκίνο του μαστού[11].

- Διαγνωστικοί Βιοδείκτες: Οι διαγνωστικοί βιοδείκτες χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση και επικύρωση την ύπαρξης της νόσου/συνδρόμου[10].
- Βιοδείκτες παρακολούθησης: Ο ρόλος τους είναι η παρακολούθηση ή πρόβλεψη της εξέλιξης της νόσου. Οι μετρήσεις τέτοιων βιοδεικτών γίνεται επανειλημμένα καθώς βοηθούν στην αξιολόγηση της κατάστασης μίας νόσου, της αποτελεσματικότητας επίδρασης μίας θεραπείας ή ενός ιατρικού προϊόντος ή ενός περιβαλλοντικού παράγοντα. Συχνή χρήση τους είναι στην παρακολούθηση της υποτροπής του καρκίνου μετά από κάποια θεραπεία[10,11].
- Βιοδείκτες απόκρισης: Ρόλος αυτών των βιοδεικτών είναι η ένδειξη ότι μία βιολογική αντίδραση έχει προκληθεί σε ένα άτομο λόγω της έκθεσής του σε ένα ιατρικό προϊόν ή περιβαλλοντικό παράγοντα. Βιοδείκτες που σχετίζονται με την φλεγμονή και την ανοσολογική απόκριση (π.χ. C-αντιδρώσα πρωτεΐνη) και λεμφοκύτταρα που διηθούνται από όγκους (TILs) εξετάζονται για τον πιθανό ρόλο τους για την εκτίμηση και πρόγνωση της επικινδυνότητας εμφάνισης του καρκίνου του μαστού[10,11].
- Βιοδείκτες Ασφαλείας: Οι βιοδείκτες ασφαλείας μετριοούνται και ελέγχονται πριν γίνει έκθεση ενός ασθενούς σε ένα ιατρικό προϊόν ώστε να αποφευχθεί η αρνητική επίδραση του στον οργανισμό του ατόμου/ασθενούς[10].
- Βιοδείκτης ευαισθησίας/επικινδυνότητας: Είναι ουσιαστικά προληπτικοί βιοδείκτες που δείχνουν την πιθανότητα ανάπτυξης ασθένειας ή ιατρική κατάσταση σε άτομα που δεν δείχνουν τα κλινικά συμπτώματα της ασθένειας/κατάστασης[10].

Η εφαρμογή των βιοδεικτών και η επικύρωσή τους έχει μειώσει αποτελεσματικά την επιβάρυνση διάφορων νόσων συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου. Η χρήση των βιοδεικτών βοηθά στην σωστή λήψη προληπτικών μέτρων, στην έγκαιρη ανίχνευση και στην επιλογή της σωστής θεραπείας ανάλογα τον ασθενή. Η χρήση τους έγινε τόσο ειδική και απαραίτητη σε διάφορους τύπους και στάδια του καρκίνου που έχει δημιουργηθεί η κατηγορία των καρκινικών βιοδεικτών. Καρκινικοί βιοδείκτες ορίζονται ως οι βιολογικές ουσίες που εκκρίνονται από όγκους ή καρκινικά κύτταρα ή βιολογικές ουσίες του οργανισμού που εμφανίζονται ως απόκριση των καρκινικών κυττάρων, οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ενδείξεις για την ανίχνευση, πρόγνωση και διάγνωση του τύπου του καρκίνου καθώς και του υπολογισμού ανταπόκρισης του οργανισμού του καρκινοπαθούς σε πιθανή θεραπεία. Η κατηγορία των βιοδεικτών προσυμπτωματικού ελέγχου είναι από τους πρώτους τύπους βιοδεικτών που θα χρησιμοποιηθούν για την έγκαιρη ανίχνευση του καρκίνου και συμπεριλαμβάνουν κάποιους προγνωστικούς βιοδείκτες και βιοδείκτες επικινδυνότητας συνδυαστικά. Δηλαδή είναι οι

βιοδείκτες που χρησιμοποιούνται για τον εντοπισμό ατόμων με προδιάθεση για ανάπτυξη καρκίνου ή για τον εντοπισμό ασυμπτωματικών ασθενών για έγκαιρη διάγνωση και αποτελεσματική θεραπεία. Δειγματοληψία αίματος μπορεί να ενημερώσει για την ύπαρξη καρκινικών κυττάρων και την παρουσία DNA χωρίς κύτταρα και απαραίτητες πρωτεΐνες (π.χ. παρουσία αντιγόνου καρκίνου 125, παρουσία αντιγόνου 27.39, παρουσία καρκινοεμβρυϊκού αντιγόνου). Με δειγματοληψία του ιστού που λαμβάνεται μέσω βιοψίας ελέγχονται οι ορμονικοί υποδοχείς (π.χ. υποδοχέας οιστρογόνων) και οι υποδοχείς ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (HER2). Ο ρόλος τους αποτελεί κρίσιμος εφόσον αυξάνει το ποσοστό επιβίωσης και, με την παροχή πολύτιμων πληροφοριών σχετικά με τον μοριακό υπότυπο του καρκίνου, έγκαιρη διάγνωση και επιτυγχάνει στην μείωση των επιπλοκών και την νοσηρότητας[11].

2.1 SCREENING

Η επιλογή των γονιδίων και του μεγέθους του πάνελ ελέγχου που θα εξεταστούν κυρίως βασίζεται στον σκοπό του αρχικού ελέγχου και στο προσωπικό και οικογενειακό ιστορικό της νόσου. Με βάση το National Comprehensive Cancer Network (NCCN) οι εξετάσεις για κληρονομικό καρκίνο του μαστού, των ωοθηκών και του προστάτη συμπεριλαμβάνουν τους βιοδείκτες BRCA1, BRCA2, CHEK2 και PALB2[12]. Οι βιοδείκτες διαλογής του καρκίνου του μαστού είναι ουσιαστικά βιολογικοί παράγοντες και αντιδράσεις/παράγωγα του οργανισμού που παρατηρούνται ή μετριούνται για να υπολογισθεί ο κίνδυνος για την εμφάνιση καρκίνου του μαστού και για την επικύρωση ύπαρξης του καρκίνου του μαστού, ειδικά στα αρχικά στάδια. Αυτοί οι βιοδείκτες είναι απολύτως απαραίτητοι στην βελτιστοποίηση της αποτελεσματικότητας των screening συστημάτων εφόσον βοηθούν στην καλύτερη αναγνώριση και διάγνωση ατόμων που χρειάζονται περισσότερες διαγνωστικές και προληπτικές εξετάσεις. Πολλές χώρες έχουν εφαρμόσει σύστημα υγείας όπου οι γυναίκες, μεταξύ 50-69 ετών μπορούν να κάνουν εξετάσεις screening, ώστε να γίνει έγκαιρη διάγνωση σε πρώιμα στάδια, γεγονός που έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει τις πιθανότητες της θεραπείας[13]. Οι γυναίκες με γενετική προδιάθεση υποβάλλονται σε πιο εντατικούς ελέγχους με mammographs και MRIs ώστε να βρεθούν και οι μικρότεροι όγκοι και να αποτραπεί η εξέλιξη ή μεταφορά τους στον οργανισμό. Η γενετικοί βιοδείκτες BRCA1 και BRCA2 χρησιμοποιούνται πολύ στην απεικόνιση για την πρόληψη και διάγνωση σε άτομα με γενετικές μεταλλάξεις στα γονίδια BRCA[13,14].

2.1.1 Μαστογραφία και τομοσύνθεση μαστού (Mammography and breast tomosynthesis)

Η μαστογραφία έχει αποδειχθεί με συνεχή κλινική χρήση ότι είναι μια από τις πιο αποτελεσματικές εξετάσεις για προσυμπτωματικού έλεγχου με αποτέλεσμα την μείωση του ποσοστού θνησιμότητας από τον καρκίνο του μαστού σε σύγκριση με άλλες κατηγορίες απεικόνισης πυκνότητας του μαστού[14,15,16]. Η πυκνότητα του μαστού αναφέρεται στην παρουσία ενός ποσοστού ραδιενεργού πυκνού ινοαδενικού ιστού που παρατηρείται μέσω της μαστογραφίας και σχετίζεται άμεσα με αυξημένα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα της εξέτασης και με αυξημένη επικινδυνότητα για καρκίνους μεσοδιαστήματος, δηλαδή καρκίνους που ανιχνεύονται στο ενδιάμεσο χρονικό διάστημα μεταξύ ενός αρνητικού ελέγχου και πριν από επόμενη προγραμματισμένη εξέταση. Η ύπαρξη πυκνού ιστού μαστού αποτελεί έναν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου, έναν βιοδείκτη επικινδυνότητας, που σχετίζεται με την αύξηση πιθανότητας εμφάνισης καρκίνου του μαστού έως και 4,6 περισσότερο σε γυναίκες με πυκνό ιστό απ' ότι σε γυναίκες με φυσιολογική πυκνότητα ιστού του μαστού[15]. Η απλή μαστογραφία δεν έχει την δυνατότητα να ελέγξει την κληρονομικά γενετική προδιάθεση σε γυναίκες με χαμηλότερη ευαισθησία (25%-59%) με αποτέλεσμα να μειώνεται η απόδοση της λόγω διαφορών παραγόντων που την επηρεάζουν, όπως για παράδειγμα η πρόωμη έναρξη καρκίνου του μαστού, η πυκνότητα του ιστού και η ταχύτητα της ανάπτυξης του όγκου. Έτσι, για την κάλυψη των κενών επικυρώθηκε και ενσωματώθηκε η ψηφιακή τομοσύνθεση του μαστού το 2011 στο πλαίσιο ελέγχου πρόληψης και διάγνωσης. Η ψηφιακή τομοσύνθεση γίνεται παρόμοια με μία απλή μαστογραφία, δηλαδή με την χρήση χαμηλών δόσεων ακτίνων Χ, αποδίδοντας πολλές εικόνες από διαφορετικές γωνίες. Στην συνέχεια, οι εικόνες αυτές επεξεργάζονται ώστε να δημιουργηθεί μία σειρά εικόνων υψηλής ανάλυσης που απεικονίζουν το ιστό του μαστού σε τρεις διαστάσεις και μέσω της απεικόνισης του μαστού να ανιχνευτούν οι ανωμαλίες. Η προσθήκη της ψηφιακής τομοσύνθεσης παρέχει βελτιωμένη ανίχνευση καρκίνου με υψηλότερη ειδικότητα και μειώνει το ποσοστό των ψευδώς θετικών ευρημάτων και την ανάγκη για επιπλέον εξετάσεις για την διάγνωση και προληπτικές εξετάσεις[14,16]. Με βάση το Αμερικανικό Κολλέγιο Ακτινολογίας, η έναρξη της εξέτασης της μαστογραφίας πρέπει να γίνεται σε γυναίκες άνω των 40 ετών με επικινδυνότητα ζωής μεγαλύτερο από 20%[14,15].

Μαστογραφία ενισχυμένη με σκιαγραφικό (Contrast-enhanced mammography)

Η ψηφιακή μαστογραφία με σκιαγραφικό (CEM) εγκρίθηκε ως συμπλήρωμα της μαστογραφίας το 2011 από την Υπηρεσία Τροφίμων και φαρμάκων (Food and Drug

Administration) είναι μία προηγμένη τεχνική απεικόνισης αντίθεσης που συνδυάζει την ψηφιακή μαστογραφία με την χρήση ιωδιούχου ως σκιαγραφικό μέσο για την βελτίωση της απεικόνισης του ιστού του μαστού και την ενίσχυση της ανίχνευσης βλαβών/όγκων στο μαστό και αγγειογένεση του όγκου, ιδιαίτερα σε γυναίκες με πυκνό μαστό ή αυξημένη επικινδυνότητα για ανάπτυξη όγκου[14,16]. Κατά την διάρκεια της εξέτασης πραγματοποιείται μία απλή ψηφιακή μαστογραφία και μετά την λήψη των μαστογραφικών εικόνων εγχέεται ενδοφλεβίως ένας παράγοντας αντίθεσης, συνήθως με βάση το ιώδιο, και μέσω της κυκλοφορίας συσσωρεύεται σε περιοχές του μαστού με αυξημένη ροή αίματος υποδεικνύοντας την ύπαρξη όγκου[16]. Μετά την ένεση (2 με 2.5 λεπτά) γίνεται λήψη επιπλέον μαστογραφικών φωτογραφιών και με την ενισχυμένη αντίθεση γίνεται πιο εύκολη η διαδικασία της διάγνωσης εφόσον γίνεται αφαίρεση της εικόνας προ-αντίθεσης από την εικόνα μετά την αντίθεση επισημαίνοντας τις περιοχές μη-φυσιολογικής αγγείωσης[14]. Η ενισχυμένη μαστογραφία με σκιαγραφικό σε σύγκριση με την ψηφιακή μαστογραφία ενισχύει την απεικόνιση του μαστού και ειδικά τους μικρούς όγκους και βλάβες υψηλού κινδύνου ακόμη και σε άτομα με πυκνό μαστό. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα και την μείωση της ανάγκης για επιπλέον εξετάσεις απεικόνισης[14,16].

Σε κάποιες μελέτες έχει παρατηρηθεί ότι η ενισχυμένη μαστογραφία με σκιαγραφικό σε σχέση με την ψηφιακή μαστογραφία σε άτομα με υψηλό παράγοντα κινδύνου και συγγενή πρώτου βαθμού με εμφάνιση καρκίνου του μαστού κάτω από την ηλικία των 50 ετών υπάρχει μικρότερη ευαισθησία (87,5%) αλλά μεγαλύτερη ειδικότητα (93,7%). Η μαστογραφία ενισχυμένη με σκιαγραφικό ακόμα χρησιμοποιείται ως συμπληρωματική εξέταση για την διευκόλυνση των ειδικών για την διάγνωση και έλεγχο της ανάπτυξης των όγκων στον ιστό του μαστού και απαιτούνται περισσότερες μελέτες ώστε να γίνει πλήρης κλινική εφαρμογή χωρίς περιορισμούς [14].

2.1.2 Μαγνητική Τομογραφία Μαστού (Breast MR imaging)

Η μαγνητική τομογραφία μαστού αποτελεί μία εξελιγμένη τεχνική απεικόνισης του μαστού που χρησιμοποιείται κυρίως για τον προσυμπτωματικό έλεγχο, την διάγνωση και για την παρακολούθηση των σταδίων και της ανταπόκρισης στην θεραπεία του καρκίνου του μαστού[15]. Η μαγνητική τομογραφία του μαστού είναι εξαιρετικά σημαντική και ευεργετική εξέταση για τις γυναίκες με κληρονομικότητα για τον καρκίνο του μαστού και χρησιμοποιείται ως συμπληρωματική και επιπρόσθετη εξέταση ελέγχου όταν προστίθεται στην ετήσια μαστογραφία. Με την μαγνητική μαστογραφία ανιχνεύονται οι καρκίνοι που βρίσκονται σε πρώιμα στάδια βοηθώντας στην πρόωπη διάγνωση και σε αντίθεση με την μαστογραφία και το

υπερηχογράφημα, τα οποία χρησιμοποιούν ιονίζουσα ακτινοβολία και ηχητικά κύματα αντίστοιχα, χρησιμοποιεί ραδιοκύματα και ισχυρούς μαγνήτες για την δημιουργία εικόνων[14,15,16]. Σε μελέτες που έχουν διεξαχθεί κυρίως σε φορείς των BRCA1 και BRCA2 για τον έλεγχο απεικόνισης MRI του μαστού έχει αποδειχθεί ότι η MRI έχει ευαισθησία 89% σε σχέση με την μαστογραφία που έδειξε ευαισθησία 55%. Η απεικόνιση MR του μαστού έχει υψηλή αρνητική προγνωστική αξία εφόσον το ποσοστό ανίχνευση της νόσου είναι 21,8/1000 εξετάσεις ενώ σε εξετάσεις της μαστογραφίας είναι 7,2/1000 εξετάσεις. Γενικότερα η μαγνητική μαστογραφία έχει καλύτερη ακρίβεια απ' ότι μία απλή μαστογραφία σε φορείς των μεταλλαγμένων γονιδίων BRCA εφόσον η μαστογραφία φαίνεται να έχει χαμηλή ευαισθησία. Επιπλέον η ειδικότητα της μαγνητικής τομογραφίας αυξάνεται σε ασθενής δίνοντας καλύτερη κλινική εικόνα. Όταν η μαγνητική μαστογραφία συνδυάζεται για προσυμπτωματικό έλεγχο με την ψηφιακή μαστογραφία αυξάνεται η ευαισθησία του ελέγχου στο 98%, ωστόσο μειώνεται η ειδικότητα στο 79%[14,15,17].

Συντομευμένη απεικόνιση MR μαστού (Abbreviated breast MR imaging)

Η συντομευμένη μαγνητική τομογραφία μαστού (ABMR) είναι μία νέα προσέγγιση στην μαγνητική τομογραφία μαστού που χρησιμοποιείται πολύ τα τελευταία χρόνια. Η συντομευμένη απεικόνιση MR του μαστού έχει ως στόχο την κάλυψη ορισμένων περιορισμών που έχει η μαγνητική τομογραφία, όπως τον μεγάλο χρόνο εξέτασης, το υψηλό κόστος και την περιορισμένη προσβασιμότητα. Με την αυξανόμενη χρήση της, αυτή η εξέταση της τομογραφίας εστιάζει σε συγκεκριμένες περιοχές ενδιαφέροντος εντός του μαστού μειώνοντας τον χρόνο της εξέτασης σημαντικά (4.4 λεπτά στην ABMR, 23.2 λεπτά στην MRI). Η συντομευμένη μαγνητική τομογραφία αποτελεί πολύ χρήσιμο κομμάτι της προσυμπτωματικής εξέτασης σε άτομα με πυκνό ιστό ή γενετικές μεταλλάξεις καθώς ο καρκίνος μπορεί να ανιχνευθεί στην πρώτη αλληλουχία χωρίς να υπάρχει ανάγκη για επιπρόσθετες αλληλουχίες για την διάγνωση. Έχει την δυνατότητα να ανιχνεύσει μικρούς όγκους αλλά και βλάβες υψηλού κινδύνου με υψηλή ευαισθησία. Έτσι η απεικόνιση ABMRI βελτιώνει την αποτελεσματικότητα της ροής εργασίας, εξοικονομώντας πόρους και χρόνο εφόσον παράγει φωτογραφίες που χρειάζονται λιγότερο χρόνο ερμηνείας (1.5 λεπτά σε σχέση με το πρότυπο 6.4 λεπτά) και αποτελεί εξέταση που είναι καλύτερα ανεκτή από τους ασθενείς. Επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παρακολούθηση την αποτελεσματικότητας της χημειοθεραπείας με την παρατήρηση των αλλαγών στο μέγεθος του όγκου. Παρ' όλα αυτά και η εξέταση της συντομευμένης μαγνητικής τομογραφίας έχει κάποιους σημαντικούς περιορισμούς

συμπεριλαμβανομένου της τυποποίησης των πρωτοκόλλων χρήσης και απεικόνισης και την ερμηνεία συντομευμένων αλληλουχιών[14,15].

Σε μελέτες που σύγκριναν την απόδοση απλής μαγνητικής τομογραφίας με την απόδοση συντομευμένης μαγνητικής τομογραφίας έδειξαν ότι η ABMR έχει μεγαλύτερη ειδικότητα στο 83% σε σχέση με την απλή MRI (80%) Μέχρι στιγμής έχουν γίνει μελέτες της απόδοσης της συντομευμένης μαγνητικής τομογραφίας σε σύγκριση με την απλή μαγνητική τομογραφία σε φορείς BRCA μεταλλάξεων και τα αποτελέσματα δείχνουν ότι έχουν παρόμοιες μετρήσεις απόδοσης σε ασθενής με μέτριο και υψηλό κίνδυνο (βρέθηκε συγκεντρωτική ευαισθησία ABMR 90% ενώ MRI 94%, συνολική ακρίβεια ABMR 90% ενώ MRI 92%). Η συντομευμένη μαγνητική τομογραφία φαίνεται να προσφέρει αρκετές λύσεις στα προβλήματα που δημιουργεί η εξέταση της απλής μαγνητικής τομογραφίας και, εφόσον παρέχει παρόμοιες μετρήσεις ακριβείας και αξιοπιστίας με την μαγνητική τομογραφία, προσφέρει βελτιστοποίηση την αποτελεσματικότητας και του χρόνου, της προσβασιμότητας, της διάγνωσης, του προσυμπτωματικού ελέγχου και της παρακολούθησης θεραπείας[14,15,16].

2.1.3 Υπέρηχος (Ultrasound)

Το υπερηχογράφημα του μαστού αποτελεί μία μη-επεμβατική τεχνική δυναμικής απεικόνισης που χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση του ιστού του μαστού για την ανίχνευση και διάγνωση πιθανών ανωμαλιών, ως συμπληρωματικός έλεγχος. Κατά την διάρκεια της εξέτασης, με την χρήση ενός τζελ στο μαστό, ένας φορητός μορφοτροπέας εκπέμπει και λαμβάνει ηχητικά κύματα παράγοντας εικόνες σε πραγματικό χρόνο, παράγοντας πληροφορίες σχετικά με την παρουσία, μέγεθος και σχήμα του όγκου του μαστού[14,18]. Το υπερηχογράφημα, όπως και η μαστογραφία, χρησιμοποιείται ως εργαλείο απεικόνισης του μαστού για διάγνωση, χωρίς να περιορίζεται από την πυκνότητά του, και για παρακολούθηση εξέλιξης όγκου. Σύνηθες χρήσης του υπέρηχου είναι για την αξιολόγηση μαζών, συμπαγές ή κυστικές, ή ύποπτων ευρημάτων, που μπορούν να ψηλαφιστούν και ανιχνευτούν με φυσική εξέταση[18]. Στο ποσοστό ατόμων με υψηλή προδιάθεση για ανάπτυξη καρκίνου του μαστού υποβάλλονται εντατικοί έλεγχοι και παρακολούθηση κυρίως με μαστογραφία και μαγνητική τομογραφία αλλά το υπερηχογράφημα, χρησιμοποιείται ειδικά λόγω για το χαμηλό κόστος, την έλλειψη χρήσης ακτινοβολίας και προσβασιμότητας τεχνικής απεικόνισης[14]. Η αποδοτικότητα του υπέρηχου περιορίζεται επειδή η ποιότητα και η ερμηνεία εξαρτάται από τον χειριστή και την πυκνότητα του μαστού και η αξιοπιστία χρειάζεται επιπρόσθετες εξετάσεις απεικόνισης ή βιοψίας[14,18].

Μια πολυκεντρική μελέτη που σύγκρινε της αποδόσεις μεταξύ της μαστογραφίας, της μαγνητικής τομογραφίας και του υπέρηχου ως εργαλεία απεικόνισης, ο υπέρηχος έδειξε σημαντικά λιγότερη ευαισθησία από τις άλλες μεθόδους, και ειδικά από την μαγνητική τομογραφία (52% η ευαισθησία του υπέρηχου, 91% η ευαισθησία MRI)[14].

2.2 Επικύρωση

Οι βιοδείκτες παίζουν κεντρικό ρόλο για την εξατομίκευση και την ιατρική ακρίβειας καθώς παρέχουν σε όλους τους τομείς της ιατρικής μεγαλύτερη ακρίβεια και εξατομίκευση στην διάγνωση, στον προσδιορισμό της πρόγνωσης και στην πρόβλεψη της αντίδρασης του ασθενή σε μία θεραπεία και την αποτελεσματικότητάς της. Η επικύρωση αναφέρεται ως μία διαδικασία για τον προσδιορισμό της αξίας και αξιοπιστίας ενός βιοδείκτη που συμπεριλαμβάνει όλους τους πιθανούς τύπους δοκιμών και μετρήσεων[19]. Οι βιοδείκτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάπτυξη ερευνών και για την αξιολόγηση κλινικών αποτελεσμάτων τους[19,10]. Όμως για την χρήση των βιοδεικτών ως κλινικά εργαλεία και την ένταξη τους σε εξετάσεις πρέπει να έχουν επικυρωθεί, δηλαδή να έχει διαπιστωθεί η ικανότητα τους να δίνει της πληροφορίες που χρειάζονται εύκολα και σωστά. Η διαδικασία της ανάπτυξης ενός βιοδείκτη από την ανακάλυψη και παρατήρηση έως την κλινική εφαρμογή είναι μία πολύπλοκη διαδικασία κυρίως εφόσον υπάρχουν διάφορα στάδια επιστημονικού, κλινικού και ρυθμιστικού ελέγχου. Επειδή η διαδικασία επικύρωσης είναι χρονοβόρα και διαφέρει ανά βιοδείκτη και στην χρήση του είναι απαραίτητο να υπάρχει αντίστοιχη γνώση για την αποφυγή ανακριβών αποτελεσμάτων και λαθών στις κλινικές δοκιμές και στην επεξεργασία δεδομένων τους. Η δοκιμές στην επικύρωση πρέπει να περιλαμβάνουν εγκυρότητα, αναλυτική και κλινική, με ενσωμάτωση της ευαισθησίας και της ειδικότητας για σωστά και αξιόπιστα αποτελέσματα. Όλοι οι βιοδείκτες από τον οποιοδήποτε πιθανό φορέα είναι απαραίτητο να υποβάλλονται για επικύρωση ώστε, με την εφαρμογή τους, να γίνει εξατομίκευση της ιατρικής που αποτελεί στόχο την υγεία τα τελευταία χρόνια[19].

Καλός βιοδείκτης χαρακτηρίζεται όταν ένας βιοδείκτης παρέχει κάποιες αξίες που τον κάνουν πιο προσβάσιμο (βάση των μεθόδων μέτρησης) και όταν παρέχει κλινικά σημαντικές πληροφορίες. Ο ιδανικός βιοδείκτης πρέπει να μπορεί να ανιχνεύει όλες τις περιπτώσεις όπου η αναλυτέα ουσία είναι πραγματικά παρούσα και καμία δεν λείπει, πιο συγκεκριμένα πρέπει να έχει:

- ακρίβεια, δηλαδή να υπάρχει εγγύτητα στις μετρήσεις με τις πραγματικές τιμές αλλά και να υπάρχει επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα

- ευαισθησία, δηλαδή να έχει την ικανότητα να ανιχνεύει μικρές αλλαγές στην συγκέντρωση των βιοδεικτών και καθορίζεται από την χαμηλότερη συγκέντρωση του βιοδείκτη που μπορεί να ανιχνευθεί με αξιοπιστία,
- ειδικότητα, δηλαδή η ικανότητα της διαδικασίας μέτρησης, με ακρίβεια, του βιοδείκτη χωρίς να επηρεάζεται από άλλους παράγοντες

Επιπλέον, οι βιοδείκτες που μπορούν είτε να υπάρχουν είτε να μην υπάρχουν, για παράδειγμα μία γενετική μετάλλαξη, θεωρούνται πιο απλοί στην ερμηνεία και εξέταση τους από τους βιοδείκτες που επηρεάζονται από πολλούς παράγοντες και παράγουν ένα μεγάλο φάσμα πληροφοριών[19,10].

2.2.1 Ανάπτυξη και Επικύρωση Βιοδεικτών

Η ανάπτυξη των βιοδεικτών αποτελεί μια περίπλοκη διαδικασία που χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή. Σε αντίθεση με την ανάπτυξη των φαρμάκων, η ανάπτυξη των βιοδεικτών δεν είναι καθορισμένη και δεν υπάρχει κάποιο μοντέλο που θα μπορούσε κάποιος να ακολουθήσει. Συνήθως η ανάπτυξη των φαρμάκων χωρίζεται σε 3 κύριες φάσεις, στη φάση I όπου γίνεται αξιολόγηση της τοξικότητας και μετρήσεις για βέλτιστη δόση, στην φάση II όπου αποδεικνύεται η αποτελεσματικότητα του φαρμάκου και στην φάση III όπου γίνεται μεγάλη τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη δοκιμή για τον προσδιορισμό των επιδράσεων του στα κλινικά τελικά σημεία[19,20].

Ανεξαρτήτως του βιοδείκτη υπάρχει μία γενικότερη ιδέα της κατεύθυνσης ανάπτυξης του βιοδείκτη, όπου κάθε βήμα στοχεύει στον εντοπισμό, την επικύρωση, τον υπολογισμό αξιοπιστίας και την εφαρμογή των βιοδεικτών. Παρ' όλα αυτά υπάρχουν κάποιες αλλαγές στα αντίστοιχα στάδια ανάλογα με τον τύπο του βιοδείκτη και τι χρειάζεται ώστε να αποδειχθεί επαρκώς η αποδοτικότητα του. Στην αρχή της διαδικασίας γίνεται εξέταση και ανασκόπηση βιβλιογραφίας και μελέτη σε βάσεις δεδομένων για τον εντοπισμό πιθανών βιοδεικτών και, με την χρήση τεχνολογιών υψηλής απόδοσης, όπως την γονιδιωματική, την πρωτεϊνωματική, μελέτες απεικόνισης, χρησιμοποιούνται για τον συστηματικό έλεγχο μεγάλου αριθμού μορίων ή γονιδίων ή χαρακτηριστικών για τον εντοπισμό βιοδεικτών. Με βάση την συσχέτιση των βιοδεικτών με μία νόσο/σύνδρομο γίνεται αξιολόγηση της κλινικής σημασίας του, δηλαδή της χρησιμότητας του βιοδείκτη στην διάγνωση, την πρόγνωση, στην επιλογή, παρακολούθηση και αποτελεσματικότητάς της θεραπείας, και γίνονται περεταίρω μετρήσεις για την αξιολόγηση της επιρροής, της ευαισθησίας, της ειδικότητας και μέτρηση του κόστους αποτελεσματικότητας[20]. Η επικύρωση ουσιαστικά απαιτεί αξιολόγηση αναλυτικής

εγκυρότητάς της, δηλαδή πόσο καλά μετράει την αναλυτέα ουσία, και της κλινικής εγκυρότητας της, δηλαδή την ικανότητά της να προβλέπει με ακρίβεια ένα σημαντικό κλινικό αποτέλεσμα, ότι το αποτέλεσμα της δοκιμής θα επηρεάσει την φροντίδα των ασθενών. Η αξιολόγηση της αναλυτικής εγκυρότητας συχνά περιλαμβάνει τη σύγκριση με την καλύτερη διαθέσιμη δοκιμή, τη λεγόμενη «χρυσή πρότυπη μέθοδο». Η ευαισθησία και η ειδικότητα είναι βασικά στοιχεία της αναλυτικής εγκυρότητας και συχνά σχετίζονται αντιστρόφως: είναι σπάνιο να εντοπιστεί μια δοκιμή που είναι ταυτόχρονα τέλεια ευαίσθητη (ικανότητα της διαδικασίας εντοπίζει όλες τις περιπτώσεις όπου υπάρχει ένας βιοδείκτης) και τέλεια ειδική (δεν παράγει ψευδώς θετικά αποτελέσματα, ικανότητα της δοκιμασίας να μετρά με ακρίβεια τον βιοδείκτη)[19]. Επίσης σημαντικοί παράγοντες αποτελούν η γραμμικότητα, δηλαδή την ικανότητα της δοκιμασίας να παράγει αποτελέσματα ευθέως και της εύκολης κλινικής ενσωμάτωσης/εφαρμογής[19,10]. Μια δοκιμή με υψηλή ευαισθησία αλλά χαμηλή ειδικότητα (π.χ., το CA 125 στον ορό) θα έχει πολλά ψευδώς θετικά αποτελέσματα, που μπορεί να οδηγήσουν σε περιττές έρευνες των ασθενών, με συνακόλουθη νοσηρότητα και κόστη. Μια τέτοια δοκιμή επομένως μπορεί να μην είναι χρήσιμη ως εργαλείο πληθυσμιακού ελέγχου, όπου η υψηλή ειδικότητα (χαμηλό ποσοστό ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων) είναι προτεραιότητα. Ακόμα και αν μια δοκιμή έχει υψηλή αναλυτική εγκυρότητα (δηλαδή μετρά αξιόπιστα αυτό που πρέπει να μετρήσει), αν δεν παρέχει πληροφορίες που αλλάζουν τα αποτελέσματα των ασθενών, δεν έχει κλινική εγκυρότητα. Η κλινική επικύρωση ενός βιοδείκτη συνήθως παίρνει τη μορφή κλινικής δοκιμής στην οποία αξιολογείται η ικανότητά του να προβλέψει ένα σημαντικό κλινικό αποτέλεσμα (δηλαδή, η κλινική του χρησιμότητα και αποτελεσματικότητα)[19]. Άρα στην συνέχεια γίνεται ανάπτυξη δοκιμασιών/εξετάσεων, που μπορεί να περιλαμβάνει χρήση προτύπων αναφοράς, δείγματα ελέγχου και μέτρα ποιοτικού ελέγχου, για μέτρηση του βιοδείκτη με όσο πιο εύκολη δειγματοληψία γίνεται και αυτές οι διαδικασίες μέσω δοκιμών βελτιστοποιούνται ώστε να διασφαλιστεί η αναλυτική απόδοση, συμπεριλαμβανομένης της ακρίβειας (ικανότητα της δοκιμασίας να μετρά τον βιοδείκτη), της ευαισθησίας, της ειδικότητας, της γραμμικότητας και της κλινικής εφαρμογής. Με την έγκριση των δοκιμασιών και την επικύρωση των βιοδεικτών μπορεί να ξεκινήσει να γίνεται κλινική εφαρμογή αλλά η διαδικασία της απόδειξης την αποτελεσματικότητάς και της χρησιμότητας των βιοδεικτών επαναλαμβάνεται συνέχεια[19,10,20]. Η αξιοπιστία μπορεί να επηρεαστεί από προ-αναλυτικούς παράγοντες (όπως η σταθεροποίηση και επεξεργασία του ιστού), αναλυτικούς παράγοντες (όπως η πλατφόρμα ανάλυσης και τα αντιδραστήρια) και μετα-αναλυτικούς παράγοντες (σχετικούς με τη βαθμολόγηση ή την ερμηνεία της δοκιμής). Μια

δοκιμή με χαμηλή αξιοπιστία δεν μπορεί να έχει καλή ακρίβεια, ωστόσο, καλή αξιοπιστία δεν διασφαλίζει καλή ακρίβεια - μια δοκιμή μπορεί να παράγει σταθερά λάθος αποτελέσματα[19].

Η διαδικασία έγκρισης των βιοδεικτών απαιτεί πολλούς πόρους και έχει μεγάλο κόστος για τους πόρους αυτούς και τις υπηρεσίες[10,20]. Η αξιολόγηση της σχέσης κόστους-αποτελεσματικότητας σχετίζεται στενά με την κλινική χρησιμότητα, καθώς λαμβάνονται υπόψη όχι μόνο το κόστος της ανάλυσης, αλλά και το κόστος οποιασδήποτε σχετικής θεραπείας και το συνολικό κόστος για το σύστημα υγείας ή και τα προσωπικά έξοδα του ασθενούς[19]. Οι βιοδείκτες πρέπει να υποβληθούν για κανονιστική έγκριση, που μπορεί να δοθεί πιο εύκολα σε βιοδείκτες απ' ό,τι σε φάρμακα, σε οργανισμούς όπως τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) ή στον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (EMA)[19,10,20]. Η Αυστραλιανή Επιτροπή Ιατρικών Υπηρεσιών (Australian Medical Services Advisory Committee /MSAC), η οποία είναι υπεύθυνη για την αξιολόγηση αιτήσεων για δημόσια χρηματοδότηση ιατρικών παρεμβάσεων, συμπεριλαμβανομένων των βιοδεικτών, έχει πρόσφατα τυποποιήσει την έννοια της προσέγγισης συνδεδεμένων αποδείξεων κατά την αξιολόγηση της ανίχνευσης και της κλινικής χρησιμότητας ενός βιοδείκτη, όπου διαφορετικοί τύποι αποδείξεων από διαφορετικές πηγές συνδέονται σε μια αλυσίδα επιχειρημάτων για την εκτίμηση του πιθανού κλινικού αντίκτυπου της δοκιμής. Σε πολλές περιπτώσεις, η ανίχνευση ενός βιοδείκτη μπορεί να αναμένεται να οδηγήσει σε αλλαγή στη κλινική σκέψη, τη θεραπεία ή την πρακτική συνταγογράφησης, που με τη σειρά της είναι πιθανό να οδηγήσει σε μετρήσιμη βελτίωση του κλινικού αποτελέσματος[19]. Έτσι συνήθως υπάρχει η ανάγκη συνεργασίας με έναν εμπορικό οργανισμό/φορέα διάγνωσης για την κάλυψη των απαιτήσεων. Οι φορείς διαγνωστικών μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε δύο ομάδες, τις εταιρίες που έχουν στην διάθεσή τους εσωτερικού πάροχους, που αλληλοεπιδρούν και επηρεάζουν τους ερευνητές στο στάδιο της ανακάλυψης και της καθυστέρησης ανάπτυξης και στις μεγαλύτερες εταιρίες που εμπορεύονται διαγνωστικά *in vitro* και συνήθως αποκτούν τεχνολογικές αναβαθμίσεις και εξελίξεις από άλλες εταιρίες. Η ανάπτυξη βιοδεικτών και η ανάπτυξη φαρμάκων αποτελούν κρίσιμες διαδικασίες στην υγειονομική περίθαλψη και συνήθως εξυπηρετούν διαφορετικούς στόχους αλλά υπάρχει διασύνδεση μεταξύ τους καθώς οι περισσότερες φαρμακευτικές εταιρίες έχουν ερευνητικά εργαστήρια που επικεντρώνονται στην ανάπτυξη και χρήση βιοδεικτών για την βελτίωση της αποτελεσματικότητας, της ανταπόκρισης και της παραγωγής φαρμάκων. Επίσης μεγάλος ρόλος του σκοπού ανάπτυξης βιοδεικτών από μεγάλες φαρμακευτικές εταιρίες είναι η μέγιστη αποτελεσματικότητα με μικρότερες, γρηγορότερες δοκιμές με το λιγότερο δυνατό κόστος[19,20]. Όταν η επικύρωση πραγματοποιείται σε μια ομάδα προηγουμένως

συλλεγμένων δειγμάτων για τα οποία υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα αποτελεσμάτων, αναφέρεται ως αναδρομική ανάλυση. Εάν γίνεται σε μια νέα συλλογή δειγμάτων που αποκτώνται ειδικά για τους σκοπούς της μελέτης επικύρωσης, τότε πρόκειται για προοπτική ανάλυση[19].

Η μέτρηση της απόδοσης της δοκιμής σε έναν πληθυσμό ασθενών διαφορετικό από την αρχική ομάδα στην οποία ανακαλύφθηκε ένας βιοδείκτης (δηλαδή, μια ομάδα επικύρωσης έναντι μιας ομάδας εκπαίδευσης) είναι ένα σημαντικό μέρος της διαδικασίας επικύρωσης. Με την ιδανική δοκιμή ανιχνεύονται όλοι οι ασθενείς που είναι πιθανό να έχουν ένα συγκεκριμένο αποτέλεσμα, όπως την ανταπόκριση στη θεραπεία. Ένα υψηλότερο ποσοστό αποδείξεων απαιτείται εάν ο βιοδείκτης προορίζεται να αντικαταστήσει ένα κλινικό τελικό σημείο (δηλαδή, να λειτουργήσει ως υποκατάστατο τελικό σημείο) παρά αν παρέχει απλώς υποστηρικτικά στοιχεία. Τα υποκατάστατα τελικά σημεία προβλέπουν την πιθανότητα κλινικού οφέλους. Για παράδειγμα, η μείωση του μεγέθους του όγκου μπορεί να αντιπροσωπεύει ένα υποκατάστατο τελικό σημείο για παρατεταμένη επιβίωση[19]. Πολλοί ενδιαφερόμενοι συμμετέχοντες παίρνουν μέρος στην εισαγωγή βιοδεικτών στην αγορά συμπεριλαμβανομένων ερευνητών, φαρμακευτικών και διαγνωστικών εταιριών, επαγγελματικών ή και ρυθμιστικών οργανώσεων. Εφόσον αυτοί οι φορείς είναι απαραίτητοι για την διαδικασία επικύρωσης είναι ζωτικής σημασίας να είναι αποτελεσματική η επικοινωνία μεταξύ τους ώστε να διασφαλιστεί ότι οι δοκιμασίες των βιοδεικτών εφαρμόζονται σε πρακτικές και κλινικές συνθήκες, που σχετίζεται με την αξιολόγηση των σχετικών κινδύνων που μπορεί να προκληθούν έναντι των ωφελειών της δοκιμής [19,20].

2.3 BRCA

Καθώς η κληρονομική μετάλλαξη στην αλληλουχία του DNA έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται άμεσα με την εμφάνιση καρκίνου, οι εξετάσεις για γενετικούς βιοδείκτες γίνονται ολοένα και πιο συχνοί, με τα γονίδια BRCA1 και BRCA2 να αποτελούν από τους πιο ισχυρούς. Ο έλεγχος για γενετικούς βιοδείκτες, έχει εξελιχθεί σημαντικά, ειδικά τα τελευταία χρόνια, αποτελεσματικά συμπληρώνοντας το οικογενειακό ιστορικό και την εύρεση της προδιάθεσης για πολλά νοσήματα. Τα άτομα που αποτελούν φορείς των μεταλλάξεων BRCA και που εντοπίζονται από πληθυσμιακές μελέτες εμφανίζουν χαμηλότερη διεισδυτικότητα της νόσου σε σύγκριση με εκείνα που εντοπίζονται μέσω οικογενειακών μελετών, κάτι που δεν είναι εκπληκτικό δεδομένου ότι το εντυπωσιακά εμφανές φαινότυπο στις οικογένειες προκάλεσε την αρχική μελέτη. Η συμπερίληψη συστάσεων παρακολούθησης για έλεγχο και πρόληψη για τους φορείς μετάλλαξης BRCA1 παραμένει ως πρότυπο φροντίδας, δεδομένου ότι υπάρχει περίπου,

κατά μέσω όρο, 57% πιθανότητα ανάπτυξης καρκίνου του μαστού και 40% πιθανότητα ανάπτυξης καρκίνου των ωοθηκών μέχρι την ηλικία των 70 ετών. Οι φορείς της μετάλλαξης BRCA2 εκτιμάται ότι έχουν, κατά μέσω όρο, 49% πιθανότητα καρκίνου του μαστού και 18% πιθανότητα καρκίνου των ωοθηκών[3].

Το γονίδιο BRCA1 βρίσκεται στο μακρίο βραχίονα του χρωμοσώματος 17 και το BRCA2 βρίσκεται στο μακρίο βραχίονα του χρωμοσώματος 13 και ο ρόλος τους σχετίζεται με την επιδιόρθωση του DNA μετά από κάποια βλάβη[21]. Το BRCA1 γονίδιο συγκεκριμένα είναι μεγάλο σε μέγεθος, εκτείνεται σε 100kb (μονάδα μέτρησης ζευγών νουκλεοτιδικών βάσεων), αποτελείται από 24 εξόνια (22 κωδικοποιούν και δύο δεν κωδικοποιούν) και κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη 1863 αμινοξέων[3,22]. Το BRCA2 εκτείνεται από τουλάχιστον 70.000 βάσεις και αποτελείται από 27 εξόνια[3]. Τα BRCA γονίδια αποτελούν κρίσιμα κομμάτια στην σειρά διάφορων διεργασιών που εξασφαλίζουν την ακεραιότητα του γονιδιώματος[21,22]. Βλάβη στο DNA είναι πιθανό να προκύψει από ένα απλό λάθος στην αντιγραφή του DNA καθώς και από την έκθεση σε διάφορους χημικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως την ακτινοβολία (υπεριώδη και ιονίζουσα), έκθεση σε μεταλλαξιογόνα χημικά, τοξίνες κτλ[21,23].

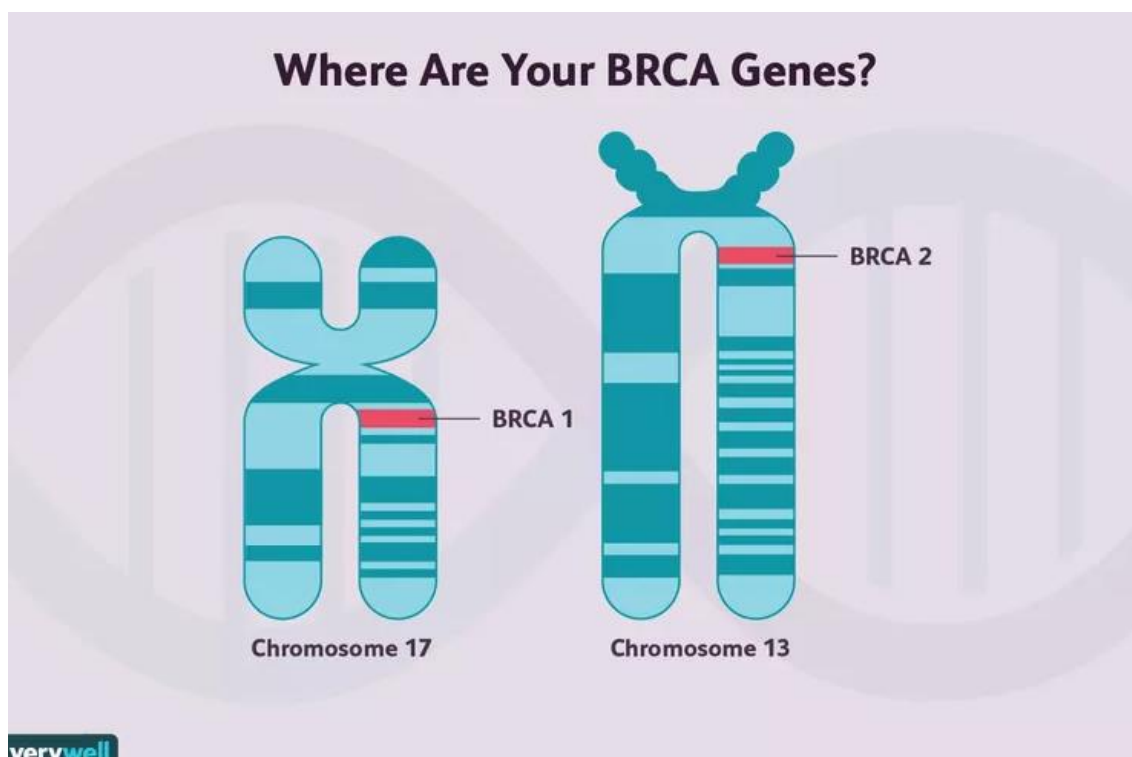


Figure 1

Απεικόνιση BRCA1 & BRCA2 στα χρωμοσώματα τους

Eldridge, L., MD. (2022, March 23). BRCA mutations and breast cancer. Verywell Health.

Οι αλλαγές ή οι περικοπές που γίνονται πρόωρα στις πρωτεΐνες BRCA1 και BRCA2 αποτελούν τις κύριες γονιδιωματικές μεταλλάξεις που προκαλούν την ευαισθησία του οργανισμού σε βλάβες και, με την συσσώρευση των βλαβών, γίνεται ένα οργανισμός επιρρεπείς σε δημιουργία όγκων[3,1]. Αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει και συνδέσει τη θέση των μεταλλάξεων στα γονίδια BRCA1 και BRCA2 με συγκεκριμένους φαινότυπους και ισχύει το γεγονός ότι οι μεταλλάξεις που προκαλούν πρόωρο τερματισμό της πρωτεΐνης και οι μεταλλάξεις μετατόπισης πλαισίου που βρίσκονται στις κεντρικές περιοχές των κωδικών αλληλουχιών[3]. Υπάρχουν έως και στο 25% των ασθενών, ανάλογα με την αλλαγή στα γονίδια BRCA αντίστοιχα, παραλλαγές στις μεταλλάξεις, χωρίς να έχει εξακριβωθεί η σημασία τους, δηλαδή εάν είναι παθογόνες ή πιθανές παθογόνες[3,1]. Πιο συγκεκριμένα, για τα BRCA γονίδια έχουν βρεθεί πολλές ξεχωριστές παραλλαγές που προκύπτουν από αλλαγές, μεταλλάξεις, εισαγωγές και διαγραφές των βάσεων εντός της περιοχής των γονιδίων[3]. Στον γονίδιο BRCA1 υπάρχουν περίπου 4300 παραλλαγές ενώ στο BRCA2 έχουν εντοπιστεί 5200. Από το σύνολο των παραλλαγών, περίπου το 80% αυτών προκαλούν τον σχηματισμό προώρων κωδικονίων διακοπής επηρεάζοντας την πρωτεϊνική λειτουργία[1]. Η γονιδιωματική θέση της μετάλλαξης BRCA1/2 ενός ασθενούς και ο κίνδυνος από τα τροποποιητικά γονίδια υποδηλώνουν ότι οι φορείς της μετάλλαξης BRCA1 στην υψηλότερη κατηγορία κινδύνου μπορεί να έχουν πιθανότητα 81% ή μεγαλύτερη για ανάπτυξη καρκίνου του μαστού και 63% ή μεγαλύτερη πιθανότητα για καρκίνο των ωοθηκών μέχρι την ηλικία των 80 ετών. Αντίστοιχα, οι φορείς της μετάλλαξης BRCA2 με τον μεγαλύτερο κίνδυνο μπορεί να έχουν πάνω από 83% πιθανότητα για ανάπτυξη καρκίνου του μαστού μέχρι την ηλικία των 80 ετών. Σε συνδυασμό με άλλες μεταβλητές που τροποποιούν τον κίνδυνο στους φορείς μεταλλάξεων BRCA1/2, τα αναδυόμενα δεδομένα βιοδεικτών σχετικά με τη θέση της μετάλλαξης και τα τροποποιητικά γονίδια προσφέρουν τη δυνατότητα για πιο ακριβείς εκτιμήσεις κινδύνου και αξιολογήσεις πιθανούς συμπεριφοράς των όγκων στον καρκίνο του μαστού. Λόγω της έλλειψης στατιστικής ισχύος για σπάνιες παραλλαγές ή μεμονωμένες παραλλαγές αβέβαιης σημασίας (VUS), έχουν αναπτυχθεί in vitro δοκιμές υψηλής απόδοσης που βασίζονται σε κύτταρα για την αξιολόγηση της επίδρασης των παραλλαγών στις καθιερωμένες λειτουργίες των πρωτεϊνών BRCA1 και BRCA2. Αυτές οι δοκιμές χρησιμοποιούν γνωστούς ελέγχους φυσιολογικών και παθογόνων μεταλλάξεων για να εκτιμήσουν την ευαισθησία και την ειδικότητα για κάθε VUS ή συγκεκριμένο βιοδείκτη παραλλαγής. Δεδομένου ότι οι ασθενείς με καρκίνο του μαστού που φέρουν μεταλλάξεις στο γονίδιο BRCA1 τείνουν να έχουν όγκους που εμφανίζουν χαρακτηριστικά πιο επιθετικής νόσου, οι γονιδιωματικοί βιοδείκτες κινδύνου μπορεί επίσης να επηρεάσουν τον φαινότυπο (π.χ. την κατάσταση των υποδοχέων οιστρογόνων) της

κληρονομικής νόσου. Καθώς ανιχνεύονται και κλινικά επικυρώνονται περισσότερες παραλλαγές μέτριου κινδύνου ή βιοδείκτες στα γονίδια προδιάθεσης για τον καρκίνο του μαστού, μπορεί να αναπτυχθούν εξατομικευμένα μέτρα παρακολούθησης και προφύλαξης. Αυτές οι προσαρμοσμένες προσεγγίσεις μπορεί να βελτιώσουν σημαντικά την ικανότητα πρόληψης και έγκαιρης διάγνωσης του καρκίνου του μαστού σε άτομα με αυξημένο γενετικό κίνδυνο[3].

Εξίσου σημαντικό είναι να σημειωθεί ότι έχουν παρατηρηθεί ότι υπάρχουν πιο συχνά τέτοιες μεταλλάξεις στα γονίδια BRCA σε άτομα εβραϊκής καταγωγής Ασκενάζι (3% ιδρυτικές μεταλλάξεις), πιο ειδικά δύο μεταλλάξεις στο BRCA1 (185delIG & 5382insC) και μία μετάλλαξη στο BRCA2 (6174delIT). Αυτές οι μεταλλάξεις είναι μη-ιδρυτικές και έτσι μπορεί να απαιτηθεί αντανakλαστική πλήρης αλληλούχιση γονιδίων εάν οι ιδρυτικές μεταλλάξεις δεν είναι αποκαλυπτικές αλλά είναι ευκολά περιγραφόμενες και καλά μελετημένες. Σε διάφορες πληθυσμιακές ομάδες, για παράδειγμα σε ολλανδικούς και ισπανόφωνους πληθυσμούς έχουν παρατηρηθεί ιδρυτικές μεταλλάξεις που χρειάζεται στοχευμένη αλληλούχιση για συγκεκριμένες μεταλλάξεις των γονιδίων BRCA1 και BRCA2 πριν από την αναγκαία πλήρη γονιδιακή εξέταση σε περιπτώσεις αρνητικού αποτελέσματος[3].

Το γονίδιο BRCA1 συμμετέχει σε πολλές κυτταρικές διεργασίες, όπως η ρύθμιση της μεταγραφής, η απόπτωση, η ενωτική της ουβικουιτίνης (Ub), η επιδιόρθωση συνδεδεμένη με τη μεταγραφή και η αναδιαμόρφωση της χρωματίνης. Ωστόσο, η πιο γνωστή αντικαρκινική λειτουργία του BRCA1 σχετίζεται με τον ρόλο του στην προαγωγή της γονιδιακής σταθερότητας. Η φωσφορυλίωση είναι μια σημαντική βιοχημική διαδικασία που περιλαμβάνει την προσθήκη μιας φωσφορικής ομάδας (PO_4^{3-}) σε μια πρωτεΐνη, που καταλύεται από ένζυμα γνωστά ως κινάσες, και παίζει κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση πολλών κυτταρικών λειτουργιών, συμπεριλαμβανομένης της σηματοδότησης, του μεταβολισμού και του ελέγχου του κυτταρικού κύκλου. Η υπερφωσφορυλίωση του BRCA1 οδηγεί στη γρήγορη μεταφορά του στα σημεία αναπαραγωγής, όπου οργανώνονται και συλλέγονται πολλαπλά και διαφορετικά πρωτεϊνικά συμπλέγματα που αναγνωρίζουν και επιδιορθώνουν το κατεστραμμένο DNA και ενεργοποιούν τα σημεία ελέγχου του κυτταρικού κύκλου. Διάφορες υπολείμματα σερινών (serine) (S988, S1189, S1387, S1423, S1457, S1524 και S1542) φωσφορυλιώνονται από τις κινάσες (Checkpoint Kinase 1 και 2/Chk1 και Chk2 αντίστοιχα), ATR ή ATM. Το BRCA1 επηρεάζει την επιλογή του κυττάρου να εισέλθει στις οδούς επιδιόρθωσης μη ομόλογης σύνδεσης τελών (NHEJ) ή ομόλογου ανασυνδυασμού (HRR) για την επιδιόρθωση κατεστραμμένου DNA. Η σερίνη γενικότερα είναι ένα από τα 20 αμινοξέα που αποτελούν τις πρωτεΐνες. Η θέση S988

αναφέρεται συνήθως στην 988η θέση μιας συγκεκριμένης πρωτεΐνης όπου η σερίνη βρίσκεται στην ακολουθία της αμινοξέων, και αυτό ισχύει αντίστοιχα για τις σερίνες S1189, S1387, S1423, S1457, S1524 και S1542. Οι σερίνες και οι θέσεις στις πρωτεΐνες τους μπορούν να είναι σημαντική για τη ρύθμιση της δραστηριότητας των πρωτεϊνών. Οι τροποποιήσεις σε αυτές τις θέσεις μπορούν να επηρεάσουν τη λειτουργία, την αλληλεπίδραση και τη σταθερότητα της πρωτεΐνης. Το BRCA1-BARD1 ενισχύει την εισβολή του DNA στην οδό HR με την άμεση αλληλεπίδραση με το RAD51. Η RAD51 είναι μια ATP-δεσμευτική πρωτεΐνη που σχηματίζει νήματα επάνω στο μονόκλωνο DNA (ssDNA) κατά τη διάρκεια της ομόλογης ανασυνδυαστικής επιδιόρθωσης και παίζει κρίσιμο ρόλο στη διατήρηση της σταθερότητας του γονιδιώματος και στην πρόληψη της καρκινογένεσης. Συγκεκριμένα, το BRCA1-BARD1 επιτρέπει τη σύλληψη ομόλογου διπλού DNA από το σύμπλοκο RAD51-ssDNA και τη συναρμολόγηση του συνάπτικου συμπλόκου, σχηματίζοντας το βρόχο μετατόπισης (D-loop). Επίσης, το BRCA1-BARD1 βοηθά στη ρύθμιση των σημείων ελέγχου του κυτταρικού κύκλου αντιπαραθέτοντας την 53BP1 κατά την επεξεργασία των άκρων του DNA και προάγοντας τη δραστηριότητα της νουκλεάσης επεξεργασίας MRN/CtIP[9].

Διάφορες μελέτες έχουν επιβεβαιώσει τον άμεσο ρόλο που παίζει το γονίδιο BRCA1 στην περίπτωση βλαβών σε μία έλικα DNA, καθώς τα κύτταρα που στερούνται BRCA1 δείχνουν σοβαρά μειωμένη επιδιόρθωση διπλών βλαβών DSR μέσω SSR. Ο σχηματισμός του συμπλόκου BRCA1-BARD1 είναι κρίσιμος για τον ρόλο του BRCA1 στην επιδιόρθωση DSR όπου τα άκρα και των δύο ελικών του DNA επεξεργάζονται για να παραχθούν 3' μονόκλωνα DNA άκρα τα οποία καλύπτονται με την πρωτεΐνη αναπαραγωγής A (RPA), η οποία στη συνέχεια αντικαθίσταται από την πρωτεΐνη ανασυνδυασμού RAD51, προωθώντας και αποτελεσματικά εκκινώντας την διαδικασία της αποκατάστασης των ελικών του DNA. Οι έλεγχοι βλάβης του DNA που συμβαίνουν στις φάσεις G1/S και G2/M όταν το DNA έχει υποστεί βλάβη, συμβάλλουν στην επιβίωση του κυττάρου. Η φάση G1 (Gap1) είναι η πρώτη από τις τέσσερις φάσεις του κυτταρικού κύκλου που πραγματοποιείται πριν την σύνθεση του DNA (φάση S) και κατά τη διάρκεια της, το κύτταρο αυξάνει το μέγεθος του και παράγει τις απαραίτητες πρωτεΐνες και οργανίδια. Η φάση S (Synthesis phase) του κυτταρικού κύκλου είναι η περίοδος κατά την οποία το DNA του κυττάρου διπλασιάζεται και κάθε χρωμόσωμα του κυττάρου αντιγράφεται για να παραχθεί ένα ζευγάρι αδελφών χρωματίδων εξασφαλίζοντας ότι κάθε νέο κύτταρο θα έχει μια πλήρη αντιγραφή του γονιδιώματος. Η φάση G2 (Gap2) του κυτταρικού κύκλου είναι η περίοδος μεταξύ της ολοκλήρωσης της φάσης S (όπου το DNA έχει διπλασιαστεί) και της έναρξης της μίτωσης (M phase) με ρόλο την εξασφάλιση ότι το DNA

έχει διπλασιαστεί σωστά και ότι το κύτταρο έχει τα απαραίτητα αποθέματα και μηχανισμούς για να προχωρήσει στη μίτωση. Η φάση Μ αποτελεί την περίοδο κατά την οποία ο κυτταρικός πυρήνας διαιρείται σε δύο κυτταρικά πυρήνια και χωρίζεται σε συγκεκριμένα στάδια, όπως η πρόφαση (prophase), η μετάφαση (metaphase), η ανάφαση (anaphase) και η τελόφαση (telophase). Το BRCA1 αλληλεπιδρά με διάφορα πρωτεϊνικά συμπλέγματα για να ενεργοποιήσει κάθε φάση, και αποτελεί ειδικά σημαντικό στην φάση S όπου, με την βοήθεια της ρυθμιστικής κινάσης Chk1 και της διαδικασίας της φωσφορυλίωσης της σερίνης S1387, ελέγχει την δραστηριότητα και λειτουργία της φάσης όταν δημιουργούνται βλάβες στο DNA κυττάρων και, με την απουσία λειτουργικού γονιδίου BRCA1, δεν μπορεί να γίνει αποκατάσταση του DNA στην φυσική λειτουργική του μορφή του. Η διαδικασία του ελέγχου της φάσης S προκαλείται με ακτινοβολία. Η μετάλλαξη της σερίνης S1423 προκαλεί την πλήρη αναστολή της λειτουργικής δυνατότητας του BRCA1 που ως αποτέλεσμα προκαλεί την ακινητοποίηση της φάσης G2 με Μ ενώ διατηρεί τη λειτουργία επιδιόρθωσης DNA. Το BRCA1 αλληλεπιδρά με το σύμπλοκο MRN, το οποίο σαρώνει τα κύτταρα για διπλά σημεία θραύσης και ενεργοποιεί άμεσα το ATM το οποίο απαιτείται για τη φωσφορυλίωση της σερίνης 1387 του BRCA1, αλλά όχι της σερίνης 1423. Η μετάλλαξη της σερίνης 988 του BRCA1 μπορεί να διαταράξει τη λειτουργία του στην επιδιόρθωση DNA μέσω της ομόλογης αναδιάταξης, γεγονός που δεν επηρεάζει τον έλεγχο της φάσης S. Οι μεταλλάξεις της σερίνης S1423/1524 συνδέονται με τη φυσιολογική ομόλογη αναδιάταξη αλλά αναστέλλεται η ικανότητα του ελέγχου της φάσης G2-M. Στον έλεγχο της φάσης G1-S, το BRCA1 διαμεσολαβεί στη φωσφορυλίωση του p53 από το ATM μετά από βλάβη του DNA, οδηγώντας στην έκφραση του p21, ενός αναστολέα της κινάσης CDK[9].

Το BRCA1 γονίδιο παράγει μια πρωτεΐνη που κινείται από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα, με το BARD1 παίζει ρόλο στη μεταφορά του BRCA1 στον πυρήνα. Η απόπτωση, που εξαρτάται από το γονίδιο BRCA1, προκύπτει όταν το σύμπλοκο BRCA1-BARD1 διαταράσσεται και το BRCA1 συσσωρεύεται στο κυτταρόπλασμα. Η μετακίνηση του BRCA1 μεταξύ κυτταρικών διαμερισμάτων είναι κρίσιμη για τη λειτουργία του, εφόσον η απόπτωση, που προκαλείται από το BRCA1, ενεργοποιείται από την πυρηνική έξοδο του BRCA1 ενώ το BARD1 μειώνει την απόπτωση που προκαλείται από το BRCA1 μέσω της πυρηνικής του κράτησης. Όταν συμβαίνουν βλάβες στο DNA, το BRCA1 εξάγεται στο κυτταρόπλασμα με έναν τρόπο εξαρτώμενο από το p53. Η περιοχή BRCT του BRCA1 είναι σημαντική για την αλληλεπίδρασή του με το p53, ενώ επηρεάζει τη δέσμευση του BRCA1 και του BARD1, οδηγώντας στην πυρηνική εξαγωγή του BRCA1. Η πυρηνική εξαγωγή του

BRCA1 συνδέεται στενά με την προ-αποπτωτική του λειτουργία, η οποία διακυβεύεται από μεταλλάξεις στην περιοχή της N-τερματικής πυρηνικής ακολουθίας εξαγωγής (NES) και την πυρηνική κατακράτηση του BRCA1 με τη μεσολάβηση BARD1. Αυτό υποδηλώνει διπλό ρόλο για το σύμπλοκο BRCA1-BARD1, το οποίο λειτουργεί στην επιβίωση των κυττάρων μέσω της επιδιόρθωσης του DNA όταν εντοπίζεται στον πυρήνα, ενώ προάγει μεμονωμένα την απόπτωση κατά την κυτταροπλασματική εξαγωγή. Καθώς περισσότερο από το 50% των στερεών όγκων εμφανίζουν μεταλλάξεις στο p53, είναι πιθανό ότι η συγκεκριμένη μετάλλαξη του BRCA1 μπορεί να λειτουργήσει με διαταραγμένη πυρηνικό-κυτταροπλασματική μεταφορά σε ασθενείς με επικράτηση του δυσλειτουργικού p53 στο καρκίνου του μαστού. Το BRCA1 υφίσταται διάφορες μετατροπές ως πρωτεΐνη μετά τη μεταφραστική του διαδικασία, όπως η φωσφορυλίωση και η συμπίεση, οι οποίες μπορεί να επηρεάσουν την πυρηνική του κυκλοφορία. Η κατάσταση φωσφορυλίωσης του BRCA1 αλλάζει κατά την διάρκεια του κύκλου κυττάρου, και η φωσφορυλιωμένη μορφή του μετακινείται στην περιπυρηνική περιοχή του κυττάρου κατά τη διάρκεια της φάσης S. Η πυρηνική εξαγωγή του BRCA1 που σχετίζεται με τον κύκλο κυττάρων εμπλέκει με ένα μηχανισμό εξαρτώμενο από το ασβέστιο. Επίσης το BRCA1 εμπλέκεται στην απόπτωση εξαρτημένη από το p53 ρυθμίζοντας την έκφραση του γονιδίου PIG3, ένα μέρος της πρωτεΐνης του p53. Αρκετά κλινικά δεδομένα υποδεικνύουν μια σημαντική σχέση μεταξύ των εκφράσεων του PIG και του BRCA1 και την διασύνδεση τους με την αυξημένη επιβίωση των ασθενών με καρκίνο του μαστού[9].

Ο υποδοχέας οιστρογόνων (ER) είναι μια πρωτεΐνη που παίζει καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση της ανάπτυξης και της λειτουργίας των οργάνων και ιστών που επηρεάζονται από τα οιστρογόνα. Το σύμπλεγμα του οιστρογόνου (E2) με τον οιστρογόνο (ER) σχετίζεται με την πρόοδο του κύκλου κυττάρων και την πρόληψη της απόπτωσης, ενώ με την απουσία του E2 συμπλόκου προκαλεί μη-προγραμματισμένο και αχρείαστο κυτταρικό θάνατο. Το BRCA1-BARD1 σύμπλοκο απαιτείται για την ουβικουιτινοποίηση (διαδικασία τροποποίησης πρωτεϊνών μετά την φάσης της μετάφρασης για να γίνουν λειτουργικές) και την αποσύνθεση του ERα, που έχει ως ρόλο την σήμανση για αναστολή της απόπτωσης, η οποία λειτουργία σταματάει στην περίπτωση που είτε το BRCA1 είτε το BARD1 μεταλλαχθούν ή έχει αλλάξει η λειτουργία τους. Έτσι φαίνεται πως ειδικά το γονίδιο BRCA1 με τη πρωτεΐνη του BARD1 έχουν την ικανότητα να ενισχύσουν την λειτουργικότητα του ER, με αποτέλεσμα να ελέγχουν την διαδικασία και την ρύθμιση του ρυθμού της απόπτωσης[9].

Οι υποδοχείς της ανοσιτόλης 1,4,5-τριφωσφάτης (IP3Rs) είναι πρωτεΐνες που βρίσκονται στην μεμβράνη του ER και είναι σημαντικοί στη ρύθμιση των επιπέδων του

ενδοκυτταρικού ασβεστίου, παίζοντας καθοριστικό ρόλο σε πολλές κυτταρικές λειτουργίες ως μέσα μεταφοράς ασβεστίου. Το BRCA1 δένει στους υποδοχείς IP3Rs για τη διευκόλυνση της απελευθέρωσης απόπτωσης του ασβεστίου, η οποία μεσολαβείται από τους IP3Rs και ρυθμίζει πολλά μονοπάτια σήμανσης, συμπεριλαμβανομένων αυτών που συμμετέχουν στην απόπτωση. Επιπρόσθετη επιρροή του γονιδίου BRCA1 είναι η πρόκληση του θανάτου των κυττάρων ενεργοποιώντας το γονίδιο αναστολής ανάπτυξης και βλάβης του DNA 45 (GADD45) με έναν τρόπο που δεν εξαρτάται από τον p53. Το BRCA1 μπορεί είτε να ενεργοποιήσει το GADD45 μέσω της αλληλεπίδρασης με τα μοτίβα Oct-1 και CAAT του γονιδίου GADD45 είτε να αναστείλει το GADD45 μέσω της αλληλεπίδρασης με ένα πρωτεΐνη μεταλλικού δακτυλίου, το ZBRK1. Σημαντικό είναι να σημειωθεί ότι η παρουσία φωσφορυλιωμένου BRCA1 στα μιτοχόνδρια αλληλεπιδράει με το Bcl2 στο ενδοπλασματικό δίκτυο υποδηλώνοντας την πολύπλευρη λειτουργία και χρήση του γονιδίου BRCA1 και των παράγωγων του στην απόπτωση, με τη συμμετοχή του να επεκτείνεται και σε αντι-αποπτωτικές πρωτεΐνες Bcl2[9].

Ενώ το BRCA1 είναι κυρίως πυρηνικό σε φυσιολογικά και καρκινικά κύτταρα από ιστούς άλλους από τους ιστούς του μαστού και των ωοθηκών, ο εντοπισμός του μετατοπίζεται στο κυτταρόπλασμα στα καρκινικά κύτταρα του μαστού και των ωοθηκών. Επιπλέον, μελέτες έχουν δείξει μια συσχέτιση μεταξύ του κυτταροπλασματικού BRCA1 και της ενεργοποίησης της ενδογενούς οδού διάσπασης της κασπάσης (οικογένεια ενζύμων που παίζουν κρίσιμο ρόλο στη διαδικασία της απόπτωσης, ένζυμα κόβουν πρωτεΐνες σε συγκεκριμένες θέσεις με βάση το αμινοξύ ασπαρτικό οξύ) μετά από βλάβη του DNA. Ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο το κυτταροπλασματικό BRCA1 επάγει τον κυτταρικό θάνατο παραμένει ατελώς κατανοητός αλλά πιθανότατα περιλαμβάνει πολύπλοκη αλληλεπίδραση με διάφορους κυτταρικούς παράγοντες, ενώ η μείωση των επιπέδων του πυρηνικού BRCA1 έχει δείξει ανεξάρτητες ευνοϊκές επιδράσεις τόσο στα ποσοστά επιβίωσης χωρίς υποτροπή όσο και στο συνολικό ποσοστό επιβίωσης των ασθενών. Το κυτταροπλασματικό BRCA1 παρουσιάζει διακριτές συσχετίσεις σε σύγκριση με το αντίστοιχο πυρηνικό του, ιδιαίτερα σε σχέση με τους κλασσικούς ιστολογικούς και μορφολογικούς δείκτες, εκτός από τη μετάσταση στους λεμφαδένες, με τη προγνωστική σημασία της πρωτεΐνης BRCA1 να ποικίλλει ανάλογα με τον υποκυτταρικό εντοπισμό της. Η ανίχνευση του BRCA1 στον πυρήνα τείνει να σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση, ενώ το κυτταροπλασματικό BRCA1 συνδέεται με χαμηλότερα ποσοστά υποτροπής, που αποδίδονται σε μειωμένη μετάσταση στους λεμφαδένες, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται θεραπευτικές στρατηγικές με στόχο την ρύθμιση του εντοπισμού του BRCA1

για την ευαισθητοποίηση των όγκων του μαστού στη χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία[9].

2.4 Συστήματα Επιδιόρθωσης DNA

Το DNA φυσιολογικά αντιγράφεται συνεχώς και η διαίρεση των κυττάρων είναι διαρκώς απαραίτητη[22]. Τα κύτταρα του ανθρώπινου οργανισμού έχουν μία εξαιρετικά συγκεκριμένη και διατηρημένη δομή DNA, παρόλο που υπάρχουν πιθανές βλάβες, και αυτό οφείλεται στα αποτελεσματικά συστήματα επιδιόρθωσης του γονιδιώματος. Τα συστήματα επιδιόρθωσης DNA αποτελούνται από ένα σύνολο πρωτεϊνών και ενζύμων που εντοπίζουν πιθανές βλάβες και, όταν είναι αναγκαίο, σταματούν την διαδικασία αντιγραφής. Ο μηχανισμός αυτός ονομάζεται οδός απόκρισης βλάβης DNA. Τα συστήματα αυτά μπορούν όμως να υποστούν διαταραχές με αποτέλεσμα να υπάρχει γενικά μια γονιδιωματική αστάθεια και, με την συσσώρευση των βλαβών και μεταλλάξεων που υπέστη το DNA, να χρειαστεί προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος ή πιθανή ανάπτυξη όγκου, ως εναλλακτική για την διατήρηση σταθερότητας του γονιδιώματος[7,22]. Ο καρκίνος του μαστού, όπως και άλλοι καρκίνοι, βασίζεται στην γονιδιωματική αστάθεια και την ανεπαρκή επιδιόρθωση του DNA δημιουργώντας ένα ποσοστό προδιάθεσης για καρκινογένεση[22].

Φυσιολογικά υπάρχουν πολλοί οδοί απόκρισης βλάβης του DNA που έχει την ικανότητα να χρησιμοποιήσει ένα κύτταρο. Η επιλογή του συστήματος που θα χρησιμοποιήσει εξαρτάται από το είδος της βλάβης που έχει γίνει το DNA ώστε να διορθωθούν αποτελεσματικά τα σφάλματα. Η ποικιλία των διάφορων οδών απόκρισης βλάβης DNA συμπεριλαμβάνει την επισκευή μονού ή και διπλού κλώνου (single strand/ double strand repair), στα οποία συστήματα υπάγονται μηχανισμοί για την επιδιόρθωση εκτομής νουκλεοτιδίων (nucleotide excision repair), για την αποκατάσταση μέσω μη-ομόλογων οδών τελικής σύνδεσης (non-homologous end joining), την αποκατάσταση μέσω του ομόλογου ανασυνδυασμού (homologous recombination repair)[3,7,21].

Στην επισκευή μονού κλώνου DNA εμπεριέχονται μηχανισμοί για την επιδιόρθωση εκτομής νουκλεοτιδίων (NER), για την επισκευή εκτομής βάσεων (base excision repair ή BER) και για το βιοχημικό μονοπάτι της μικροδορυφορικής αστάθειας (MSI). Ο μηχανισμός επιδιόρθωσης εκτομής νουκλεοτιδίων λειτουργεί με στόχο να αφαιρέσει ποικίλες βλάβες στο DNA, συγκεκριμένα βλάβες που έχουν παραμορφώσει την έλικα του DNA, που δημιουργήθηκαν από υπερϊώδη ακτινοβολία, μεταλλαξιογόνες χημικές ουσίες κτλ. Ο μηχανισμός NER αναγνωρίζει τις αλλαγές στην έλικα του DNA μέσω πρωτεϊνικών

συμπλεγμάτων, ‘ξετυλίγει’ το DNA με το ένζυμο της ελικάσης και, με την βοήθεια πρωτεϊνών, γίνεται αφαίρεση του τμήματος του DNA που εμπεριέχει την βλάβη. Με την αφαίρεση της προβληματικής περιοχής συμπληρώνεται το κενό όπου η DNA πολυμεράση συνθέτει ένα καινούργιο κλώνο. Ο κυτταρικός μηχανισμός επιδιόρθωσης εκτομής βάσεων (BER) αναγνωρίζει, με την χρήση συγκεκριμένων ενζύμων, λάθη σε ένα μικρό αριθμό βάσεων, που μπορεί να προκληθεί από οξειδωτικό άγχος και άλλους ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες. Το λανθασμένο κομμάτι βάσεων αφαιρείται με την καταστροφή του δεσμού του αζώτου μεταξύ της έλικας και των βάσεων και αντικαθίσταται με την σωστή αλληλουχία νουκλεοτιδίων που είναι συμπληρωματικά στην έλικα, με την χρήση DNA πολυμεράσης. Η μικροδορυφορική αστάθεια (MSI) είναι η παρουσία βλαβών στο μήκος σύντομων (έκταση 1-6 νουκλεοτίδια) συγκεκριμένων επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών DNA, των μικροδορυφόρων, που μπορεί να προκληθεί κατά την διάρκεια της αντιγραφής, όταν γίνεται λάθος στην αντιστοίχιση νουκλεοτιδίων. Όταν αυτά τα λάθη δεν διορθώνονται μεταβάλλεται το μήκος των μικροδορυφόρων που οδηγεί στην μικροδορυφορική αστάθεια. Όσο μεγαλύτερη η συσσώρευση των βλαβών τόσο επεκτείνονται ή αναστέλλονται οι μικροδορυφόροι άρα αυξάνεται η αστάθεια. Ο μηχανισμός NER είναι αναγκαίος για την διατήρηση της ακεραιότητας των κυττάρων από βλάβες σε ένα σχετικά μεγάλο κομμάτι βάσεων στην έλικα DNA. Ο μηχανισμός BER προστατεύουν την γονιδιωματική σταθερότητα με την επιδιόρθωση λανθασμένων βάσεων. Η MSI παρουσιάζει συνήθως ένα ιδιαίτερο μοριακό φαινότυπο, παρατηρείται σε ορισμένους καρκίνους και επηρεάζει άμεσα την απόφαση για θεραπεία σε καρκινοπαθείς. Αυτοί οι μηχανισμοί όταν λειτουργούν αποτελεσματικά και συνδυαστικά εξασφαλίζεται η διατήρηση και ακεραιότητα της έλικας DNA[7,24].

Παρ’ όλα αυτά εάν οι βλάβες είναι πιο εκτεταμένες και δεν επιδιορθώνονται από την επισκευή μονού κλώνου DNA, η βλάβη επεκτείνεται και στις δύο έλικες και είναι απαραίτητη η επισκευή σε διπλό κλώνο DNA. Οι βλάβες του διπλού κλώνου DNA είναι μία από τις πιο δύσκολες επισκευές εφόσον είναι απαραίτητα εξειδικευμένα συστήματα και μηχανισμοί για να γίνει αποκατάσταση του DNA. Παρουσιάζονται λόγω διάφορων πηγών, συμπεριλαμβανομένης της έκθεσης σε ιονίζουσας ακτινοβολίας, της χημειοθεραπείας ή/και από φυσιολογικές ενδογενείς κυτταρικές διεργασίες. Η βλάβη και των δυο ελικών οδηγεί σε απώλεια μεγάλης ποσότητας νουκλεοτιδίων ενώ η ανεπαρκής επιδιόρθωσή τους μπορεί να προκαλέσει μεταλλάξεις στο γονιδίωμα. Η αποτυχία επιδιόρθωσης οδηγεί σε γονιδιωματική αστάθεια, χρωμοσωμικές ανωμαλίες και κυτταρικό θάνατο. Για την επαρκή/πλήρη επαναφορά των ελικών DNA από τις βλάβες χρησιμοποιούνται δύο κατηγορίες συστημάτων, η επισκευή μέσω

του ομόλογου ανασυνδυασμού (homologous recombination repair/ HRR) και η επισκευή μέσω μη-ομόλογων οδών τελικής σύνδεσης (non-homologous end joining/ NHEJ). Η πρωτεΐνη Mre-11-Ras50-Nbs (MRN) είναι η πρώτη ανταποκρίτρια πρωτεΐνη σε βλάβη των δύο ελικών και καθορίζει ποιο από τα δύο συστήματα θα ενεργοποιηθεί. Πιο συγκεκριμένα, Mre-11-Ras50-Nbs (MRN) είναι ένα σύμπλοκο πρωτεϊνών που αποτελείται από την Mre-11, ενζυμική πρωτεΐνη που παρέχει ενδονουκλεοτιδική ενέργεια και απομακρύνει κομμένα κομμάτια DNA, την Ras50, με την αναγνώριση βλαβών σταθεροποιεί άκρα DNA και διεξάγει επισκευές, και την Nbs, αναγνωρίζει τις βλάβες και ενεργοποιεί το σύμπλοκο MRN[7,21,24,25].

Η επισκευή μέσω του ομόλογου ανασυνδυασμού HRR αποτελεί μηχανισμό ακριβούς επιδιόρθωσης που υπάρχει στα θηλαστικά και είναι πολύ σημαντική για την διατήρηση της ακεραιότητας των ελικών DNA και διεξάγεται κυρίως από τα γονίδια BRCA1 και BRCA2[8,26]. Η HRR εμφανίζεται κατά την διάρκεια δύο φάσεων του κυτταρικού κύκλου: στη φάση S, όπου διπλασιάζεται το DNA και δημιουργείται ένα αντίγραφο της πλήρους γενετικής πληροφορίας, και στη φάση G2, όπου τα υλικά των κυττάρων αυξάνονται ως προετοιμασία για την διαίρεση που συμβαίνει αμέσως μετά την φάση G2. Η εμφάνιση του είναι στρατηγική εφόσον υπάρχει η αδερφή χρωματίδα κοντά και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πρότυπο για την επισκευή, με στόχο να υπάρχουν στο τέλος της λειτουργίας του μηχανισμού δύο άθικτα χρωμοσώματα που έχουν απλά ανταλλάξει DNA [8,24,26]. Ο ρόλος του BRCA1 στον μηχανισμό, με την βοήθεια του BRCA2, είναι η ανίχνευση της βλάβης και η απομάκρυνση του λανθασμένου DNA, η σχηματίση και οργάνωση των απαραίτητων σύμπλοκων πρωτεϊνών και ολοκλήρωση της επισκευής. Πιο αναλυτικά, το BRCA1 και το BRCA2 συνδυάστηκαν ανιχνεύουν την λανθασμένη περιοχή, και με την RAD51, προσκολλούνται στα λανθασμένα κομμάτια. Η RAD51 είναι μία DNA-εξαρτώμενη ΑΤΡαση. Αυτό το σύμπλοκο εισέρχεται στην διπλή έλικα DNA. Το BRCA2, εφόσον αναγνωριστεί και παραχθεί από την πρωτεΐνη-τελεστή PALB2, επιτρέπει την DNA πολυμεράση να αντικαταστεί τα νουκλεοτίδια επιδιορθώνοντας αποτελεσματικά τις έλικες DNA[24,25,26,27].

Η επισκευή μέσω μη-ομόλογων οδών τελικής σύνδεσης (NHEJ) χρησιμοποιείται για την επίλυση βλαβών γενικότερα, επειδή είναι γρήγορη και δεν είναι απαραίτητη η ύπαρξη κλώνου για την επιδιόρθωση, αλλά κύρια χρήση της είναι για τις βλάβες διπλής έλικας. Ο μηχανισμός αναγνωρίζει τα λάθη και απομακρύνει τις ενδεχόμενες βλάβες από τις άκρες. Γίνεται ενδιάμεση συνένωση με ειδικές πρωτεΐνες και εάν προκύψουν λάθη στην συνένωση, υπεύθυνη είναι η DNA λιγάση για την διόρθωση. Το σύστημα αυτό επιδιορθώνει τα λανθασμένα μέρη των ελικών του DNA με την σύνδεση των ‘κομμένων’ άκρων της

αλληλουχίας, είτε με άλλα σωστά κομμάτια DNA είτε αξιοποιεί κάποιες ειδικές πρωτεΐνες, χωρίς να είναι απαραίτητα ίδιο το τελικό κομμάτι με την κύρια αλληλουχία DNA. Σε σχέση με την επισκευή μέσω του ομόλογου ανασυνδυασμού HRR, η επισκευή μέσω μη-ομόλογων οδών τελικής σύνδεσης (NHJE) δεν χρησιμοποιεί ένα πλήρες κλώνο DNA για την ακριβείς επισκευή, το μόριο DNA πιθανώς δεν είναι το ίδιο με το αρχικό σωστό μόριο DNA. Η επισκευή μέσω μη-ομόλογων οδών τελικής σύνδεσης (NHJE) προστατεύει το DNA από πιθανή νουκλεολυτική διάλυση και βοήθα στην ύπαρξη ποικιλομορφίας στην λειτουργία των λεμφοκυττάρων. Παρ'όλα αυτά, αυτή η διαδικασία έχει ως αποτέλεσμα να παράγονται μεταλλάξεις με την απώλεια μεγάλου αριθμού νουκλεοτιδίων. Το γονίδιο-προϊόν και η έκφραση του ή η μη-έκφρασή του εξαρτάται από την τοποθεσία και έκταση της απώλειας του κομματιού που προκάλεσε την μετάλλαξη. Εάν η αλλαγή συνέβη με τρόπο που αύξησε την έκφραση πρώτο-ογκογονιδίων ή μείωσε την έκφραση ενός ογκοκατασταλτικού γονιδίου, το αποτέλεσμα του συστήματος επιδιόρθωσης βλάβης του οργανισμού αύξησε τον κίνδυνο προδιάθεσης για την δημιουργία κακοήθους όγκου. Επίσης, η ανεπάρκεια της επισκευής μέσω μη-ομόλογων οδών τελικής σύνδεσης (NHJE) μπορεί να οδηγήσει στην μειωμένη λειτουργία των T- και B-λεμφοκυττάρων ή ακόμα και στην ανάπτυξη λεμφωμάτων (εφόσον γίνουν διάφορες μεγάλες μετατοπίσεις και διαγραφές)[7,25,27].

Τα γονίδια BRCA1 και BRCA2 έχουν μερικές λειτουργικές ομοιότητες εφόσον δρουν ως καταστολείς όγκων μέσω των ίδιων οδών αλλά είναι δομικά πολύ διαφορετικές πρωτεΐνες με διαφορετικούς ρόλους επιδιόρθωσης και ανάπτυξης και διευκολύνουν την επιδιόρθωση θραύσης διπλού κλώνου DNA μέσω της ομόλογης επισκευής ανασυνδυασμού[7,25,27]. Το γονίδιο Trp53 αποτελεί ογκοκατασταλτικό γονίδιο με ρόλο την κωδικοποίηση της p53 πρωτεΐνης. Η p53 πρωτεΐνη είναι μία από τις πιο συχνές πρωτεΐνες που εάν μεταλλαχθεί με την συσχέτιση των γονιδίων BRCA σχηματίζει όγκους[8]. Τα άτομα που έχουν μεταλλάξεις στα γονίδια BRCA (BRCA mutations), δηλαδή έχουν ανεπάρκεια λειτουργικότητας ή πλήρη απενεργοποίηση των γονιδίων, συμβαίνει κυρίως λόγω ελαττωματικής λειτουργίας του συστήματος επιδιόρθωσης μέσω του ομόλογου ανασυνδυασμού[7,25]. Οι συνηθέστερες παθογόνες μεταλλάξεις που προκύπτουν στα γονίδια BRCA είναι οι μεταλλάξεις μετατόπισης ενός μέρους στο χρωμόσωμα με αποτέλεσμα να δημιουργείται ένα πρόωρο κωδικόνιο διακοπής και, με την διαδικασία παραγωγής μεταγραφής και μετάφρασης, δημιουργούνται ασταθές ή μη-λειτουργικές πρωτεΐνες, όπου ακόμα και η χαμηλή έκφρασή τους επιδρά την προδιάθεση του καρκίνου[8]. Η κληρονόμηση διάφορων μεταλλάξεων στα γονίδια BRCA μπορεί να γίνει και από τους δύο γονείς εφόσον κάθε άτομο φέρει συνολικά δύο αντίγραφα των γονιδίων, ένα

από κάθε γονέα. Ανάλογα άμα έχουν κληρονομηθεί ένα ή δύο μεταλλαγμένα γονίδια αυξάνεται αντίστοιχα η πιθανότητα για εμφάνιση καρκίνου του μαστού. Το ποσοστό πιθανότητας εμφάνισης όμως επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, και έτσι ενώ υπάρχει αυξημένη πιθανότητα να δημιουργηθεί καρκίνος του μαστού, άτομα που έχουν μεταλλαγμένα γονίδια μπορεί και να μην εμφανίσουν την νόσο[6]. Στις πολύ σπάνιες περιπτώσεις ομόζυγης μετάλλαξης στο BRCA1 αποτελεί παράγοντα που συνδέεται με σύνδρομο Fanconi αναιμίας (FA) και πιθανώς, λόγω της σπανιότητας, οι περισσότερες περιπτώσεις ομόζυγων μεταλλάξεων βλαστικής σειράς προκαλούν εμβρυϊκή θνησιμότητα. Τα άτομα με ετερόζυγη μετάλλαξη αναπτύσσονται κανονικά αλλά έχουν αυξημένο κίνδυνο για ανάπτυξη καρκίνου σε συνδυασμό με άλλους πολυγονιδιακούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες[8]. Όταν συμβαίνει αυτό άλλοι μηχανισμοί επιδιόρθωσης DNA υπερλειτουργούν για την ‘κάλυψη’ του κενού, για παράδειγμα η μη-ομόλογη τελική σύνδεση, πράγμα που μπορεί να οδηγήσει σε περισσότερα λάθη στις επισκευές, προωθώντας την γονιδιωματική αστάθεια του οργανισμού. Ανάλογα με αυτές τις αλλαγές μπορεί να αυξηθεί η απόπτωση για την διατήρηση της σταθερότητας αλλά πιθανώς να αυξηθούν τα μεταλλαγμένα κύτταρα προκαλώντας συσσώρευση και των μεταλλαγμένων κυττάρων. Εφόσον μεγαλώνει ο αριθμός των μεταλλαγμένων κυττάρων και ολόένα περισσότερο χάνονται τα αρχικά μη-μεταλλαγμένα μόρια DNA που κωδικοποιούν τα γονίδια BRCA, προωθείται πλήρως η καρκινογένεση, πιο συγκεκριμένα ο καρκίνος του μαστού[7,23,25]. Υπάρχουν ακόμα αρκετές περιστάσεις μετάλλαξης των γονιδίων BRCA1 και BRCA2, όπου δεν είναι ακόμα γνωστή η λειτουργία και η κλινική σημασία και έναν αυτές έχουν παθογόνο ικανότητα, καθώς υπάρχουν και άγνωστα αίτια ογκογένεση που δεν αιτιολογούνται με ομόζυγη απώλεια BRCA1 και BRCA2. Είναι κοινώς δεκτό όμως ότι, σε ετερόζυγους φορείς μετάλλαξης BRCA1/BRCA2, δημιουργείται σπάσιμο της διπλής έλικας DNA και, με την συσσώρευση μεταλλάξεων σε πιθανώς άλλα ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια με την πάροδο του χρόνου, αυξάνεται η πιθανότητα για ανάπτυξη καρκίνου του μαστού στην διάρκεια ζωής ενός φορέα[8,27].

2.5 Γενετικός Έλεγχος

Οι κληρονομικοί καρκίνοι συνήθως εμφανίζονται από νεαρή ηλικία και εκδηλώνονται είτε με παθογόνες είτε με πιθανώς παθογόνες μεταλλάξεις στα γονίδια, κληρονομημένες από τους γονείς[14]. Ο καρκίνος του μαστού (BC) είναι η πιο συχνή αιτία καρκίνου στις γυναίκες, αλλά επίσης είναι και ο πιο εύκολος καρκίνος για πρόληψη, επομένως η αξιολόγηση κινδύνου για καρκίνο του μαστού είναι για την εφαρμογή προληπτικών προσεγγίσεων σε υγιείς γυναίκες. Μία γενετική συμβουλευτική εξέταση γίνεται κυρίως στα

πλαίσια του προγνωστικού ελέγχου για πολλούς αναγνωρισμένους γενετικούς βιοδείκτες. Κατά τον σχεδιασμό στρατηγικών πρόληψης, οι προκλήσεις περιλαμβάνουν το γεγονός ότι μια γυναίκα που φέρει μια παραλλαγή ή πιθανή παθολογική παραλλαγή (P/LP) του BRCA1/2 μπορεί να αναπτύξει καρκίνο του μαστού, καρκίνο των ωοθηκών, και άλλους καρκίνους, ή να μην αναπτύξει καθόλου καρκίνο[28]. Μέχρι και το 2014, οι οδηγίες για την χρήση γενετικού ελέγχου σε άτομα υποστήριζαν την χρήση του μόνο για τον εντοπισμό ασθενών με γνωστό αυξημένο κίνδυνο γενετικής μετάλλαξης των γονιδίων του καρκίνου του μαστού. Η εξέταση του γενετικού ελέγχου ήταν περιορισμένη καθώς τότε ήταν δαπανηρή και έλεγχος μπορούσε να γίνει μόνο για πολύ συγκεκριμένα γονίδια, για τον καρκίνο του μαστού μόνο τα γονίδια BRCA. Πλέον, εφόσον ο κληρονομικός καρκίνος του μαστού παρουσιάζει συγκεκριμένα συμπτώματα και εμφάνιση του όγκου, με αυτοσωματικό κυρίαρχο μοτίβο κληρονομικότητας, προωθείται ο γενετικός έλεγχος για νεαρά άτομα με ιστορικό[14]. Η γενετική συμβουλευτική παίζει καθοριστικό ρόλο στην καθοδήγηση ατόμων με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού στη διαδικασία του γενετικού ελέγχου με τις περισσότερες κατευθυντήριες οδηγίες να συνιστούν γενετικό έλεγχο για κληρονομικό καρκίνο του μαστού όταν υπάρχει τουλάχιστον 10% πιθανότητα εντοπισμού μιας παθογόνου ή πιθανής παθογόνου παραλλαγής στα σχετικά γονίδια [28].

Η χρήση των βιοδεικτών γενικότερα για την εξέταση του καρκίνου γίνεται με γενετικές εξετάσεις. Οι γενετικοί βιοδείκτες και οι μη-γενετικοί βιοδείκτες κυρίως διαφέρουν στην ικανότητα αντιπροσώπευσης της επίδρασης των βιοδεικτών στην αλλαγή της διείσδυσης και της συχνότητας μεταλλάξεων καθώς και την πρακτική αλλαγή στην λειτουργία μετά την μετάλλαξη[3]. Αν και πολλοί παράγοντες όπως η διατροφή, ο έλεγχος του σωματικού βάρους και οι μεταβολικοί παράγοντες έχουν αναφερθεί ότι τροποποιούν την πιθανότητα ανάπτυξης κινδύνου του καρκίνου του μαστού, υπάρχουν λίγα συνεπή ευρήματα που να προσδιορίσουν τον πραγματικό ρόλο και την επίδραση αυτών των παραγόντων στους φορείς BRCA[28]. Οι αλληλεπιδράσεις γονιδίων με γονίδια και των γονιδίων με εξωτερικούς παράγοντες, για παράδειγμα το περιβάλλον και ο τρόπος ζωής, έχουν γίνει χρόνια τώρα στόχος ανακάλυψης και ανάλυσης, οι γονιδιωματικές εξετάσεις και τα πειράματα εξελίσσονται και αυξάνονται καθώς η κατανόηση της ισχύος των βιοδεικτών ποικίλει. Η εύρεση της αιτίας για την μετάλλαξη, δηλαδή η αναγνώριση του τύπου και της τοποθεσίας της αλλοίωσης σε ένα γονίδιο, επηρεάζει άμεσα την αξιολόγηση μία γενετικής εξέτασης [3]. Η χρήση του γενετικού ελέγχου, ειδικά για τον καρκίνο του μαστού, έχει γίνει πιο προσβάσιμο ακριβώς επειδή έχουν ανακαλυφτεί και επικυρωθεί γενετικοί βιοδείκτες και εντοπίζονται γενετικές μεταλλάξεις υψηλής και μέτριας

δεισόδυσης. Παρ' όλα αυτά, λόγω των πολλών γενετικών βιοδεικτών και της διαφωνίας μεταξύ ερευνητών για την καλύτερη ικανότητα των γονιδίων να δείξουν την κλινική επίδραση του στην ανάπτυξη καρκίνου του μαστού, υπάρχει ακόμα διαφωνία σχετικά με την επιλογή και υποβολή ατόμων σε γενετικό έλεγχο αλλά και ποια γονίδια θα επιλεγθούν από τα αποτελέσματα ως κριτήρια του ελέγχου για σωστή διάγνωση και επιλογή θεραπείας[14].

Το Εθνικό Δίκτυο για τον καρκίνο (National Comprehensive Cancer Network/ NCCN) έχει ορίσει κάποια κριτήρια για να υπάρχει βεβαίωση ότι άτομα πληρούν τις προϋποθέσεις για γενετικό έλεγχο ώστε να εντοπιστεί έγκαιρα πιθανός κίνδυνος για τον καρκίνο του μαστού ή και καρκίνο των ωοθηκών [14,29]. Συγκεκριμένα, το NCCN έχει κριτήρια για γενετικό έλεγχο που συμπεριλαμβάνουν γονίδια υψηλής διείσδυσης για τον καρκίνο του μαστού, δηλαδή ελέγχουν για BRCA1, BRCA2 CDH1, PALB2, PTEN και TR53. Άτομα που είναι έως την ηλικία των 50 και έχουν προσωπικό ιστορικό με καρκίνο του μαστού ή άτομο οποιαδήποτε ηλικίας που έχουν οικογενειακό ιστορικό τουλάχιστον ενός διαγνωσμένου άμεσου συγγενή με καρκίνο του μαστού κάτω από τα 50 ή με καρκίνο του προστάτη ή των ωοθηκών ή του παγκρέατος ή και με ένα άντρα συγγενή με καρκίνο του μαστού δικαιούνται να εξεταστούν. Επίσης μπορούν να εξεταστούν άτομα που είχαν/έχουν τουλάχιστον τρεις συγγενείς διαγνωσμένους με καρκίνο του μαστού ή του προστάτη από την ίδια μεριά της οικογένειας του. Δικαίωμα και ανάγκη εξέτασης γενετικού ελέγχου έχουν και τα άτομα που έχουν διαγνωστεί με τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού ή έχουν διαγνωστεί με πολλαπλούς πρωτοπαθείς καρκίνους του μαστού, ανεξαρτήτως αν είναι σύγχρονοι ή μετάχρονοι. Ασθενής με διάγνωση καρκίνου του λοβιακού μαστού όπου έχουν προσωπικό ή οικογενειακό ιστορικό διάχυτου γαστρικού καρκίνου έχουν δικαίωμα για γενετικό έλεγχο. Επειδή έχει παρατηρηθεί γενικότερα μια μεγάλη συσσώρευση μεταλλάξεων γονιδίων που συσχετίζονται με τον καρκίνο του μαστού, ειδικά των γονιδίων BRCA, στο πληθυσμιακό σύνολο των Ασκενάζι εβραίων όλα των άτομα με εβραϊκή καταγωγή Ασκενάζι μπορούν να κάνουν γενετικό έλεγχο. Ο γενετικός έλεγχος είναι απαραίτητος και σε ασθενείς καρκίνου του μαστού που έχουν διαγνωστεί ώστε να βοηθήσει στις αποφάσεις στην συστηματική θεραπεία που χρησιμοποιεί αναστολείς PARP και σε προσφέρει βοήθεια σε αποφάσεις θεραπείας στον υψηλού κινδύνου καρκίνο του μαστού, HER2 αρνητικός καρκίνος[29]. Εφόσον έχει γίνει ανανέωση και αλλαγή του γενετικού ελέγχου, άτομα που είχαν κάνει γενετικό έλεγχο και άτομα που είχαν βγει αρνητικά σε εμφάνιση μεταλλάξεων στα BRCA πριν το 2014 είναι απαραίτητο να επανελεγχθούν σε γενετικό έλεγχο[14,29].

Η ενσωμάτωση και εφαρμογή της γενετικής συμβουλευτικής (Genetic Counselling) και του άμεσου γενετικού ελέγχου επιδιώκεται να γίνει σε πολλούς τομείς της ιατρικής με την χρήση μη-ειδικών επαγγελματιών υγείας για την έναρξη γενετικών υποδομών με την βοήθεια και επίβλεψη των ειδικών γενετικής. Έχει φανεί πολύ αποτελεσματική, αν και σε πρώιμα ακόμα στάδια, η συμβουλευτική γενετική ειδικά στον τομέα της ογκολογίας, όπου με την διάγνωση ενός ασθενή οι ογκολόγοι προωθούν τους ασθενείς για γενετική ανάλυση. Με αυτόν τον τρόπο είναι στόχος της ενσωμάτωσης της γενετικής συμβουλευτικής σε πολλά επίπεδα στον τομέα της υγείας. Όταν ένα άτομο έχει διάγνωση από τον αντίστοιχο γιατρό να αναφέρεται με την διάγνωση, δηλαδή σε περίπτωση θετικών ή μη προσδιορισμένου αποτελέσματος, σε ένα γενετικό σύμβουλο για περεταίρω εξέταση και προσδιορίση πρόληψης ή και θεραπείας. Ιδανικά, η εφαρμογή και ενσωμάτωση την συμβουλευτικής γενετικής θα μπορούσε να γίνεται από γενικούς γιατρούς, γυναικολόγους και άλλους γιατρούς, μη-ειδικευόμενοι στην γενετική, κατά την διάρκεια εξέτασης. Ωστόσο, εφόσον η γενετική συμβουλευτική απαιτεί μεγάλη εξειδίκευση και συγκεκριμένη διαχείριση, δεν είναι δυνατή η ενσωμάτωση της, και ειδικά στην πρωτοβάθμια περίθαλψης διότι αυτό θα απαιτούσε πολύ χρόνο για επανεκπαίδευση και δαπάνες για την παροχή υλικών και απαραίτητων μηχανημάτων[1].

Η κληρονομική ευαισθησία στον καρκίνο του μαστού συχνά προκύπτει από παθογόνες ή πιθανές παθογόνες (P/LP) παραλλαγές σε γονίδια που κληρονομούνται με αυτοσωμικό κυρίαρχο μοτίβο, το οποίο μπορεί να παρουσιάσει ατελή διείσδυση και μεταβλητή έκφραση. Η διαδικασία για εξέταση και προώθηση ασθενών σε γενετικό έλεγχο περιέχει πολλά στάδια. Αρχικά, η διαδικασία συμπεριλαμβάνει τον εντοπισμό, ενημέρωση και εκπαίδευση πιθανών υποψήφιων ατόμων για την εξέταση γενετικού ελέγχου, που πρακτικά γίνεται από γενικούς γιατρούς, και προωθούνται σε σύμβουλο γενετικής. Ο σύμβουλος γενετικής παρέχει περεταίρω πληροφορίες και εκπαίδευση στους ασθενείς. Επιπλέον, ο σύμβουλος γενετικής οφείλει να ενημερώσει τον ασθενή για τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα των γενετικών δοκιμών, τον τρόπο και σημασία της ερμηνείας των αποτελεσμάτων. Ευθύνη του συμβούλου γενετικής συμπεριλαμβάνει τον καθορισμό του γενετικού ελέγχου και επιλογή γονιδίων με στοχευμένη εξέταση. Με βάση τα αποτελέσματα, είναι απαραίτητο να συζητά ο σύμβουλος γενετικής περεταίρω τις κλινικές επιλογές του ασθενή για διαχείριση της πρόληψης ή την λήψη βημάτων της θεραπείας. Έτσι φαίνεται ξεκάθαρα ότι ο γενετικός σύμβουλος παίζει μεγάλο και αναγκαίο χειριστικό ρόλο σε όλα τα στάδια του γενετικού ελέγχου, πριν και μετά την εξέταση, εφόσον παρέχει εξατομικευμένη εκτίμηση γενετικού κινδύνου και επιλογή γενετικού ελέγχου με βάση το προσωπικό και οικογενειακό ιστορικό ενός ασθενή, ειδικά το ογκολογικό ιστορικό και

πιθανών συνδρόμων με τυπικούς φαινότυπους. Οι σύμβουλοι γενετικής χρησιμοποιούν εργαλεία όπως το BRCAPRO και το BOADICEA για να εντοπίσουν με ακρίβεια άτομα που έχουν υψηλό κίνδυνο για ανάπτυξη καρκίνου του μαστού. Ο στόχος προληπτικού γενετικού ελέγχου είναι ο έγκαιρος εντοπισμός και η εξασφάλιση επαρκούς ενημέρωσης των ασθενών για τα πιθανά αποτελέσματα και σχετικούς κινδύνους που αφορά τους ασθενείς και τους συγγενείς τους είτε για προσέγγιση εξατομικευμένης πρόληψης ή για θεραπείας. Η προσφορά γενετικών ελέγχων νωρίς στη διαγνωστική διαδικασία επιτρέπει την έγκαιρη ενσωμάτωση γενετικών πληροφοριών σε αποφάσεις ογκολογικής ή γενικότερης διαχείρισης για πολλά νοσήματα[28].

Οι διαδοχικοί γενετικοί έλεγχοι (cascade genetic testing) επεκτείνουν το δικαίωμα των γενετικών εξετάσεων και σε συγγενείς που μπορεί να είναι πιθανοί φορείς των μεταλλάξεων σε γονίδια που επηρεάζουν την πιθανότητα ανάπτυξης καρκίνου αλλά είναι ακόμα υγιής φορείς και κληρονόμησαν την ίδια γενετική παραλλαγή ώστε να γίνει έγκαιρη εντόπιση. Επειδή, ο κληρονομικός καρκίνος του μαστού ακολουθεί την αυτοσωμική επικρατούσα κληρονομικότητα είναι άκρως σημαντικό να εξεταστούν ώστε να παρθούν μέτρα για την πρόληψη και αντιμετώπιση της προδιάθεσης για καρκίνο. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι ο γενετικός έλεγχος δεν προσφέρεται ως εξέταση σε ανηλίκους, καθώς ένα θετικό αποτέλεσμα δεν επηρεάζει ακόμα τον ογκολογικό τους κίνδυνο και επομένως δεν απαιτεί προληπτικά μέτρα. Αντίθετα, η εστίαση θα πρέπει να είναι στη στήριξη γονέων και παιδιών στην προσαρμογή στις ψυχοκοινωνικές επιπτώσεις ενός θετικού αποτελέσματος γενετικής εξέτασης βραχυπρόθεσμα και μακροπρόθεσμα. Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί από τους καρκίνους που είναι εύκολοι για τον εντοπισμό προδιάθεσης και πρόληψη και έτσι η στρατηγική [28].

Οι πολυγονιδιακές δοκιμές που είναι διαθέσιμες για τον πρώιμο καρκίνο του μαστού περιλαμβάνουν τις εξής: Oncotype DX Breast Recurrence Score Assay (Genomic Health, Inc., Redwood City, CA), MammaPrint (Agendia BV, Άμστερνταμ, Ολλανδία), Prosigna (PAM50; NanoString Technologies Inc, Seattle, WA), και το EndoPredict (Myriad Genetics Inc, Salt Lake City, UT)[30]. Ένα από τα πιο καθιερωμένα και κοινώς χρησιμοποιούμενα τεστ πολυγονιδιακής υπογραφής στον καρκίνο του μαστού είναι το Oncotype DX, το οποίο βοηθά στην πρόβλεψη της έκβασης του καρκίνου του μαστού με γενετική ανάλυση με 95% διαστήματα εμπιστοσύνης[30,31]. Το τεστ Oncotype DX εξυπηρετεί δύο κύριους και πρωταρχικούς σκοπούς για τον καρκίνο του μαστού. Ο πρώτος αποτελεί την πρόβλεψη της υποτροπής της νόσου και ο δεύτερος στόχος είναι η εξέταση και ο εντοπισμός ασθενών που πιθανώς θα μπορούσαν να επωφεληθούν από την χρήση της χημειοθεραπείας (adjuvant

chemotherapy)[31]. Η εξέταση αυτή αξιολογεί τα επίπεδα έκφρασης 21 γονιδίων (16 γονιδίων που σχετίζονται με τον καρκίνο και 5 αναφοράς) σε επίπεδο mRNA που εξάγεται από δείγματα ιστού ενσωματωμένα σε παραφίνη και σταθεροποιημένα με φορμόλη (FFPE) με την χρήση της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης αντίστροφης μεταγραφής (reverse transcription polymerase chain reaction/RT-PCR). Γενικότερα, η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης αντίστροφης μεταγραφής είναι μια ευέλικτη τεχνική που χρησιμοποιείται σε γενετικές δοκιμές για διάφορους σκοπούς[30,31]. Η RT-PCR επιτρέπει τον ποσοτικό προσδιορισμό των επιπέδων της γονιδιακής έκφρασης οποιοδήποτε γνωστού γονιδίου, την ανίχνευση ιών RNA και τον εντοπισμό γενετικών μεταλλάξεων που σχετίζονται με κληρονομικές διαταραχές. Μετατρέποντας το RNA σε συμπληρωματικό DNA και ενισχύοντας συγκεκριμένες αλληλουχίες, η RT-PCR επιτρέπει την ευαίσθητη και ειδική ανίχνευση στόχων RNA σε δείγματα ασθενών, βοηθώντας αποτελεσματικά στην παρακολούθηση εξέλιξης μίας νόσου, στην διάγνωση μίας ιογενούς λοίμωξης καθώς και στην αξιολόγηση μίας πιθανής αντίδρασης σε μία θεραπεία. Στον γενετικό έλεγχο Oncotype DX, με την χρήση της RT-PCR, υπολογίζεται μια βαθμίδα υποτροπής (recurrence score/RS) με κλίμακα μέτρησης 0-100. Η βαθμολογία υποτροπής μετρά την σοβαρότητα του κινδύνου με βάση τα αποτελέσματα της εξέτασης. Πιο συγκεκριμένα, ισχύει ότι υπάρχουν 3 κατηγορίες στις μετρήσεις, βαθμολογίες κάτω από 18 υποδηλώνουν χαμηλή επικινδυνότητα, μετρήσεις μεταξύ 18-30 υποδηλώνουν ενδιάμεσο κίνδυνο και βαθμολογίες πάνω από 30 θεωρούνται μετρήσεις υψηλού κινδύνου. Αν και η εξέταση του Oncotype DX αποτελεί ευρέως γνωστή και κλινικά εφαρμοσμένη πρακτική υπάρχουν ορισμένα μειονεκτήματα που την περιορίζουν. Το Oncotype DX δεν έχει λάβει επικύρωση ως μέθοδος που μπορεί να χρησιμοποιείται για μακροχρόνια παρακολούθηση σε ασθενής του καρκίνου του μαστού και επιπλέον δεν έχει λάβει την επικύρωση για την χρήση του ως μέθοδος διάγνωσης για ασθενής με καρκίνο του μαστού όπου υπάρχει απουσία του υποδοχέα οιστρογόνων (ER-)[31]. Στην Ελλάδα με βάση την Εφημερίδα της Κυβερνήσεως, σε έκδοση του 2018, η κοστολόγηση της δοκιμασίας Oncotype DX καθορίζεται στην τιμή των τριών χιλιάδων ευρώ και μπορεί να πραγματοποιείται σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού που ανήκουν σε μετεμμηνοπαυσιακούς ασθενείς με ER+, PR+, HER2-, με αρνητικούς λεμφαδένες ανεξαρτήτως ηλικίας και σε προεμμηνοπαυσιακούς ασθενείς με ER+, PR+, HER2-, με αρνητικούς λεμφαδένες και τύπο Luminal A (ki-67% < 20%) ανεξαρτήτως ηλικίας[32].

Το Πολυγονιδιακό Σκορ Κινδύνου (PRS) για τον καρκίνο του μαστού είναι ένα εργαλείο που χρησιμοποιεί πληροφορίες από πολλαπλά γονίδια για να εκτιμήσει τον ατομικό κίνδυνο μιας γυναίκας να αναπτύξει καρκίνο του μαστού. Το PRS συνδυάζει δεδομένα από

πολλές γενετικές παραλλαγές, καθεμία από τις οποίες έχει μικρή επίδραση στον κίνδυνο, για να υπολογίσει έναν συνολικό γενετικό κίνδυνο. Το Πολυγονιδιακό Σκορ Κινδύνου (PRS) έχει εφαρμοστεί ως πρόσφατο και προσιτό εργαλείο που επιτρέπει την εξατομικευμένη διαχείριση του καρκίνου του μαστού με την συλλογή δείγματος DNA από απλή αιμοληψία ή σάλιο. Το Πολυγονιδιακό Σκορ Κινδύνου (PRS) για τον καρκίνο του μαστού είναι ένα πολλά υποσχόμενη μέθοδος που μπορεί να βοηθήσει στην εξατομίκευση της πρόληψης και της διαχείρισης του κινδύνου για τον καρκίνο του μαστού[28].

Επίσης σημαντικό είναι να αναφερθεί το επικυρωμένο μοριακό τεστ MammaPrint. Το τεστ MammaPrint με την χρήση της τεχνολογίας μικροστοιχείων έχει την ικανότητα να αξιολογήσει και ελέγξει την σχετική έκφραση 70 γονιδίων, τα οποία γονίδια εμπλέκονται σε πολλά στάδια των ρυθμιστικών οδών του καρκίνου. Η εξέταση του MammaPrint βοηθά στην πρόβλεψη της πιθανότητας να επιστρέψει ο καρκίνος σε ένα άτομα, στην πρόβλεψη πιθανής διασπορά του καρκίνου σε άλλα μέρη του σώματος και στην καθοδήγηση για αποφάσεις στο κομμάτι της θεραπείας. Με βάση τα αποτελέσματα της γονιδιακής έκφρασης γίνεται η ταξινόμηση των ασθενών είτε σε ομάδα υψηλού είτε σε ομάδα χαμηλού κινδύνου για υποτροπή του καρκίνου, γεγονός που αποτελεί σημαντικό δείκτη για την λήψη αποφάσεων για την επιλογή θεραπείας[31].

Η εξέταση του Prosigna τεστ, επίσης γνωστό ως PAM50, είναι μια πολυγονιδιακή δοκιμή που χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση του κινδύνου υποτροπής στον καρκίνο του μαστού. Το τεστ Prosigna παρέχει σημαντικές πληροφορίες για την πρόγνωση και τη θεραπεία του πρώιμου καρκίνου του μαστού με την πραγματοποίηση της εξέτασης σε RNA που εξάγεται από δείγματα ιστού που έχουν ενσωματωθεί σε παραφίνη και σταθεροποιηθεί με φορμόλη (FFPE) Το Prosigna τεστ αναλύει την έκφραση 50 γονιδίων (PAM50), τα οποία έχουν επιλεγεί για την ικανότητά τους να διαχωρίζουν τους όγκους του μαστού σε υποτύπους και να προβλέπουν τον κίνδυνο υποτροπής. Το τεστ παρέχει ένα αποτέλεσμα που κατηγοριοποιεί τον όγκο σε έναν από τους τέσσερις πιθανούς μοριακούς υποτύπους του καρκίνου του μαστού, δηλαδή σε 'luminal A', 'luminal B', των ομάδων υπερέκφρασης του υποδοχέα επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (HER2-enriched) και στην περίπτωση τις μη-έκφρασης για τους δείκτες σε τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού (triple negative breast cancer). Επιπλέον, το Prosigna τεστ υπολογίζει και παράγει μια βαθμολογία (Prosigna Score) που αντιπροσωπεύει τον 10ετή κίνδυνο υποτροπής για γυναίκες με θετικούς ορμονικούς υποδοχείς (HR+) και αρνητικούς λεμφαδένες (LN-). Το Prosigna τεστ έχει επικυρωθεί σε πολλές κλινικές μελέτες, οι οποίες έχουν δείξει ότι το τεστ μπορεί να προσφέρει σημαντική προγνωστική πληροφόρηση που

αποτελεί συμπληρωματική εξέταση σε υπάρχοντα κλινικά συμπτώματα και παθολογικά χαρακτηριστικά. Το Prosigna τεστ έχει εγκριθεί και επικυρωθεί από τον FDA (Αμερικανικός Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων) καθώς και άλλες ρυθμιστικές αρχές, καθιστώντας το ένα αξιόπιστο εργαλείο για τη διαχείριση του καρκίνου του μαστού[30].

Το EndoPredict τεστ είναι μια πολυγονιδιακή δοκιμή που χρησιμοποιείται για την πρόγνωση του κινδύνου απομακρυσμένης υποτροπής σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού θετικό σε ορμονικούς υποδοχείς (HR+) και αρνητικό στους υποδοχείς του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (HER2) προσφέροντας σημαντικές πληροφορίες για την εξατομικευμένη θεραπευτική προσέγγιση. Το EndoPredict χρησιμοποιεί τεχνολογία ποσοτικής πραγματικού χρόνου αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (qRT-PCR) για την ανάλυση της έκφρασης γονιδίων σε δείγματα ιστού. Η qRT-PCR είναι μια ισχυρή εργαστηριακή τεχνική που χρησιμοποιείται για την ανάλυση της έκφρασης γονιδίων που συνδυάζει την αντίστροφη μεταγραφή (RT) του RNA σε DNA και την ποσοτική πραγματικού χρόνου PCR για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση συγκεκριμένων RNA μορίων εξάγεται από τα κύτταρα ή τους ιστούς που θα εξεταστούν. Στην εξέταση EndoPredict πραγματοποιείται σε RNA που εξάγεται από δείγματα ιστού που έχουν ενσωματωθεί σε παραφίνη και σταθεροποιηθεί με φορμόλη (FFPE). Το EndoPredict αναλύει την έκφραση 12 γονιδίων (8 γονίδια που σχετίζονται με τον καρκίνο και 4 γονίδια αναφοράς) τα οποία γονίδια επιλέχθηκαν για την ικανότητά τους να προβλέπουν τον κίνδυνο απομακρυσμένης υποτροπής. Το EndoPredict τεστ είναι ένα ισχυρό εργαλείο για την προγνωστική αξιολόγηση και την εξατομικευμένη θεραπεία των ασθενών με HR+ και HER2- καρκίνο του μαστού[30].

Ένα άλλο πολύτιμο μοριακό τεστ στη διάγνωση του καρκίνου του μαστού περιλαμβάνει την αξιολόγηση των επιπέδων των δεικτών uPA και PAI-1. Η δοκιμή αυτή εξετάζει και αξιολογεί την ποσότητα των uPA και PA-1 πρωτεϊνών σε εκχυλίσματα ιστού από τον μαστό σε ασθενή με καρκίνο του μαστού. Πολλαπλές μελέτες έχουν δείξει ότι οι ασθενείς που έχουν αυξημένα επίπεδα αυτών των πρωτεϊνών τείνουν να έχουν χειρότερη έκβαση και δυσκολία θεραπείας του καρκίνου του μαστού σε σύγκριση με τους ασθενείς που έχουν χαμηλά επίπεδα την πρωτεϊνών αυτών[31].

Οι εξετάσεις γενετικού ελέγχου και τα πολυγονιδιακά τεστ προσφέρουν πολλές ολοκληρωμένες και ριζικά σημαντικές πληροφορίες αλλά αποτελούν πολύ ακριβές διαδικασίες με πολλές προϋποθέσεις για να γίνει έκδοση παραπεμπτικού, καθιστώντας την εξέταση απρόσιτη σε πολλές χώρες. Κατά συνέπεια, υπάρχει μία συντονισμένη προσπάθεια για να

καλυφθεί η μεγάλη ανάγκη για την δημιουργία ενός φθηνού, απλούστερου και πιο προσιτού τεστ που χρησιμεύει ως διαγνωστικό και προγνωστικό για γενετικούς βιοδείκτες. Μεταξύ άλλων, η εξέταση Ki67 πρωτεΐνης αποτελεί από τους πιο φθηνούς εναλλακτικούς βιοδείκτες που χρησιμοποιείται ευρέως στην κλινική πράξη καθώς και η εξέταση IHC4 που αποτελεί ένα άλλον οικονομικό πάνελ εξέτασης βιοδεικτών και αποτελείται από τους εκφραζόμενους βιοδείκτες υποδοχέων οιστρογόνων (ER), υποδοχέα 2 του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (HER2), υποδοχέα προγεστερόνης (PR) και της πρωτεΐνης Ki67. Το πολυγονιδιακό πάνελ IHC4 χρησιμεύει αρκετά ως οικονομική και προσβάσιμη προγνωστική εξέταση για ασθενής με καρκίνο του μαστού για την αξιολόγηση της πιθανότητας εξέλιξης της νόσου. Ωστόσο, για την διεξαγωγή της εξέτασης γενετικού ελέγχου είναι απαραίτητη η πρόσβαση σε δείγματα του ιστού του όγκου από τον μαστό, γεγονός που αποτελεί περιορισμό γιατί, με την ανάγκη για δείγματα ιστού του όγκου από τον μαστό, συνιστώνται ισχυροί, κλινικά επικυρωμένοι και πρακτικά εφαρμοσμένοι βιοδείκτες. Παράδειγμα τέτοιων βιοδεικτών μεγάλη επιρροής συμπεριλαμβάνουν κυκλοφορόντες βιοδείκτες με αυξημένα επίπεδα έκφρασης όπως το TPSA αντιγόνο (Tissue Polypeptide Specific antigen), το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (Carcinoembryonic Antigen/CEA) και το καρκινικό αντιγόνο (Cancer Antigen 15-3/CA 15-3). Το TPSA σχετίζεται με τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και οι υψηλές μετρήσεις του TPSA στο αίμα υποδηλώνουν αυξημένη επιθετική δραστηριότητα του όγκου. Το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA) είναι μία πρωτεΐνη που χρησιμοποιείται ως καρκινικός βιοδείκτης για την διευκρίνιση επιθετικού όγκου και παρακολούθηση θεραπείας για διάφορους όγκους, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού. Το καρκινικό αντιγόνο CA 15-3 αποτελεί ένα συστατικό της πρωτεΐνης MUC1 που βρίσκεται στα κύτταρα. Όταν δημιουργούνται τα καρκινικά κύτταρα αυξάνεται η αποβολή της MUC1 και κατά συνέπεια αυξάνονται και οι μετρήσεις του καρκινικού αντιγόνου 15-3. Παρόλο που αυτοί οι βιοδείκτες είναι πιο προσβάσιμοι και οικονομικοί, εφόσον ανιχνεύονται και μετριούνται με αιματολογικές εξετάσεις με χρήσεις κυρίως στην πρόβλεψη κακής έκβασης, απαιτείται περαιτέρω επικύρωση προτού μπορέσουν να υιοθετηθούν και εφαρμοστούν ευρέως ως προγνωστικοί βιοδείκτες ή και βιοδείκτες παρακολούθησης στην κλινική πρακτική [31].

Στην Ελλάδα με βάση την Εφημερίδα της Κυβερνήσεως ισχύει ακόμα η έκδοση του 2018 όπου η κοστολόγηση διαγνωστικών εξετάσεων για τον έλεγχο παρουσίας μεταλλάξεων γονιδίων BRCA 1& BRCA 2, ο έλεγχος και η γενετική παρακολούθηση συνιστάται μόνο για γυναίκες που έχουν διαγνωστεί με επιθηλιακό καρκίνωμα των ωοθηκών, ανεξαρτήτως ηλικίας και οικογενειακού ιστορικού ή που έχουν διαγνωστεί με καρκίνο του μαστού πριν από την

ηλικία των 45 ετών. Επίσης δικαίωμα για γενετικό έλεγχο έχουν γυναίκες που έχουν διαγνωστεί με καρκίνο του μαστού σε οποιαδήποτε ηλικία και έχουν τουλάχιστον δύο περιστατικά με διαγνωσμένο καρκίνο του μαστού ή των ωοθηκών, του παγκρέατος ή του προστάτη με Gleason score μεγαλύτερο ή ίσο του 7 στην ίδια πλευρά της οικογένειας,. Η διάγνωση θα γίνεται με τη μέθοδο Next Generation Sequencing (NGS) και η επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων γίνεται με ανεξάρτητη μέθοδο Sanger Sequencing. Οι εξετάσεις αυτές μπορούν να γίνουν με εμπορικά διαθέσιμα και πιστοποιημένα «kits» που έχουν σταθερά επαναλήψιμα αποτελέσματα και έχουν δοκιμαστεί σε κλινικές μελέτες. Η κοστολόγηση για αυτές τις εξετάσεις είναι 700 ευρώ. Σε περίπτωση που το NGS δεν μπορεί να ανιχνεύσει μεγάλες γονιδιακές αναδιατάξεις, απαιτείται η συμπληρωματική μέθοδος για την ανίχνευση αυτών (MLPA), με συνολικό κόστος 800 ευρώ[32].

2.6 Γονίδια υψηλής διεισδυτικότητας και παραλλαγές BRCA

Τα γονίδια υψηλής διεισδυτικότητας (high-penetrance genes) αποτελούν ισχυρούς γενετικούς βιοδείκτες όπου, όταν μεταλλαχθούν, επηρεάζουν σημαντικά στην αύξηση του κινδύνου ανάπτυξης του καρκίνου. Ειδικά για τον καρκίνο του μαστού, γονίδια υψηλής διεισδυτικότητας συνήθως είναι τα γονίδια που ο ρόλος τους είναι κρίσιμος ή βοηθάνε στην διαδικασία της επιδιόρθωσης των ελικών του DNA και στην ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου[8]. Εκτός των γονιδίων BRCA, και πιθανές παραλλαγές τους, υπάρχουν επιπλέον επικυρωμένα γονίδια και πρωτεΐνες που συμβάλλουν στην αύξηση του κινδύνου[1,8]. Ο εντοπισμός πρόσθετων γονιδίων που συνδέονται με τον κίνδυνο καρκίνου του μαστού και/ή των ωοθηκών οδήγησε στη συμπερίληψή τους σε γονιδιακά πάνελ για εξέταση γενετικού ελέγχου που σχετίζονται με όγκους, διευκολύνοντας την ανάπτυξη εκλεπτυσμένων στρατηγικών διαχείρισης για φορείς. Σε πολλαπλές μελέτες ασθενών με κληρονομικό καρκίνο του μαστού και των ωοθηκών υψηλού κινδύνου (Hereditary Breast and Ovarian Cancer/ HBOC), όπου τα άτομα που εξετάστηκαν δεν είχαν προεπιλεγεί για την κατάσταση μετάλλαξης BRCA1/2, η συχνότητα των παραλλαγών σε γονίδια που δεν είναι τα γονίδια BRCA κυμαίνεται περίπου από 3,5% με 10,9%. Σε ευρύτερες ομάδες ασθενών με καρκίνο του μαστού, επίσης χωρίς να γίνει προεπιλογή, το ποσοστό ανίχνευσης των παραλλαγών στα γονίδια BRCA είναι περίπου 4-5%. Ωστόσο, όταν χρησιμοποιείται ανάλυση πολυγονιδιακού πάνελ (MGP), ο αθροιστικός ρυθμός ανίχνευσης παραλλαγής αυξάνεται σε 6% έως 9%, αντιπροσωπεύοντας 1,4 έως 2 φορές βελτίωση[8].

Οι παθογόνες παραλλαγές των γονιδίων BRCA1 και BRCA2 βρίσκονται συνήθως σε βασικές λειτουργικές περιοχές. Για το BRCA1, οι περιοχές αυτές περιλαμβάνουν τον τομέα

δακτύλου του Πολύ Ενδιαφέροντος Νέου Γονιδίου (Really Interesting New Gene/RING) και τους τομείς του άκρου BRCA1C (BRCT). Για το BRCA2, οι κρίσιμες περιοχές είναι οι πτυχές σύνδεσης ολιγοσακχαρίτη (OBs) και οι ελικοειδής περιοχές. Αναλύοντας την κατανομή αυτών των παραλλαγών, έχει παρατηρηθεί ότι περίπου οι μισές από τις παθογόνες παραλλαγές λανθασμένης λειτουργίας στο BRCA1 βρίσκονται εντός των περιοχών RING και BRCT (76 από τις 162 παραλλαγές). Αντίθετα, περίπου το 70% των εσφαλμένων αλλαγών στο BRCA2 εντοπίζονται στους τομείς ελίκησης και ολιγοσακχαρίτη (56 από τις 78 παραλλαγές)[1]. Το BARD1 περιέχει ένα RING domain (BRCA1-Associated RING Domain/ BARD1), το οποίο βρίσκεται στην N-τελική περιοχή της πρωτεΐνης και είναι μια πρωτεΐνη που παίζει κρίσιμο ρόλο στη διατήρηση της γονιδιωματικής σταθερότητας και στην καταστολή των όγκων μέσω της συνεργασίας της με το BRCA1 για την επιδιόρθωση των διπλών βλαβών στην διπλή έλικα DNA, συγκεκριμένα της ομόλογης επισκευής ανασυνδυασμού (HRR). Η λειτουργία του BARD1 δεν έχει πλήρως εξακριβωθεί και η επιρροή που έχει με την πρώιμη μορφή καρκίνου του μαστού, γενικότερα της μορφής αρνητικών υποδοχέων οιστρογόνων (ER-), και ειδικά την κατηγορία τριπλά αρνητικού καρκίνου του μαστού. Το γονίδιο BARD1, σε συνεργασία με το γονίδιο BRCA1, λειτουργεί ως ρυθμιστικό εργαλείο στον κυτταρικό κύκλο, διασφαλίζοντας ότι δεν παράγονται κύτταρα με βλάβες στο γενετικό υλικό, και ως καταστολέας της ανάπτυξης των όγκων του μαστού και των ωοθηκών. Οι μεταλλάξεις του BARD1 έχουν παρατηρηθεί πιο σπάνια σε σύγκριση με τις μεταλλάξεις στα γονίδια BRCA αλλά θεωρούνται ως πολύ σημαντικές για τη διατήρηση της γονιδιωματικής σταθερότητας, για την πρόληψη και την θεραπεία, προωθώντας την ανάπτυξη θεραπειών που βασίζονται στην αποκατάσταση του μηχανισμού επιδιόρθωσης του DNA[1,14].

Πρόσφατες εκτεταμένες μελέτες έχουν δείξει ότι οι παθογόνες παραλλαγές σε οκτώ συγκεκριμένα γονίδια, συμπεριλαμβανομένων των ATM, CHEK2, PALB2 (FANCN), RAD51C και RAD51D, TP53 και PARP σχετίζονται σημαντικά με τον κίνδυνο καρκίνου του μαστού. Το γονίδιο ATM (Ataxia-Teleangiectasia Mutated) είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση της γονιδιωματικής σταθερότητας και συνδέεται με την ευαισθησία στον καρκίνο του μαστού. Το γονίδιο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη κρίσιμη για την απόκριση βλάβης του DNA, συγκεκριμένα μια κίνηση σερίνης/θρεονίνης που ενεργοποιείται κατά τις θραύσεις του διπλού κλώνου του DNA, που είναι άκρως απαραίτητη για την έναρξη του σημείου ελέγχου βλάβης του DNA για τις κυτταρικές αποκρίσεις σε θραύσματα διπλού κλώνου. Η πρωτεΐνη ATM διευκολύνει την επιδιόρθωση αυτών των σπασμών μέσω του ομόλογου ανασυνδυασμού (HRR). Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο ATM μπορεί να οδηγήσουν σε αταξία-τελαγγειεκτασία (A-

T), μια αυτοσωματική υπολειπόμενη διαταραχή που χαρακτηρίζεται από νευροεκφυλισμό, ανοσοανεπάρκεια και αυξημένο κίνδυνο καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού. Έρευνες δείχνουν ότι οι γυναίκες που φιλοξενούν μία μόνο παθογόνο μετάλλαξη ATM έχουν αυξημένο κίνδυνο καρκίνου του μαστού, που εκτιμάται ότι είναι 2-4 φορές υψηλότερος από αυτόν του γενικού πληθυσμού[8,14].

Το γονίδιο CHEK2 (Checkpoint Kinase 2) είναι αναπόσπαστο στοιχείο για τη διατήρηση της γονιδιωματικής σταθερότητας και συνδέεται στενά με τον κίνδυνο καρκίνου του μαστού καθώς παράγει την πρωτεΐνη CHK2, μια κινάση σερίνης/θρεονίνης που παίζει βασικό ρόλο στην οδό απόκρισης βλάβης του DNA (DSR). Όταν συμβαίνει βλάβη στο DNA, ειδικά θραύσεις διπλού κλώνου, το CHK2 ενεργοποιείται και φωσφορυλιώνει αρκετούς στόχους κρίσιμους για τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, την επιδιόρθωση του DNA και την οργάνωση της σωστής απόπτωσης. Τα άτομα με παθογόνες μεταλλάξεις CHEK2 έχουν μέτρια αυξημένο κίνδυνο καρκίνου του μαστού, περίπου 2-3 φορές μεγαλύτερο από τον γενικό πληθυσμό. Αυτό το επίπεδο κινδύνου μπορεί να κυμαίνεται με βάση τη συγκεκριμένη μετάλλαξη και άλλους ενδογενείς ή εξωγενείς παράγοντες, για παράδειγμα κάποιους γενετικούς ή περιβαλλοντικούς παράγοντες[8].

Το γονίδιο PALB2 (Partner and Localizer of BRCA2) είναι κρίσιμο για τη διατήρηση της γονιδιωματικής ακεραιότητας μέσω του ρόλου του στην επιδιόρθωση του DNA. Η πρωτεΐνη PALB2 διευκολύνει τη λειτουργία του BRCA2, ενός σημαντικού παράγοντα στην οδό επιδιόρθωσης ομόλογου ανασυνδυασμού (HRR), η οποία είναι υπεύθυνη για την ακριβή επιδιόρθωση των θραύσεων του διπλού κλώνου DNA. Γεφυρώνοντας τα BRCA1 και BRCA2, το PALB2 ενισχύει τον σχηματισμό του συμπλέγματος BRCA1-PALB2-BRCA2, το οποίο είναι απαραίτητο για την αποτελεσματική επιδιόρθωση του DNA. Μελέτες εκτιμούν ότι οι φορείς μετάλλαξης PALB2 έχουν 5-9 φορές υψηλότερο κίνδυνο καρκίνου του μαστού. Ο ακριβής κίνδυνος μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με συγκεκριμένες μεταλλάξεις και άλλους γενετικούς ή περιβαλλοντικούς παράγοντες [8,14].

Τα RAD51C και RAD51D είναι απαραίτητα γονίδια που εμπλέκονται στην οδό επιδιόρθωσης ομόλογου ανασυνδυασμού (HRR), έναν κρίσιμο μηχανισμό για την επιδιόρθωση των θραυσμάτων διπλής αλυσίδας του DNA. Η πρωτεΐνη RAD51C είναι μέρος του συμπλόκου RAD51, το οποίο είναι απαραίτητο για τα πρώιμα στάδια του ομόλογου ανασυνδυασμού και βοηθά στην αναζήτηση ομολογίας και ζευγαρώματος κλώνων κατά τη διαδικασία επισκευής. Το RAD51D, σε συνδυασμό με το RAD51C, σχηματίζει το σύμπλεγμα BCDX2, το οποίο

συμβάλλει περαιτέρω στην επιδιόρθωση των θραυσμάτων διπλού κλώνου του DNA. Το RAD51D παίζει επίσης ρόλο στη σταθεροποίηση του νήματος RAD51 στο DNA. Οι παθογόνες μεταλλάξεις στα RAD51C και RAD51D συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο καρκίνου τόσο του μαστού όσο και των ωοθηκών. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι, σε σύγκριση με μη-φορείς αυτών των μεταλλάξεων, τα άτομα που φέρουν αυτές τις μεταλλάξεις έχουν σημαντικά υψηλότερο κίνδυνο (πιθανώς ως 2-3 φορές περισσότερο). Ο γενετικός έλεγχος για αυτές τις μεταλλάξεις μπορεί να ενημερώσει για εξατομικευμένες στρατηγικές πρόληψης, συμπεριλαμβανομένων ενισχυμένων μέτρων επιτήρησης και διάγνωσης. Η συνεχής έρευνα για τα RAD51C και RAD51D θα ενισχύσει την κατανόηση των ρόλων τους στον καρκίνο και θα βελτιώσει τις στρατηγικές εξατομικευσης θεραπείας για άτομα που φέρουν αυτές τις μεταλλάξεις[8,14].

Η πρωτεΐνη όγκου 53 (tumor protein 53/TP53) παίζει καθοριστικό ρόλο στη διαφύλαξη της ακεραιότητας του γενετικού υλικού και στη διατήρηση της σταθερότητας εντός του κυττάρου και χρησιμεύει με την επίβλεψη κρίσιμων διαδικασιών, όπως στην διαδικασία του κυτταρικού κύκλου, την επισκευή του DNA, τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο και η κυτταρική γήρανση. Λειτουργώντας ως μεταγραφικός παράγοντας, το TP53 οργανώνει την έκφραση πολλών γονιδίων που είναι υπεύθυνα για τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου, την επιδιόρθωση του κατεστραμμένου DNA και την ενεργοποίηση της απόπτωσης όταν είναι απαραίτητο. Με αυτόν τον τρόπο, αποτρέπει αποτελεσματικά τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των κυττάρων με γενετικές ανωμαλίες ή ογκογόνες αλλαγές. Το TP53 είναι ιδιαίτερα ικανό στο συντονισμό των μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA ως απόκριση σε διάφορες μορφές γενετικής βλάβης, διασφαλίζοντας τη διατήρηση της γονιδιωματικής ακεραιότητας και, ειδικά σε περιπτώσεις όπου η βλάβη του DNA είναι πολύ σοβαρή για να διορθωθεί, το TP53 ξεκινά τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο, εξαλείφοντας δυνητικά επιβλαβή κύτταρα από το σώμα. Οι μεταλλάξεις στο TP53 εμφανίζονται συχνότερα με κληρονομικά καρκινικά σύνδρομα όπως το σύνδρομο Li-Fraumeni (LFS)[8,14].

Οι αναστολείς πολυμεράσης πολυριβόζης (PARP) αναστέλλουν το ένζυμο PARP, το οποίο είναι απαραίτητο για την επιδιόρθωση των διαρρήξεων του μονόκλωνου DNA μέσω της οδού επιδιόρθωσης εκτομής βάσης (BER). Τα ένζυμα PARP χρησιμοποιούν το μόριο NAD⁺ για να συνθέσουν αλυσίδες πολύ-(ADP-ριβόζης) (PAR) σε πρωτεΐνες-στόχους, μια βιοχημική διαδικασία που ονομάζεται PARylation και έτσι το PARP1 οργανώνει κυρίως τα περισσότερα συμβάντα PARylation (PARylation) εντός των κυττάρων. Κατά τη δέσμευση στο DNA, που διευκολύνεται από τις N-τερματικές περιοχές ψευδαργύρου-δακτύλου (ZnF), το PARP1

υφίσταται μια δομική αλλαγή, προκαλώντας την ενεργοποίηση της καταλυτικής του λειτουργίας. Ο κεντρικός ρόλος του PARP1, μαζί με το αντίστοιχο PARP2, στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA έθεσε τις βάσεις για την εξερεύνηση μικρών μορίων αναστολέων που στοχεύουν αυτά τα ένζυμα, γνωστά ως αναστολείς PARP. Στο DNA είναι ιδιαίτερα σημαντική σε κύτταρα όγκου με ελαττωματικά γονίδια BRCA1 ή BRCA2 επειδή έχει την ικανότητα παγίδευσης του PARP να συμβάλλει σημαντικά στην κυτταροτοξικότητά τους, ξεπερνώντας τον αντίκτυπο της αναστολής της καταλυτικής δραστηριότητας PARP. Αυτοί οι αναστολείς εκμεταλλεύονται την έννοια της συνθετικής θνησιμότητας, στοχεύοντας καρκινικά κύτταρα με έλλειψη σε επιδιόρθωση ομόλογου ανασυνδυασμού (HRR) ενώ παράλληλα περιορίζουν τα φυσιολογικά κύτταρα. Στις περιπτώσεις που οι αναστολείς πολυμεράσης πολυριβόξης δεν λειτουργούν επαρκώς ή υπάρχει πλήρης έλλειψη της λειτουργίας υπάρχει συσσώρευση των λαθών στην μία έλικα του DNA και θα μπορούσε να οδηγήσει και σε θραύσεις στην διπλή έλικα με την αντιγραφή του DNA λόγω του ημισυντηρητικού μηχανισμού της. Οι αναστολείς PARP αντιπροσωπεύουν σημαντική πρόοδο στη θεραπεία του καρκίνου του μαστού, ιδιαίτερα για ασθενείς με μεταλλάξεις BRCA1 ή BRCA2[26].

2.7 Θεραπεία του καρκίνου του μαστού που σχετίζονται με BRCA1/BRCA2

Οι δοκιμές των πάνελ έκφρασης γονιδίων αντιπροσωπεύουν ένα νέο παράδειγμα για την αξιολόγηση της πιθανής ωφέλειας της εξατομικευμένης χημειοθεραπείας, βασιζόμενες στα επίπεδα έκφρασης συγκεκριμένων γονιδίων σε ατομικούς όγκους. Η υιοθέτηση τέτοιων δοκιμών απαιτεί αυστηρή επικύρωση που να υποστηρίζει την ακρίβεια, την αξιοπιστία και την αναπαραγωγιμότητά τους. Οι γονιδιακές δοκιμές πρέπει να είναι αναλυτικά επικυρωμένες και να αναπτυχθούν χρησιμοποιώντας κατάλληλα και σχετικά δείγματα ασθενών, στο πλαίσιο μιας συγκεκριμένης θεραπευτικής απόφασης, και να επικυρωθούν σε μελέτες με σχετικούς πληθυσμούς ασθενών[14]. Παρ' όλα αυτά, ακόμα υπάρχει μεγάλη επιτακτική ανάγκη για εξορθολογισμένα πρωτόκολλα που δίνουν προτεραιότητα στην ταχεία παράδοση των αποτελεσμάτων γενετικών εξετάσεων. Η εφαρμογή συγκεκριμένων κατευθυντήριων γραμμών σε εξετάσεις γενετικού ελέγχου που διευκολύνουν τις διαδικασίες ταχείας γενετικής εξέτασης είναι απολύτως απαραίτητη εφόσον γρήγορες και ενδεδειγμένες προσεγγίσεις δοκιμών, συμπεριλαμβανομένων των καθολικών στρατηγικών δοκιμών, έχουν σημαντικές δυνατότητες για την ενημέρωση των κλινικών αποφάσεων και τη βελτιστοποίηση των αποτελεσμάτων των ασθενών[28]. Επιπλέον, για την κλινική τους χρησιμότητα, πρέπει να υπάρχουν και οριστούν ισχυρά αποδεικτικά στοιχεία που να δείχνουν ότι προσφέρουν προστιθέμενη αξία ή υπερβαίνουν την προγνωστική ή και την προβλεπτική αξία των τυπικών εργαλείων

αξιολόγησης κινδύνου[14]. Θετικό αποτέλεσμα έκφρασης μεταλλαγμένων γονιδίων σε εξετάσεις γενετικού ελέγχου θα μπορούσαν, με την κατάλληλη προσέγγιση και βελτίωση, επίσης να επηρεάσει την κοινή λήψη αποφάσεων σχετικά με τη χειρουργική προσέγγιση του πρώιμου σταδίου του καρκίνου του μαστού, ιδιαίτερα υπό το φως των σωρευτικών κινδύνων του ομόπλευρου (περίπτωση όπου ο καρκίνος εμφανίζεται μόνο σε ένα στήθος, χωρίς να επεκτείνεται στο άλλο) και ετερόπλευρου (περίπτωση όπου ο καρκίνος εμφανίζεται σε ένα στήθος και στη συνέχεια εμφανίζεται και στο άλλο στήθος) καρκίνου του μαστού[28].

Οι ασθενείς που διαγιγνώσκονται με τοπικά προχωρημένο ή μεταστατικό καρκίνο του μαστού συνήθως αντιμετωπίζουν μια δύσκολη πρόγνωση, με ποσοστά επιβίωσης κατά μέσο όρο περίπου 2-4 χρόνια, με περίπου το 10% των νεοδιαγνωσθέντων περιπτώσεων καρκίνου του μαστού να εξελίσσεται σε μεταστατική νόσο και ένα σημαντικό ποσοστό, που κυμαίνεται από 30-50%, των ασθενών που διαγνώστηκαν αρχικά σε πρώιμα στάδια, τελικά να αναπτύσσουν μεταστατικό καρκίνο του μαστού (MBC). Δεδομένης της περιορισμένης αποτελεσματικότητας μόνο της ορμονικής θεραπείας, νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις είναι επιτακτικές για την αντιμετώπιση αυτής της πιεστικής κλινικής ανάγκης[11]. Στο πλαίσιο του διαγνωσμένου καρκίνου του μαστού σε πρώιμο και μεταστατικό στάδιο, η παρουσία παθογόνων ή πιθανών παθογόνων παραλλαγών της βλαστικής σειράς BRCA μπορεί να επηρεάσει βαθιά τη διαχείριση του ασθενούς. Η κατανόηση της κατάστασης της βλαστικής σειράς των ασθενών είναι ζωτικής σημασίας, καθώς διαμορφώνει άμεσα και προσαρμόζει τις κατεύθυνση της κλινικής επιλογής θεραπείας και κατανόησης μεθόδων της. Η ανίχνευση παραλλαγών BRCA και P/LP βλαστικής σειράς των παραλλαγών σε άλλα γονίδια μπορεί να έχει σημαντικές επιπτώσεις για τις χειρουργικές αποφάσεις και την επιλογή τοπικών και συστημικών θεραπειών σε διάφορα στάδια διαχείρισης του καρκίνου του μαστού. Επιπλέον, η παρουσία παραλλαγών P/LP βλαστικής σειράς σε γονίδια που εάν αλλαχθούν προκαλούν αύξησή της προδιάθεσης μπορεί να επηρεάσει την εκτίμηση του κινδύνου για τις δυο κατηγορίες του καρκίνου του μαστού (ομόπλευρο ή ετερόπλευρο), καθώς και άλλες κακοήθειες. Αυτό επηρεάζει τις επιλογές κατά την παρακολούθηση και την εξέταση μέτρων μείωσης του κινδύνου. Σε μελέτη κοορτής που είχε ως στόχο την παρατήρηση και μελέτη των αποτελεσμάτων επιβίωσης γυναικών με τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού ηλικίας κάτω των 50 ετών κατά τη διάγνωση, που χαρακτηρίζεται από μεταλλάξεις BRCA, έδειξαν ότι οι φορείς της συγκεκριμένης παραλλαγής BRCA1 ex9-12del εμφάνισαν στατιστικά ανώτερη συνολική επιβίωση (OS) σε σύγκριση με τους φορείς άλλων παραλλαγών BRCA P/LP. Οπότε η παραλλαγή του γονιδίου BRCA1 ex9-12del έχει σημειωθεί ως μία από τις παραλλαγές που

επηρεάζει την πιθανότητα της επιβίωσης σε έναν ασθενή μετά την θεραπεία για τον καρκίνο του μαστού [28].

Χημειοθεραπεία

Η παραδοσιακή χημειοθεραπεία, ενώ είναι αποτελεσματική στη στόχευση των ταχέως διαιρούμενων κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των καρκινικών κυττάρων, επηρεάζει και τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, με αποτέλεσμα να θέτει σε κίνδυνο την ανοσολογική απόκριση. Ωστόσο, η χημειοθεραπεία μπορεί επίσης να έχει θετικά αποτελέσματα στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος εντός του όγκου, ενισχύοντας έτσι τις ανοσολογικές αποκρίσεις έναντι των όγκων, ένας από του κύριους στόχους της χημειοθεραπείας[11]. Όταν η χημειοθεραπεία προκαλεί βλάβη στο DNA, τα γονίδια BRCA1 και BRCA2 ενεργοποιούν μια απόκριση που στοχεύει στην αποκατάσταση αυτής της βλάβης και η παρουσία παθογόνων παραλλαγών BRCA γίνεται καθοριστικός παράγοντας για τον προσδιορισμό του τρόπου με τον οποίο τα κύτταρα ανταποκρίνονται στη χημειοθεραπεία. Για παράδειγμα, κύτταρα που φέρουν παθογόνες παραλλαγές BRCA1 παρουσιάζουν αυξημένη ευαισθησία σε χημειοθεραπευτικούς παράγοντες, οι οποίοι διαταράσσουν τη δομή του DNA. Ωστόσο, αυτά τα ίδια κύτταρα τείνουν να εμφανίζουν κάποιο επίπεδο αντίστασης σε χημειοθεραπείες που αναστέλλουν μικροσωληνίσκους όπως οι ταξάνες όταν δοκιμάζονται σε εργαστηριακές συνθήκες. Οι ταξάνες είναι μια κατηγορία χημειοθεραπευτικών φαρμάκων που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία διαφόρων τύπων καρκίνου, όπως του μαστού, των ωοθηκών, του πνεύμονα και του προστάτη με πιο γνωστά φάρμακα της κατηγορίας αυτής να είναι η πακλιταξέλη (paclitaxel) και η δοσεταξέλη (docetaxel) και δρουν με την σταθεροποίηση των μικροσωληνίσκων, μια βασική διαδικασία της κυτταρικής δομής[32]. Οι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες έχουν αποδειχθεί ότι βοηθούν το ανοσοποιητικό σύστημα στην καταστολή της ανάπτυξης και διασποράς του όγκου. Οι συνδυαστικές θεραπείες που περιλαμβάνουν τον παράγοντα διέγερσης αποικίας Granulocyte-MQ (GM-CSF) και τη συμβατική χημειοθεραπεία έχουν δείξει πολλά υποσχόμενα κλινικά αποτελέσματα σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού. Ο παράγοντας διέγερσης αποικίας των μακροφάγων (Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor/ GM-CSF), παράγοντας που ανήκει στην κατηγορία των κυτταροκινών και είναι υπεύθυνος για την προαγωγή της παραγωγής, διάχυσης και ενεργοποίησης κοκκιοκυττάρων (Granulocytes) και μακροφάγων από τον μυελό των οστών. Ωστόσο, είναι αξιοσημείωτο ότι υψηλές δόσεις χημειοθεραπευτικών παραγόντων μπορεί να καταστέλλουν τις φυσιολογικές και απαραίτητες ανοσολογικές αποκρίσεις του οργανισμού[11].

Η χημειοθεραπεία έχει αναμφισβήτητα διαδραματίσει καθοριστικό ρόλο στην ενίσχυση των ποσοστών επιβίωσης μεταξύ των ασθενών με καρκίνο του μαστού, προσφέροντας ελπίδα, ιδιαίτερα για άτομα που αποτελούν φορείς των μεταλλαγμένων γονιδίων BRCA1/BRCA2.[28]

Η χημειοθεραπεία μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά χωρίς απαραίτητα να επηρεάσει τις ανοσολογικές αποκρίσεις και προκαλέσει τις συνηθής επιπτώσεις της. Ωστόσο, περαιτέρω έρευνες έχουν αποκαλύψει συσχετίσεις μεταξύ της ενεργοποίησης των T και NK λεμφοκυττάρων και της αποτελεσματικότητας της χημειοθεραπείας με βάση της ταξάνες σε ασθενείς με BC. Τα T λεμφοκύτταρα, επίσης γνωστά ως T κύτταρα, είναι ένας τύπος λευκών αιμοσφαιρίων που παίζουν κεντρικό ρόλο στην προσαρμοστική ανοσολογική απόκριση. Αναγνωρίζουν συγκεκριμένα αντιγόνα μέσω του υποδοχέα των T κυττάρων (T-cell receptor ή TCR) και είναι απαραίτητα για την καταπολέμηση λοιμώξεων και την άμυνα του οργανισμού ενάντια σε καρκινικά κύτταρα. Τα T λεμφοκύτταρα διακρίνονται με την βάση την παρουσία υποδοχέων κυττάρων T (TCR) στην κυτταρική τους επιφάνεια και χωρίζονται κυρίως σε δύο υποκατηγορίες: τα βοηθητικά T κύτταρα (CD4+) και τα κυτταροτοξικά T κύτταρα (CD8+). Τα φυσικά κύτταρα φονείς (Natural Killer cells ή NK cells) είναι ένα υποσύνολο λεμφοκυττάρων/λευκών αιμοσφαιρίων (περίπου 10-15% των μονοπύρηνων κυττάρων του αίματος) που ανήκουν στο έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα και παίζουν κρίσιμο ρόλο στην άμυνα του οργανισμού ενάντια σε ιογενείς λοιμώξεις, σε καρκινικά κύτταρα και τα παράγωγά τους. Τα NK λεμφοκύτταρα μπορούν να αναγνωρίσουν και να καταστρέψουν κύτταρα που δεν εκφράζουν φυσιολογικά δείκτες του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας κατηγορίας I (MHC classI), που συνήθως εκφράζονται σε υγιή κύτταρα[11].

Το πεδίο της θεραπείας του καρκίνου του μαστού εξελίσσεται συνεχώς, με συνεχείς δοκιμές με στόχο την αποτελεσματικότητα μιας ποικίλης σειράς θεραπευτικών παραγόντων. Παρά τα βήματα που έγιναν στη χημειοθεραπεία, η διαχείριση του καρκίνου του μαστού που σχετίζεται με BRCA1/BRCA2 εξακολουθεί να βασίζεται σε μεγάλο βαθμό σε επεμβατικές χειρουργικές επεμβάσεις (χειρουργική επέμβαση διατήρησης του μαστού ή της αμφιτερόπλευρης μαστεκτομής), μια κοινή συνισταμένη με πολλές κακοήθειες σε όλο το φάσμα, αν και έχουν δείξει θετικά ποσοστά μείωσης του κινδύνου επέκτασης και αύξηση αποτελεσματικότητας της θεραπείας. Έτσι έχει δημιουργηθεί η επιτακτική ανάγκη για καινοτομία και ανάπτυξη νέων φαρμάκων ή πρωτοκόλλων θεραπείας προσαρμοσμένα ρητά στα μοναδικά μοριακά χαρακτηριστικά των καρκίνων που σχετίζονται με το BRCA. Τέτοιες εξατομικευμένες παρεμβάσεις είναι απαραίτητες για την υπέρβαση των τρωμερών μηχανισμών αντίστασης που συχνά εμποδίζουν την αποτελεσματικότητα των τρεχουσών μεθόδων

θεραπείας. Αντιπαραθέτοντας τα αποτελέσματα που προκύπτουν από τις υπάρχουσες θεραπευτικές προσεγγίσεις για καρκίνους που σχετίζονται με BRCA1/BRCA2 και αξιοποιώντας εξελιγμένα συστήματα και μοντέλα απεικόνισης, οι ερευνητές προσπαθούν να συγκεντρώσουν νέα δεδομένα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν και υιοθετηθούν στην ενημέρωση των προσπαθειών προ-κλινικής ανακάλυψης φαρμάκων. Αυτή η ολοκληρωμένη προσέγγιση υπόσχεται τη βελτίωση των στρατηγικών θεραπείας και την αύξηση των κλινικών αποτελεσμάτων για άτομα που αντιμετωπίζουν τις προκλήσεις που τίθενται από τις μεταλλάξεις BRCA[28].

Ο συνδυασμός χημειοθεραπείας με στοχευμένες θεραπείες όπως η τραστουζουμάμπη έχει δείξει σημαντικές βελτιώσεις στα ποσοστά επιβίωσης ασθενών με καρκίνο του μαστού, με ορισμένες μελέτες να αναφέρουν έως και 35% αύξηση στην επιβίωση. Η τραστουζουμάμπη (trastuzumab) είναι ένα μονόκλωνο αντίσωμα που χρησιμοποιείται στη θεραπεία του καρκίνου του μαστού και του γαστροοισοφαγικού καρκίνου και στοχεύει συγκεκριμένα τον υποδοχέα 2 του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (HER2), ο οποίος εκφράζεται υπερβολικά σε ορισμένες μορφές αυτών των καρκίνων. Η τραστουζουμάμπη δεσμεύεται στον υποδοχέα HER2, εμποδίζοντας τη δραστηριότητά του και σηματοδοτώντας το ανοσοποιητικό σύστημα να επιτεθεί στα καρκινικά κύτταρα. Ένας από τους βασικούς μηχανισμούς που διέπουν την αποτελεσματικότητα της χημειοθεραπείας είναι ο ανοσοκυτταρικός θάνατος (ICD), μια μορφή κυτταρικού θανάτου που πυροδοτεί ανοσοαποκρίσεις έναντι των κυτταροτοξικών και των καρκινικών κυττάρων[11].

Συγκεκριμένα διαφορετικά χημικοθεραπευτικά φάρμακα έχουν ποικίλες δυνατότητες να προκαλέσουν ανοσολογικό κυτταρικό θάνατο (ICD), μια διαδικασία ζωτικής σημασίας για την τόνωση των ανοσολογικών αποκρίσεων κατά των καρκινικών κυττάρων. Μεταξύ των βασικών μεσολαβητών της ICD, η καλσιτονίνη και ο υποδοχέας της (CalR) έχουν αναδειχθεί ως ιδιαίτερα σημαντικοί. Η καλσιτονίνη είναι μια πεπτιδική ορμόνη που εκκρίνεται κυρίως από τα παραθυρεοειδή κύτταρα του θυρεοειδούς αδένα. Ο υποδοχέας της καλσιτονίνης (CalR) είναι ο υποδοχέας στον οποίο προσδένεται η καλσιτονίνη για να επιτελέσει τη δράση της. Η κύρια λειτουργία της καλσιτονίνης είναι η ρύθμιση των επιπέδων ασβεστίου στο αίμα και η αναστολή της αποδόμησης του οστού από τους οστεοκλάστες. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η καλσιτονίνη μπορεί να επηρεάζει την κυτταρική αύξηση και την επέκταση των καρκινικών κυττάρων του μαστού μέσω του CalR. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η καλσιτονίνη μπορεί να επηρεάζει την κυτταρική αύξηση και την επέκταση των καρκινικών κυττάρων του μαστού μέσω του CalR

εφόσον επηρεάζουν στην αποφυγή της απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων, επιτρέποντας έτσι την επιβίωσή τους και την προαγωγή της ανάπτυξης του όγκου[11].

Ωστόσο, ορισμένοι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες επιδεικνύουν ισχυρές ικανότητες στην πρόκληση ICD, προσφέροντας ελπιδοφόρες ευκαιρίες για συνδυαστικές θεραπείες με ανοσοθεραπεία για τη συνέργεια της αποτελεσματικότητας της θεραπείας. Αξίζει να σημειωθεί ότι αυτοί οι παράγοντες όχι μόνο εξαλείφουν τα καρκινικά κύτταρα αλλά προάγουν επίσης τον ανοσοκυτταρικό θάνατο, ενισχύοντας έτσι τη συνολική τους αποτελεσματικότητα. Η πρόκληση ICD επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένου του τύπου του όγκου, του συγκεκριμένου χημειοθεραπευτικού παράγοντα, της δοσολογίας και του προγράμματος θεραπείας. Η χημειοθεραπεία μπορεί να οδηγήσει στην απελευθέρωση αντιγόνων από καρκινικά κύτταρα, τα οποία μπορεί να αποδειχθούν ευεργετικά στο πλαίσιο της ανοσοθεραπείας, ιδιαίτερα σε όγκους με χαμηλό φορτίο μετάλλαξης[11]. Ο υποδοχέας του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGFR), μέλος της οικογένειας υποδοχέων πρωτεϊνικών κινασών τυροσίνης (PTK), παίζει κεντρικό ρόλο στη μεσολάβηση των επιδράσεων της σηματοδότησης αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα, ιδιαίτερα μέσω του υποτύπου του VEGFR-2. Κατά τη δέσμευση με τον VEGF, ο VEGFR-2 ενεργοποιεί διάφορες φυσιολογικές αποκρίσεις, επηρεάζοντας καθοριστικά τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων, τη μετανάστευση και την επιβίωση. Επιπλέον, ο VEGFR-2 χρησιμεύει ως βασικός κόμβος σηματοδότησης στην αγγειογένεση, συμβάλλοντας στον σχηματισμό νέων αιμοφόρων αγγείων. Σε πολλούς τύπους καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου του μαστού, των ωοθηκών, του στομάχου και του νευροβλαστώματος, έχει παρατηρηθεί μη-φυσιολογική έκφραση του υποδοχέα 2 του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα, ορίζοντας τον σαν πιθανό βιοδείκτη για ογκογένεση. Η στόχευση της οδού VEGFR-2 έχει αναδειχθεί ως μια πολλά υποσχόμενη στρατηγική για αντι-αγγειογενετική και αντι-ογκογόνο θεραπεία[32].

Τα τελευταία χρόνια, οι συνδυαστικές θεραπείες και οι αναστολείς διπλού στόχου έχουν κερδίσει σημαντική έλξη στην κλινική πράξη ως στρατηγικές για να ξεπεραστεί η αντίσταση στη θεραπεία ενός στόχου σε διάφορες κακοήθειες. Ένα ενδεικτικό παράδειγμα είναι μια κλινική δοκιμή φάσης II όπου η διπλή αναστολή του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) με cetuximab και του υποδοχέα αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGFR) με sorafenib έδειξε αξιοσημείωτες βελτιώσεις στα κλινικά αποτελέσματα για μεταστατικούς όγκους του παχέος εντέρου που φιλοξενούν μεταλλάξεις KRAS (NCT49032)[32]. Ο συνδυασμός θεραπείας anti-VEGFR με χαμηλή δόση κυκλοφωσφαμίδης

έχει αποδείξει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα σε σύγκριση με τη συμβατική θεραπεία σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού εφόσον έχει αποδειχθεί ότι τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα μεταβάλλουν τη σύνθεση των πληθυσμών ανοσοκυττάρων εντός του μικροπεριβάλλοντος του όγκου, οδηγώντας σε αυξημένο αριθμό τελεστών ανοσοκυττάρων σε ασθενείς BC που λαμβάνουν αυτούς τους παράγοντες. Η κυκλοφωσφαμίδη είναι ένας χημικός παράγοντας που λειτουργεί ως αντικαρκινικό φάρμακο, δηλαδή προκαλεί τη μετάλλαξη του DNA των καρκινικών κυττάρων, εμποδίζει τα να αναπαραχθούν με αποτέλεσμα τη μείωση του μεγέθους του όγκου και την αναστολή της ανάπτυξης του καρκίνου. Αυτή η αύξηση των τελεστικών ανοσοκυττάρων έχει συσχετιστεί με βελτιωμένη συνολική επιβίωση (OS) σε ασθενείς με BC[11].

Χημειοθεραπευτικοί παράγοντες όπως η ντοσεταξέλη (doxorubicin) έχει αποδειχθεί ότι διαθέτουν την ικανότητα να ενεργοποιούν κύτταρα φυσικών φονέων. Η ντοσεταξέλη είναι ένα φάρμακο που χρησιμοποιείται στη θεραπεία του καρκίνου, συγκεκριμένα στη θεραπεία καρκίνων προκληθέντων από τα γονίδια BRCA, κυρίως του καρκίνου του παχέος εντέρου και του πρωκτού, καθώς και σε άλλους τύπους καρκίνου του μαστού. Η ντοσεταξέλη ανήκει στην κατηγορία των χημειοθεραπευτικών φαρμάκων που ονομάζονται αντι-μεταβολικά φάρμακα, καθώς ενεργεί αποτρέποντας τον αναστολέα του αγγειογενούς ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα, και εμποδίζει την ανάπτυξη νέων αγγείων μέσα στον όγκο, μειώνοντας έτσι την παροχή αίματος και των θρεπτικών συστατικών στον όγκο, που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξή του. Η δόση της ντοσεταξέλης δίνεται σε μορφή ενέσιμου διαλύματος και συνήθως χορηγείται σε πρωτογενείς και μεταστατικές μορφές καρκίνου, είτε μόνο του είτε σε συνδυασμό με άλλα χημειοθεραπευτικά φάρμακα είτε με άλλες θεραπείες, ανάλογα με τις ανάγκες και την κατάσταση των ασθενών. Η χρήση της εξαρτάται από το στάδιο και τον τύπο του καρκίνου, καθώς και στις ατομικές ανάγκες και χαρακτηριστικά του ασθενούς[11].

Επιπλέον, ένας άλλος πληθυσμός κυττάρων που μπορεί να αυξηθεί από τη χημειοθεραπεία είναι τα δένδριτικά κύτταρα. Τα δένδριτικά κύτταρα (DCs) παίζουν έναν κεντρικό ρόλο στην ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων, κυρίως των κυττάρων T, προκειμένου να μην κάνουν μια ανοσιακή αντίδραση εναντίον των εισβολέων. Με την επεξεργασία και παρουσίαση των αντιγόνων, τα DCs ενεργοποιούν τα κύτταρα T, επιτρέποντάς τους να αναπτύξουν ανοσιακή μνήμη για να αντιμετωπίσουν αποτελεσματικά τους επερχόμενους εισβολείς. Η αλληλεπίδραση του υποδοχέα 4 (TLR4) και της πρωτεΐνης υψηλής κινητικότητας ομάδας 1 (HMGB1) έχει εμπλακεί στην ενεργοποίηση των DCs, οδηγώντας στην επεξεργασία

και παρουσίαση αντιγόνων όγκου και επακόλουθη έκκριση ιντερλευκίνης-1β (IL- 1β) και ενεργοποίηση κυτταροτοξικών Τ λεμφοκυττάρων (CTLs)[11].

Μετρονομική Χημειοθεραπεία

Ο όρος μετρονομική χημειοθεραπεία (MTC) αναφέρεται στη συνεχή και τακτική χορήγηση χημειοθεραπευτικών φαρμάκων σε ασθενείς με καρκίνο με χαμηλό ρυθμό δόσεων. Αυτή η στρατηγική μπορεί να οδηγήσει σε μεγαλύτερη διάρκεια και κατάλληλη συγκέντρωση της χημειοθεραπείας με ελάχιστες παρενέργειες ή τουλάχιστον λιγότερες παρενέργειες σε σχέση με την απλή χημειοθεραπεία[11].

Ένας από τους σημαντικότερους ρόλους της MTC είναι οι αντι-αγγειογενετικές επιδράσεις της. Έχει αποδειχθεί ότι η MTC, ως αντι-αγγειογενετικός παράγοντας, στοχεύει τον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα (VEGF) και αναστέλλει τους αγγειογενετικούς μηχανισμούς των κυττάρων ενώ όταν συνδυάζεται με μονόκλωνο αντίσωμα κατά του VEGF, έχει διάφορες επιδράσεις. Επίσης, τα ενδοθηλιακά κύτταρα όγκου (TEC) και τα ενδοθηλιακά πρόδρομα κύτταρα (EPC) μπορούν να στοχευθούν μέσω της MTC, καθώς παίζουν σημαντικούς ρόλους στην αγγειογένεση του όγκου. Επιπλέον, η MTC μπορεί να προκαλέσει την αντι-αγγειογενετική πρωτεΐνη Θρομβοσπονδίνη-1 (HIF-1) να αναστείλει τον αγγειογενετικό παράγοντα και να μειώσει τα υπάρχοντα λειτουργικά επίπεδα του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα[11].

Ένας άλλος σημαντικός μηχανισμός δράσης της μετρονομικής χημειοθεραπείας περιλαμβάνει τον ρόλο της στην αποκατάσταση και την ενίσχυση των αντικαρκινικών ανοσολογικών αποκρίσεων στον όγκο. Τα ρυθμιστικά Τ-λεμφοκύτταρα έχουν καθοριστικό ρόλο στη διατήρηση της ανοσολογικής ομοιόστασης και της ανοχής, αποτρέποντας την αυτοάνοση αντίδραση και καταστέλλοντας τις υπερβολικές ανοσολογικές αποκρίσεις που θα μπορούσαν να βλάψουν τους ιστούς του ίδιου του οργανισμού. Έχει βρεθεί ότι το MTC στοχεύει επιλεκτικά τα ρυθμιστικά Τ-λεμφοκύτταρα (Tregs) που, με την καταστροφή και εξάντληση τους, το MTC βοηθά στην αποκατάσταση των φυσικών λειτουργιών των κυτταροτοξικών ανοσοκυττάρων, όπως τα φυσικά κύτταρα NK και τα Τ λεμφοκύτταρα, ενισχύοντας έτσι την ικανότητά τους να αναγνωρίζουν και να επιτίθενται στα καρκινικά κύτταρα. Επίσης, η μετρονομική χημειοθεραπεία προκαλεί τον θάνατο ανοσολογικών καρκινικών κυττάρων, μια διαδικασία κατά την οποία κύτταρα όγκου που πεθαίνουν απελευθερώνουν ανοσο-ενισχυτικά μόρια, μόρια που σχετίζονται με την βελτίωση της ανοσολογικής απόκρισης κατά των όγκων[11].

Μαστεκτομή

Η μαστεκτομή είναι μια χειρουργική επέμβαση που περιλαμβάνει την αφαίρεση ενός ή και των δύο μαστών, εν μέρει ή εντελώς, και χρησιμοποιείται κυρίως για τη θεραπεία ή την πρόληψη του καρκίνου του μαστού με διάφορους τύπους μαστεκτομής συμπεριλαμβανομένου της ολικής, τμηματικής, ριζικής μαστεκτομής, και μαστεκτομή με διατήρηση της θηλής ή με διατήρηση δέρματος. Η επιλογή του κατάλληλου τύπου εξαρτάται από την ατομική περίπτωση κάθε ασθενούς, το στάδιο του καρκίνου, και φυσικά τις προτιμήσεις της ασθενούς. Η διαδικασία λήψης αποφάσεων σχετικά με την αμφίπλευρη μαστεκτομή εκτείνεται πέρα από τις απλές εκτιμήσεις επιβίωσης για τους περισσότερους ασθενείς, καθώς παράγοντες όπως οι σωματικές, αισθητικές, οικονομικές και ψυχοκοινωνικές επιπτώσεις του RRM ή η αποφυγή περιττής χειρουργικής επέμβασης πρέπει να εξετάζονται και αξιολογούνται προσεκτικά. Η συμβουλευτική πρέπει να προσαρμόζεται για να προσανατολίζεται αυτή η περίπλοκη ισορροπία οφέλους-κινδύνου από την οπτική γωνία του ασθενούς, λαμβάνοντας υπόψη παράγοντες που σχετίζονται με το γονίδιο, την παραλλαγή και τον ασθενή. Οι παράγοντες που ευνοούν το RRM μπορεί να περιλαμβάνουν τη συνολική επιβίωση (OS), το βάρος της επιτήρησης (συμπεριλαμβανομένου του κινδύνου ψευδώς αρνητικών), το αντιληπτό βάρος του κινδύνου καρκίνου, τον αντίκτυπο της θεραπείας του καρκίνου, μεταξύ άλλων. Η επιλογή της μαστεκτομής για μείωση του κινδύνου μετά από συντηρητική χειρουργική επέμβαση και ακτινοθεραπεία μπορεί να δημιουργήσει προκλήσεις όπως αυξημένες χειρουργικές επιπλοκές και πιθανές επιπτώσεις για την ογκοπλαστική αποκατάσταση. Υπάρχουν εκτεταμένα στοιχεία σχετικά με τη διαφοροποιημένη ισορροπία μεταξύ των οφελών και των κινδύνων που σχετίζονται με τη χειρουργική επέμβαση διατήρησης του μαστού έναντι της μαστεκτομής, καθώς και την εξέταση του ετερόπλευρου RRM σε περιπτώσεις ετερόπλευρου καρκίνου του μαστού μεταξύ των φορέων BRCA, όπως τονίζεται σε πρόσφατες ανασκοπήσεις[28].

Για άνδρες ασθενείς με καρκίνο του μαστού με παθογόνες/πιθανώς παθογόνες παραλλαγές (P/LP), η τυπική χειρουργική αντιμετώπιση παραμένει ανεπηρέαστη, χωρίς σύσταση για RRM. Επί του παρόντος, δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία για την υποστήριξη του RRM σε φορείς μετρίως διεισδυτικών παραλλαγών P/LP, αν και αυτή η επιλογή μπορεί να δικαιολογεί συζήτηση, ιδιαίτερα στο πλαίσιο οικογενειακού ιστορικού καρκίνου του μαστού[28].

Οι γυναίκες ασθενείς με ευνοϊκή πρόγνωση για πρωτοπαθή καρκίνο του μαστού θα πρέπει επίσης να ενημερώνονται για τον κίνδυνο καρκίνου των ωοθηκών και να λαμβάνουν συμβουλές σχετικά με την επιλογή της σαλπινγγο-ωοθηκεκτομής μειώνοντας τον κίνδυνο

(RRSO) ως αποτελεσματικό προληπτικό μέτρο. Το RRSO συνιστάται να πραγματοποιείται μεταξύ 35-40 ετών για φορείς BRCA1 και αργότερα, μεταξύ 40 και 45 ετών, για φορείς BRCA2. Μελέτες έχουν δείξει ότι σε υγιείς γυναίκες, το RRSO σχετίζεται όχι μόνο με τη μείωση της θνησιμότητας λόγω καρκίνου των ωοθηκών, αλλά και με τη μείωση της θνησιμότητας που σχετίζεται με τον καρκίνο του μαστού[28].

Θεραπεία με αναστολέα της πολυμεράσης της διφωσφορικής αδενοσίνης [ADP]-ριβόζης (PARP)

Μια πολλά υποσχόμενη συστηματική οδός θεραπείας για άτομα με παθογόνες παραλλαγές BRCA περιλαμβάνει τη χρήση αναστολέων PARP. Τα ένζυμα PARP διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην επιδιόρθωση σπασίματος μονής έλικας DNA μέσω μιας διαδικασίας γνωστής ως επιδιόρθωση εκτομής βάσης. Η αναστολή της δραστηριότητας PARP έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση σπασίματος μονής έλικας DNA και την ενδεχόμενη βλάβη στις διχάλες αντιγραφής. Υπό κανονικές συνθήκες, αυτές οι διακοπές διορθώνονται με ομόλογο ανασυνδυασμό χωρίς σφάλματα. Ωστόσο, όταν υπάρχουν ελαττώματα στην οδό ομόλογου ανασυνδυασμού λόγω δυσλειτουργικών γονιδίων BRCA, οι αναστολείς PARP προκαλούν συνθετική θνησιμότητα εμποδίζοντας την επιδιόρθωση της εκτομής βάσης[33,34].

Επί του παρόντος, υπάρχουν πέντε αναστολείς PARP στην αγορά: olaparib, talazoparib, rucaparib, niraparib και veliparib. Μεταξύ αυτών, το olaparib, το rucaparib και το niraparib έχουν λάβει έγκριση από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των Ηνωμένων Πολιτειών (FDA) για τη θεραπεία του καρκίνου των ωοθηκών. Επιπλέον, η olaparib έχει εγκριθεί από τον FDA για τη θεραπεία του HER2-μεταστατικού καρκίνου του μαστού σε άτομα με παθογόνες παραλλαγές BRCA βλαστικής σειράς. Το olaparib είναι μια ομάδα ενζύμων που επιδιορθώνουν την DNA βλάβη σε κύτταρα, δηλαδή εμποδίζει τη λειτουργία του PARP, εμποδίζοντας έτσι και την επιδιόρθωση της DNA, η οποία είναι ήδη ασθενής λόγω των μεταλλάξεων στα γονίδια BRCA1 ή BRCA2. Με αυτόν τον τρόπο, ενισχύει τις βλαβερές επιδράσεις της καρκινογένεσης και οδηγεί στον θάνατο του καρκινικού κυττάρου. Ίδια διαδικασία και χρήση έχουν και το rucaparib, το niraparib και το veliparib[33].

Προφυλακτική χειρουργική επέμβαση

Η προφυλακτική χειρουργική επέμβαση για καρκίνο του μαστού αναφέρεται στην αφαίρεση του υγιούς μαστού, έστω και αν δεν έχει διαγνωστεί καρκίνος, με σκοπό τη μείωση του ρίσκου εμφάνισης καρκίνου στο μέλλον. Αυτή η επέμβαση είναι συνήθως προληπτική και συνιστάται σε γυναίκες με υψηλό γενετικό κίνδυνο για ανάπτυξη καρκίνου του μαστού, όπως

εκείνες που φέρουν μεταλλάξεις στα γονίδια BRCA1 ή BRCA2 ή άλλους υψηλού κινδύνου γονίδια. Περαιτέρω σκέψεις σχετικά με τη χειρουργική αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού με παθογόνες παραλλαγές περιλαμβάνουν τα πιθανά οφέλη της προφυλακτικής ετερόπλευρης μαστεκτομής και της σαλπινγο-ωοθηκεκτομής στην πρόγνωση του ασθενούς. Η προφυλακτική μαστεκτομή μπορεί να μειώσει σημαντικά τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του μαστού σε φορείς των μεταλλάξεων στα γονίδια BRCA, αλλά πρέπει να ληφθούν υπόψη οι πιθανές συνέπειες και οι επιπλοκές της επέμβασης. Όσον αφορά την προφυλακτική αμφοτερόπλευρη σαλπινγο-ωοθηκεκτομή στην παθογόνο παραλλαγή του καρκίνου του μαστού BRCA1/BRCA2, έχει δείξει μειώσεις τόσο στις ομόπλευρες όσο και στις ετερόπλευρες υποτροπές του καρκίνου του μαστού και μείωσε σημαντικά τη θνησιμότητα από καρκίνο του μαστού σε ασθενείς με παθογόνες παραλλαγές BRCA, κυρίως σε ασθενείς με παθογόνο παραλλαγή του BRCA1 με καρκίνο του μαστού[33].

Βιοδείκτες με βάση το αίμα

Τα τελευταία χρόνια, έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος στη μελέτη των βιοδεικτών που βασίζονται στο αίμα, εστιάζοντας ιδιαίτερα στο κυκλοφορούν DNA όγκου (ctDNA). Εκτεταμένη έρευνα έχει αποκαλύψει ότι το ctDNA τυπικά αποτελεί μια μεταβλητή, αν και μικρή, αναλογία του συνολικού κυκλοφορόντος DNA απαλλαγμένου από κύτταρα (cfDNA) που βρίσκεται στο πλάσμα των καρκινοπαθών. Αυτή η αναλογία επηρεάζεται από διάφορους βιολογικούς παράγοντες, όπως ο τύπος του όγκου, η ιστολογία, το στάδιο της νόσου, ο ρυθμός πολλαπλασιασμού των κυττάρων και η γονιδιωματική αστάθεια. Η κλινική χρησιμότητα της ανάλυσης ctDNA περιλαμβάνει διάφορους βασικούς τομείς, συμπεριλαμβανομένου του μη διεισδυτικού γονότυπου όγκου, της παρακολούθησης της ανταπόκρισης στη θεραπεία, της ανίχνευσης ελάχιστης υπολειμματικής νόσου (MRD) μετά τη θεραπεία και της πρόωμης ανίχνευσης του καρκίνου[35].

Οι βιοψίες αίματος προσφέρουν πολλά πλεονεκτήματα σε σχέση με τις βιοψίες ιστού, ιδιαίτερα στη σύλληψη της ετερογένειας του όγκου. Σε αντίθεση με τις βιοψίες ιστού, οι οποίες δειγματοληπτούν ένα μόνο σημείο, το κυκλοφορούν DNA όγκου (ctDNA) σε υγρές βιοψίες μπορεί να προέρχεται από πολλαπλές εναποθέσεις όγκου, παρέχοντας μια πιο ολοκληρωμένη αναπαράσταση της ετερογένειας του όγκου. Αυτό είναι ιδιαίτερα ευεργετικό όταν η βιοψία ιστού δεν είναι διαθέσιμη ή όταν το δείγμα βιοψίας περιέχει χαμηλή ποσότητα των κυττάρων του όγκου. Αρχικά, ο γονότυπος του ctDNA βασίστηκε σε ποσοτικές και ψηφιακές αναλύσεις PCR. Ωστόσο, με τις εξελίξεις στην τεχνολογία, τα πάνελ αλληλουχίας επόμενης γενιάς (NGS)

έχουν γίνει η κυρίαρχη μέθοδος για τον προσδιορισμό του γονότυπου του ctDNA. Αυτά τα πάνελ μπορούν να ανιχνεύσουν ένα ευρύ φάσμα κλινικά σχετικών μεταλλάξεων[35].

Επιπλέον, προοπτικές μελέτες έχουν επισημάνει τη χρησιμότητα της ανάλυσης ctDNA πριν από τη θεραπεία για την ενίσχυση της ανίχνευσης θεραπευτικά ενεργών μεταλλάξεων σε διάφορους καρκίνους, συμπεριλαμβανομένων των καρκίνων του πνεύμονα, του μαστού και του παχέος εντέρου. Με την ενσωμάτωση του γονότυπου που βασίζεται σε υγρή βιοψία παράλληλα ή πριν από τον γονότυπο με βάση τον ιστό, η αναγνώριση ενεργών μεταλλάξεων έχει ενισχυθεί σημαντικά σε προχωρημένα σενάρια ασθενειών. Αυτή η προσέγγιση έχει εγκριθεί από πολλές ομάδες εμπειρογνομόνων[35].

Ωστόσο, είναι σημαντικό να σημειωθεί ένας σημαντικός περιορισμός του γονότυπου με βάση το πλάσμα είναι τα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα λόγω χαμηλής αφθονίας ctDNA. Για να μετριαστεί αυτός ο περιορισμός, συνιστάται ανεπιφύλακτα η εξέταση αντανεκλαστικού ιστού παράλληλα ή όταν δεν ανιχνεύονται μεταλλάξεις όγκου χρησιμοποιώντας μια στρατηγική υγρής βιοψίας πρώτα, αν και αυτό μπορεί να προκαλέσει κάποιες καθυστερήσεις στη διαγνωστική διαδικασία. Η μέτρηση των συγκεντρώσεων του ctDNA κατά τη διάρκεια της θεραπείας μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης για την εκτίμηση του συνολικού φορτίου του όγκου και της αποτελεσματικότητας της θεραπείας. Σε πολλά πλαίσια ασθενειών και θεραπειών, η μείωση του ανιχνεύσιμου ctDNA κατά τη διάρκεια της θεραπείας έχει συσχετιστεί με κλινικό όφελος. Αυτό μπορεί να επιτρέψει τον εντοπισμό των ασθενών που δεν ανταποκρίνονται στη θεραπεία και οι οποίοι θα μπορούσαν να επωφεληθούν από μια πιο επιθετική θεραπευτική προσέγγιση νωρίτερα από τον καθιερωμένο ραδιολογικό έλεγχο, και ήδη διεξάγονται κλινικές δοκιμές που εξετάζουν αυτές τις στρατηγικές. Αυτή η στρατηγική πρέπει να καθιερωθεί επίσημα σε αυτό το παρηγορητικό πλαίσιο[35].

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα γονίδια BRCA έχουν οριστεί ως γονίδια υψηλής σημασίας για πολλές μορφές του καρκίνου του μαστού, και άλλων μορφών καρκίνου, που επηρεάζουν μεγάλο μέρος του πληθυσμού, με βάση τον ρόλο τους στην επιδιόρθωση DNA και στην δημιουργία όγκων, όταν είναι σε μεταλλαγμένες μορφές. Είναι σημαντικοί παράγοντες για την πρόληψη, την διάγνωση και την επιλογή εξατομικευμένης θεραπείας. Παρ' όλα αυτά, στην ελληνική Εφημερίδα της Κυβερνήσεως, στην έκδοση του 2014, για την συνταγογράφηση και αποζημίωση ογκολογικών φαρμάκων, τα γονίδια BRCA δεν αναφέρονται καθόλου σαν μέρος συνταγογράφησης και αποζημίωσης. Στην Εφημερίδα της Κυβερνήσεως, στην έκδοση του 2018,

συμπεριλαμβάνονταν οι βιοδείκτες BRCA αλλά δυστυχώς μέχρι σήμερα δεν έχουν επικαιροποιηθεί, σύμφωνα με τις διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες του 2024, οι προϋποθέσεις για τον έλεγχο και την δικαιοδοσία των εξετάσεων για πιθανούς φορείς των μεταλλάξεων. Τα τελευταία χρόνια έχουν ανακαλυφθεί περισσότερες πληροφορίες για την λειτουργία και την επιρροή των γονιδίων BRCA στον καρκίνο του μαστού και υπάρχει έντονη ανάγκη για την ενημέρωση των προϋποθέσεων της δικαιοδοσίας για γενετικό έλεγχο ώστε να μην χαθούν πιθανοί φορείς των μεταλλάξεων με αυξημένο κίνδυνο λόγω των πεπερασμένων κριτηρίων.

Συμπερασματικά, ο ρόλος των γενετικών βιοδεικτών BRCA1 και BRCA2 στον καρκίνο του μαστού αποτελεί κρίσιμο ερευνητικό πεδίο με σημαντικές επιπτώσεις στην πρόληψη, την έγκαιρη ανίχνευση και τη θεραπεία της νόσου. Η πρόοδος στην κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που διέπουν τον σχετιζόμενο με το BRCA καρκίνο του μαστού έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη στοχευμένων θεραπειών και προσεγγίσεων εξατομικευμένης ιατρικής με στόχο τη βελτίωση των αποτελεσμάτων και της ποιότητας ζωής των προσβεβλημένων ατόμων. Λόγω της πολυπλοκότητας της γενετικής του καρκίνου του μαστού, είναι σημαντικό να εφαρμοστούν οι επιστημονικές ανακαλύψεις στην κλινική πρακτική, διασφαλίζοντας ότι τα άτομα με αυξημένο κίνδυνο κληρονομικού καρκίνου του μαστού και των ωοθηκών θα λαμβάνουν έγκαιρες και κατάλληλες παρεμβάσεις για τη μείωση της καρκινικής τους επιβάρυνσης. Με την ενσωμάτωση των προοπτικών της γενετικής, της ογκολογίας και της δημόσιας υγείας, θα είναι δυνατή η πιθανότητα, ο καρκίνος του μαστού να ανιχνεύεται έγκαιρα, θα αντιμετωπίζεται αποτελεσματικά και, τελικά, θα προλαμβάνεται εντελώς, χωρίς να πλήττει την ποιότητα της ζωής και να επιβαρύνει τα συστήματα υγείας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] : Barili, V., Ambrosini, E.; Bortesi, B.; Minari, R.; De Sensi, E.; Cannizzaro, I.R.; Taiani, A.; Michiara, M.; Sikokis, A.; Boggiani, D.; et al. Genetic Basis of Breast and Ovarian Cancer: Approaches and Lessons Learnt from Three Decades of Inherited Predisposition Testing. *Genes* 2024, 15, 219, σελ. 1, σελ. 3-4, σελ. 16-17.
- [2] WHO, Breast Cancer, 2024.
- [3] Michael, F., Walsh, Katherine L., Nathanson, Fergus J., Couch, Kenneth Offit, 2017, *Advances in Experimental Medicine and Biology: Genomic Biomarkers for Breast Cancer Risk, Novel Biomarkers in the Continuum of Breast Cancer*, Adv Exp Med Biol.
- [4] Antunes Meireles, P.; Fragoso, S.; Duarte, T.; Santos, S.; Bexiga, C.; Nejo, P.; Luís, A.; Mira, B.; Miguel, I., Rodrigues, P.; et al. Comparing Prognosis for BRCA1, BRCA2, and Non-BRCA Breast Cancer. *Cancers* 2023, 15, 5699, σελ. 2.
- [5] Χρυσοβαλάντα, Ξ. 2022, *Κληρονομικός καρκίνος του μαστού: ο ρόλος του γονιδιακού ελέγχου*, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας, Αθήνα.
- [6] Αντρίκος, Κληρονομικός καρκίνος, Site Ε.Ο.Π.Ε., Νοέμβριος 2012.
- [7] Prashant Mehta, Sneha J. Bothra, 2021, Chapter Two - PARP inhibitors in hereditary breast and ovarian cancer and other cancers: A review, *Advances in Genetics*, Academic Press.
- [8] Trusler, O., Goodwin, J., Laslett, L. A., 2021, BRCA1 and BRCA2 associated breast cancer and the roles of current modelling systems in drug discovery. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, Volume 1875, Issue 1, σελ. 1-3.
- [9] Choi, E., Mun, G., Lee, J., Lee, J., Cho, J., Lee, Y., 2023, BRCA1 deficiency in triple-negative breast cancer: Protein stability as a basis for therapy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 158, 114090, σελ. 2-4.
- [10] Houghton, S.C., Hankinson, S.E., *Cancer Progress and Priorities: Breast Cancer*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2021, 1;30(5):822.
- [11] Barzamana, K., Karamia, J., Zareid, Z., Hosseinzadehb, A., Kazemie, H.M., Moradi-Kalbolandib, S., Safaria, E., Farahmand, L., 2020, Breast cancer: Biology, biomarkers, and treatments. *International Immunopharmacology*, 84, σελ. 1-8.
- [12] Sim, W. C., Lee, C.Y., Richards, R., Bettens, K., Mottier, V., 2020, Validation of a next generation sequencing assay for BRCA1, BRCA2, CHEK2 and PALB2 genetic testing. *Experimental and Molecular Pathology*, 116, 104483, σελ. 1-2.
- [13] Bodewes, F.T.H., Asselt, A.A., Dorrius, M.D., Greuter, M.J.W., Bock, G.H., 2022, Mammographic breast density and the risk of breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *The Breast*, 66, 62-68, σελ. 62-64.
- [14] Miral, M. Patel., Beatriz, E. A., 2023, Hereditary Breast Cancer BRCA Mutations and Beyond. *Radiologic Clinics*, σελ. 1-3, σελ. 6-12.

- [15] Lobig, F., Caleyachetty, A., Forrester, L., Morris, E., Newstead, G., Harris, J., Blankenburg, M., 2023, Performance of Supplemental Imaging Modalities for Breast Cancer in Women With Dense Breasts: Findings From an Umbrella Review and Primary Studies Analysis, *Clinical Breast Cancer*, σελ. 484-486.
- [16] Mann, R.M., Longo, V., 2024, Contrast-enhanced Mammography versus MR Imaging of the Breast. *Radiologic Clinics*, 62(4), σελ. 1-3.
- [17] Houssami, N., Skaane, P., 2013, Overview of the evidence on digital breast tomosynthesis in breast cancer detection. *The Breast*, 22, σελ. 101-103.
- [18] Kuhl, C.K., Schrading, S., Leutner, C.C., Morakkabati-Spitz, N., Wardelmann, E., Fimmers, R., Kuhn, W., Schild, H.H., 2005, Mammography, breast ultrasound, and magnetic resonance imaging for surveillance of women at high familial risk for breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 23(23), σελ.
- [19] Paveri, C.E., Morey, L.A., 2024, Biomarkers and biomarker validation: a pathologist's guide to getting it right. *BIOMARKERS IN SOLID TUMOURS*, 56(2), σελ. 147-150.
- [20] Bime, C., Camp, M.S., Casanova, N., Oita, C.R., Ndukum, J., Lynn, H., Garcia, G.N.J., 2020, The acute respiratory distress syndrome biomarker pipeline: crippling gaps between discovery and clinical utility. Elsevier, σελ. 105-107, σελ. 110-112.
- [21] Consortium, G. O., (n.d.-a). AmiGO 2:Gene Product details for UNIProtKB:A0A6I8NG36.
- [22] Ray, K.S., Meshram, Y., 2019, BRCA 1 and BRCA 2: Role in Breast Cancer. *International Journal of Scientific Research and Reviews*, 8(1), σελ. 2220-2225.
- [23] PubChem., (n.d.-b). BrCA1-IN-2., PubChem.
- [24] Luo, M., He, H., Kelley, M.R., Georgiadis, M.M., 2010, Redox regulation of DNA repair: implications for human health and cancer therapeutic development. *Antioxid Redox Signal*, 12(11).
- [25] Chiruvella, K.K., Liang, Z., Wilson, T.E., 2013, Repair of double-strand breaks by end joining. *Cold Spring Harb Perspect Biol.*, 5(5).
- [26] Harvey-Jones, J.E., Lord, J.C., Tutt, N.J.A., 2023, Systemic Therapy for Hereditary Breast Cancers. Elsevier, 23(1), σελ. 203-206, σελ. 210,215.
- [27] Zhou, J., Zhou, X.A., Zhang, N., Wang, J., 2020, Evolving insights: how DNA repair pathways impact cancer evolution. *Cancer Biol Med*.
- [28] Pensabene, M., Calabrese, A., von Arx, C., Caputo, R., De Laurentiis, M., 2024, Cancer Treatment Reviews: Cancer genetic counselling for hereditary breast cancer in the era of precision oncology. Elsevier.
- [29] Daly, B.M., Pal, T., AlHilli, Z., Arun, B., Buys, S.S., Cheng, H., Churpek, J., Domchek, M.S., Friedman, S., Giri, V., Goggins, M., Hagemann, A., Hendrix, A., Hutton, L.M., Karlan, Y.B., Kassem, N., Khan, S., Khoury, K., Kohlmann, W., Kurian, W.A., Laronga, C., Mak, S.J., Mansour, J., Maxwell, N.K., McDonnell, K., Menendez, S.C., Merajver, D.S., Norquist, S.B., Offit, K., Rash, D., Reiser, G., Senter-Jamieson, L., Shannon, M.K.,

Visvanathan, K., Welborn, J., Wick, J.M., Wood, M., Yurgelun, B.M., 2023, Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast, Ovarian, and Pancreatic. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, σελ. 28-30.

[30] Markopoulos, C., van de Velde, C., Zarca, D., Ozmen, V., Masetti, R., 2017, Clinical evidence supporting genomic tests in early breast cancer: Do all genomic tests provide the same information?. ScienceDirect, 43, σελ. 909-911.

[31] ΕΦΗΜΕΡΙΔΑ ΤΗΣ ΚΥΒΕΡΝΗΣΕΩΣ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑΣ, 2018, Αρ. Φύλλου 3969, ΤΕΥΧΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ.

[32] Liu, X.J., Zhao H.C., Hou, S.J., Zhang, H.J., Cheng, L., Yuan, S., Zhang, L.R., Song, J., Zhang, S.Y., Chen, S.W., 2023, Recent development of multi-target VEGFR-2 inhibitors for the cancer therapy. Bioorganic Chemistry, Elsevier, 133, σελ. 1-6.

[33] Lee, A., Moon, B.I., Kim, T.H., 2020, BRCA1/BRCA2 Pathogenic Variant Breast Cancer: Treatment and Prevention Strategies. ANNALS OF LABORATORY MEDICINE, 40, σελ. 114-118.

[34] Zattarin, E., Tagliatela, I., Lobefaro, R., Leporati, R., Fuca, G., Ligorio, F., Sposetti, C., Provenzano, L., Azzollini, J., Vingiani, A., Ferraris, C., Martelli, G., Manoukian, S., Pruneri, G., de Braud, F., Vernieri, C., 2023, Breast cancers arising in subjects with germline BRCA1 or BRCA2 mutations: Different biological and clinical entities with potentially diverse therapeutic opportunities. Critical Reviews in Oncology / Hematology, Elsevier, 190, σελ. 1-4.

[35] Passaro, A., Al Bakir, M., Hamilton, G.E., Diehn, M., Andre', F., Roy-Chowdhuri, S., Mountzios, G., Wistuba, I.I., Swanton, C., Peters, S., 2024, Cancer biomarkers: Emerging trends and clinical implications for personalized treatment. Elsevier, Cell 187, σελ. 1617-1620, σελ. 1625-1627.