

# Diagnostyka genetyczna raka jajnika

## *Genetic diagnosis of ovarian cancer*

Ewelina Mazurek<sup>1</sup>, Magdalena Lewicka<sup>2</sup>,  
Magdalena Sulima<sup>2</sup>, Agata Filip<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Studentka kierunku położnictwo, Wydział Nauk o Zdrowiu,  
Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Polska – projekt  
„MEDFUTURE – Medyczne zawody przyszłości”

<sup>2</sup> Zakład Położnictwa, Ginekologii i Pielęgniarstwa  
Położniczo-Ginekologicznego, Wydział Nauk o Zdrowiu,  
Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Polska

<sup>3</sup> Katedra Genetyki Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Polska

**European Journal  
of Medical Technologies**  
2015; 3(8): 44-48

Copyright © 2015 by ISASDMT  
All rights reserved  
www.medical-technologies.eu  
Published online 10.11.2015

### Streszczenie

Rak jajnika od lat jest przedmiotem szczególnego zainteresowania klinicystów i naukowców na całym świecie. Badania przeprowadzone w ostatnich latach w grupie pacjentek z rakiem jajnika wskazują na charakterystyczne podłoże konstytucyjne sprzyjające rozwojowi tego nowotworu. Na podstawie badań z zakresu genetyki wykazano, że zaburzenia w genach *BRCA1*, *BRCA2* predysponują do rozwoju raka jajnika.

Celem pracy była ocena mutacji genu *BRCA1* u kobiety chorej na raka jajnika. W badaniu zastosowano metodę studium przypadku.

Na podstawie oceny badania genetycznego stwierdzono, że obecność mutacji w genie *BRCA1* była czynnikiem ryzyka wystąpienia nowotworu jajnika u badanej pacjentki.

Edukacja kobiet w zakresie możliwości diagnostycznych i metod prewencji jest niezbędna dla uniknięcia raka jajnika lub zwiększenia szans na przeżycie w przypadku jego rozwoju.

### Adres do korespondencji:

Ewelina Mazurek  
email: ewelina-  
paulina-m@wp.pl

### Słowa kluczowe:

jajnik, rak, genetyka

## Summary

Ovarian cancer has been a subject of particular interest to clinicians and scientists around the world. Research carried out in recent years in the group of patients with ovarian cancer, indicate a specific substrate constitutional promoting the development of cancer. Based on studies of genetics showed that disturbances in *BRCA1*, *BRCA2*, predispose to the development of ovarian cancer. The aim of the study was to evaluate the *BRCA1* gene mutation in women suffering from ovarian cancer. The study used the case study method.

On the basis of the assessment of genetic testing, it was found that the presence of *BRCA1* mutations was a risk factor for ovarian cancer patients studied. Education of women in the field of diagnostic possibilities and methods of prevention is necessary to prevent ovarian cancer or increase the chances of survival in case of its development.

## Key words:

ovarian, cancer, genetics

## Wstęp

Rak jajnika od lat jest przedmiotem szczególnego zainteresowania klinicystów i naukowców na całym świecie, ponieważ jest jedną z najczęstszych przyczyn zgonów kobiet, wykazującą tendencję wzrostową, zwłaszcza w krajach wysoko uprzemysłowionych. Jest to schorzenie polegające na obecności komórek nowotworowych w jednym lub dwu jajnikach. Niekontrolowane i nieprawidłowe rozmnażanie się tych komórek prowadzi do powstania guza nowotworowego, którego dalszy rozwój może zagrażać innym tkankom i prowadzić do przerzutów [1,2].

W Polsce rak jajnika zajmuje drugie miejsce pod względem częstości występowania wśród nowotworów narządu rodowego. Statystycznie częściej występuje tylko rak szyjki macicy. Rak jajnika jest piątym co do częstości nowotworem złośliwym u kobiet. Rak jajnika może ujawniać się w każdym wieku, występuje nawet u małych dziewczynek, ale najczęściej wzrost zachorowalności rośnie gwałtownie w piątej dekadzie życia i sukcesywnie wzrasta do ósmej dekady życia [3,4].

Z badań wynika, że objawy choroby nowotworowej jajnika występują aż u 95% badanych na rok przed rozpoznaniem choroby. U 72% objawy te mają charakter nawracający. Mylone są najczęściej z dolegliwościami układu pokarmowego lub moczowego. Brak charakterystycznych objawów raka jajnika we wczesnym stadium choroby powoduje, że tylko

u 20% pacjentek schorzenie jest diagnozowane w początkowym etapie jego rozwoju klinicznego [5,6]. Czynnikiem ryzyka rozwoju raka jajnika jest między innymi mała liczba ciąż i przebytych porodów oraz nierództwo. Czynnikiem ochronnym dla kobiet jest ciąża oraz antykoncepcja hormonalna. Obydwa te czynniki mają wpływ na częstość owulacji w życiu kobiety. W odniesieniu do raka jajnika prawdopodobieństwo jego rozwoju jest wprost proporcjonalne do liczby owulacji – im jest ich mniej, tym mniejsze ryzyko wystąpienia choroby. Istnieje korelacja pomiędzy rozwojem choroby nowotworowej jajnika a narażeniem na napromieniowanie miednicy mniejszej w wyniku wcześniej przebytych chorób nowotworowych. Istotne znaczenie ma dziedziczne występowanie raka jajnika [6]. W przypadku gdy kobieta jest nosicielką zmutowanego genu *BRCA1* i *BRCA2* ryzyko pojawienia się guza staje się znaczne [7].

W ostatnich latach obserwuje się stały rozwój nauk medycznych. Intensywne badania w dziedzinie genetyki pozwoliły na identyfikację w ludzkim genomie, których mutacje korelują z wysokim prawdopodobieństwem rozwoju nowotworu na podłożu genetycznym. Aby wykryć mutacje w genomie, wykonuje się analizę kodu genetycznego, m.in. na drodze izolacji DNA, z komórek krwi (leukocyty) bądź z bioptatów tkanek [8].

Badania przeprowadzone w ostatnich latach w grupie pacjentek z rakiem jajnika wskazują na

charakterystyczne podłoże konstytucyjne sprzyjające rozwojowi tego nowotworu. Na podstawie badań z zakresu genetyki wykazano, że zaburzenia w genach *BRCA1*, *BRCA2*, *NOD2*, *CHEK2*, *DHCR7* predysponują do rozwoju raka jajnika. W niektórych przypadkach zmiany genetyczne mają związek z bardzo wysokim ryzykiem nowotworowym, w innych predysponują do rozwoju raka w mniejszym stopniu [6,10].

Rozpoznanie zespołu dziedzicznie uwarunkowanej predyspozycji do zachorowania na nowotwór opiera się na diagnozie klinicznej i badaniach molekularnych [10]. Wśród wszystkich nabłonkowych raków jajnika około 11-15% stanowią przypadki o podłożu dziedzicznym, związane z autosomalną dominującą predyspozycją, określane mianem rodzinnego nabłonkowego raka jajnika. W tej grupie nawet 90% stanowią przypadki związane z mutacją genów *BRCA1* i *BRCA2* [11].

W Narodowym Programie Zwalczenia Chorób Nowotworowych zostały zapisane wytyczne dotyczące badań genetycznych (*BRCA1*) oraz profilaktyki w rodzinach wysokiego ryzyka. Do badań kwalifikują się kobiety:

- z rodzin, w których wystąpiły 3 lub więcej zachorowania na raka piersi/jajnika wśród krewnych I i II stopnia;
- krewnie I stopnia, u których rozpoznano zarówno zachorowanie na raka piersi jak i raka jajnika;
- z rodzin, w których niezależnie od wywiadu rodzinnego, wykryto patogenną mutację genów *BRCA1* lub *BRCA2*;
- z rodzin, w których wystąpiły 2 zachorowania na te nowotwory wśród krewnych I i II stopnia (lub 2 zachorowania wśród krewnych II i III stopnia ze strony ojca), w tym zwłaszcza, gdy przynajmniej u 1 chorej rozpoznano raka jajnika, a jedno zachorowanie wystąpiło przed 50. r.ż.;
- u bliskich krewnych chorych, u których rozpoznano obustronny raka piersi;
- wśród kobiet, których matki lub siostry zachorowały na raka piersi przed 40. r.ż. [11].

Zdiagnozowanie w oparciu o badania genetyczne podwyższonego ryzyka raka umożliwia wdrożenie programu profilaktycznego mającego na celu

zapobieżenie nowotworowi. Natomiast w przypadku, w którym nie jest to możliwe, pozwala na wykrycie raka we wczesnym stadium. Ostateczne rozpoznanie ustalane jest jednak wyłącznie w badaniu histopatologicznym materiału uzyskanego w czasie zabiegu operacyjnego. Wskazaniem do wykonania laparoskopii bądź laparotomii są: guz stwierdzony po menopauzie, guz szybko wzrastający – ponad 5 cm, wielkość guza powyżej 6 cm, lita konsystencja guza [10,11].

## Cel pracy

Ocena mutacji genu *BRCA1* u kobiety chorej na raka jajnika.

## Opis badania

Badanie zostało przeprowadzone w ramach projektu „MEDFUTURE – Medyczne zawody przyszłości” Działanie 4.3 Program Operacyjny Kapitał Ludzki Uniwersytet Medyczny w Lublinie. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Lublinie – Uchwała numer KE-0254/75/2015.

## Opis przypadku

Kobieta, lat 54 z rozpoznaniem guzem jajnika (łac. *carcinoma ovarii*). W wywiadzie ginekologicznym uzyskano następujące informacje:

- pierwsza miesiączka w 15. roku życia, cykle nieregularne co 25-30 dni, krwawienia trwające do 7 dni, okres pomenopauzalny – ostatnia miesiączka 12.01.2010 rok;
- obecnie nie stosuje żadnych metod antykoncepcyjnych, w wieku rozrodczym stosowała metody naturalne;
- zgłasza ból w dole brzucha, rozlany, o charakterze ciągłym;
- w 2014 roku – obustronne usunięcie jajników wraz z siecią większą na drodze laparotomii; wynik badania śródoperacyjnego

– łac. *infiltratio carcinomatosa diffusa et disseminata et dispersa omenti* – naciek nowotworowy rozprzestrzeniający się, rozlany, naciekający sieć większą (zdwojona blaszka otrzewnej).

Na podstawie wywiadu położniczego zebrano informacje odnośnie do:

- liczby ciąży: 3 ciąży;
- liczby porodów: 3 porody drogami natury;
- płci dzieci oraz daty ostatniego porodu: 1 – syn żywy donoszony wagi 3350 g, 2 – syn żywy donoszony wagi 4550 gram, 3 – córka żywa donoszona wagi 4200 gram (1989 rok).

Kobieta zgłosiła się do lekarza pierwszego kontaktu z objawami ze strony układu moczowego (częstsze parcie na mocz) w sierpniu 2014. Wcześniej była leczona gastrologicznie z powodu obecności bakterii *Helicobacter pylori* powodującej nadżerki w górnym odcinku przewodu pokarmowego. Pacjentce towarzyszyły objawy gastrologiczne: wzdęcia, zaburzenia w oddawaniu stolca, nudności, uczucie pełności w obrębie jamy brzusznej, zwiększenie obwodu brzucha. Podczas konsultacji ginekologicznej, w czasie USG transwaginalnego postawiono wstępne rozpoznanie obecności guza w obrębie przydatków. U pacjentki wykonano badanie MRI oraz test ROMA: wynik CA-125: 2223, 4 U/ml (górną granicę normy 35 U/ml).

Kobietę w trybie pilnym skierowano do zabiegu całkowitej histerektomii z obustronnym usunięciem przydatków na drodze laparotomii. Kobieta była hospitalizowana i leczona w II Katedrze i Klinice Ginekologii SPSK 4 w Lublinie. Rozsiane guzy wewnątrzotrzewnowo na: kopolę przepony, macicę, przydatki, otrzewną, pęcherz moczowy oraz sieć większą umożliwiły zespołowi operatorów zresekować przydatki wraz z siecią większą. Pacjentka była hospitalizowana 12 dni, z kilkudniowym drenażem ze względu na dużą ilość płynu w jamie otrzewnej około 7 litrów. Po przebytej operacji chora została skierowana do Centrum Onkologii Ziemi Lubelskiej w Lublinie na leczenie chemioterapeutyczne preparatami: Sinda-  
xel i Carbaplatin. Po leczeniu chemioterapeutycznym chora powinna się zgłosić do dalszego leczenia chirurgicznego. Na podstawie wywiadu rodzinnego ustalono, że w rodzinie pacjentki u krewnych

I stopnia występował nowotwór złośliwy – matka pacjentki zmarła na raka piersi.

Pacjentka w trakcie leczenia chemioterapeutycznego została przebadana w Katedrze Genetyki Uniwersytetu Medycznego na obecność mutacji w genie *BRCA1*.

## Opis badania genetycznego

Z krwi obwodowej pacjentki pobrano materiał do badań diagnostycznych w postaci osocza wraz z elementami morfotycznymi. Na drodze frakcjonowania z komórek krwi zostały oddzielone leukocyty w celu wyizolowania DNA. Otrzymany materiał genetyczny został przebadany na obecność mutacji: 5382insC, C61G, 4153delA w genie *BRCA1* stanowiących najczęstszy typ w populacji polskiej.

Oznaczenie mutacji w genie *BRCA1*:

- Krew obwodową pobrano na EDTA i zamrożono.
- DNA izolowano z 200 ul rozmrożonej krwi za pomocą zestawu kolumnkowego Blood DNA Purification Kit (EURx) według zaleceń producenta.
- Mutacje C61G, 5382insC, 4153delA oznaczono za pomocą zestawu *BRCA1* multiplex (PUM Szczecin).
- Zestaw ten bazuje na allelo-specyficznej amplifikacji (ASA-PCR) i analizie fragmentów restrykcyjnych (PCR-RFLP).
- Kontrole pozytywne każdej mutacji zostały dołączone do zestawu przez producenta i były amplifikowane wraz z próbami badanymi.

Etapy diagnostyki mutacji *BRCA1*:

- Przeprowadzenie testu ASA-PCR: do 24 ul miksu reakcyjnego dodano 0,4 polimerazy i 100 ng DNA. Tak przygotowane próby amplifikowano.
- 10 ul produktu reakcji PCR rozdzielono w obecności kontroli dodatnich na 2% żelu agarozowym wybarwionym barwnikiem Simply Safe (EURx).
- PCR-RFLP: do 14,4 ul produktu PCR dodano 8 ul miksu reakcyjnego zawierającego enzym restrykcyjny. Próby inkubowano w 37°C przez 16 godzin. Po trawieniu próby rozdzielono w obecności

kontroli dodatnich na 2% żelu agarozowym wybarwionym barwnikiem Simply Safe.

Na podstawie badania genetycznego stwierdzono obecność mutacji w genie *BRCA1*, która była czynnikiem ryzyka wystąpienia nowotworu jajnika u badanej pacjentki.

## Podsumowanie

Diagnostyka genetyczna wrodzonych mutacji u kobiet określonych w grupie ryzyka pozwala na prowadzenie prewencji oraz wczesne wykrywanie procesu chorobowego. Daje szansę na określenie chemowrażliwości nowotworów dziedzicznych i na opracowanie skutecznych metod leczenia. Zdiagnozowanie nosicielstwa zmutowanych genów pozwala na skutecznie przeciwdziałanie rozwojowi choroby [11]. Dlatego edukacja kobiet w zakresie możliwości diagnostycznych i metod prewencji jest niezbędną dla uniknięcia raka jajnika lub zwiększenia szans na przeżycie w przypadku jego rozwoju.

## Piśmiennictwo

- Lewicka M., Sulima M.: Zadania pielęgniarki rodzinnej w opiece nad pacjentką z rakiem jajnika w terminalnej fazie choroby. (W:) Kachaniuk H. (red.): Pielęgniarska opieka nad osobami starszymi. Warszawa 2008, Raabe 2012: 16-31.
- Tkaczuk-Włach J., Sobstyl M., Jakiel G.: Biochemiczne markery w skriningu raka jajnika. *Prz Menopauz* 2013, 5: 442-445.
- Wojciechowska U., Didkowska J., Zatoński W.: Nowotwory złośliwe w Polsce w 2010 roku. Warszawa 2012.
- Wojciechowska U.: Zachorowalność i umieralność na nowotwory złośliwe w świetle sytuacji demograficznej Polski. (W:) Raport 2012-2013. Sytuacja demograficzna Polski. Zakład Wydawnictw Statystycznych 2013, Warszawa 2013: 261-280.
- Goff B., Mandel L., Melancon C., Muntz H.: Frequency of symptoms of ovarian cancer in women presenting to primary care clinics. *JAMA*, 2004; 22: 2705-2712
- Słabuszewska-Jóźwiak A., Dmoch Gajzlerska E.: Rola położnej w diagnostyce guzów jajnika. *Położn Nauk Prakt* 2008; 4: 50-53.
- Synowiec A., Wcisło G., Bodnar L., Gąsowska-Bodnar A., Szczylik C.: Badania przesiewowe w kierunku raka jajnika u nosicielek mutacji genów *BRCA1/BRCA2*. *Ginekol Pol* 2014; 5: 377-381.
- Dębniak T., Lubiński J.: Zasady dziedziczenia predyspozycji do nowotworów. *Post Nauk Med* 2008; 7: 427-430.
- Nowakowska D.: Nowotwory uwarunkowane dziedzicznie. *Poradnictwo genetyczne. Zasady opieki nad rodzinami wysokiego ryzyka*. (W:) Meder J. (red.): Podstawy onkologii klinicznej. Wyd. Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa 2011: 245-251.
- Pieńkowska-Grela B.: Cytogenetyka w diagnostyce nowotworów. (W:) Meder J. (red.): Podstawy onkologii klinicznej. Wyd. Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa 2011: 47-55.
- Blecharz P., Karolewski K., Urbański K.: Rodzinny rak jajnika. Rola dysfunkcji genu *BRCA1* w odpowiedzi na leczenie chirurgiczne. *Ginekol Pol* 2011; 3: 214-220.