

Klinický význam analýz genů středního rizika pro hodnocení rizika vzniku karcinomu prsu a dalších nádorů v České republice

The Clinical Importance of a Genetic Analysis of Moderate-Risk Cancer Susceptibility Genes in Breast and Other Cancer Patients from the Czech Republic

Pohlreich P.¹, Kleibl Z.¹, Kleiblová P.¹, Janatová M.¹, Soukupová J.¹, Macháček E.², Házová J.², Vašíčková P.², Šťáhlavá Hrabincová E.², Navrátilová M.^{2,3}, Svoboda M.^{2,3}, Foretová L.²

¹ Ústav biochemie a experimentální onkologie, 1. LF UK a VFN v Praze

² Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů, Masarykův onkologický ústav, Brno

³ Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn

Východiska: Analýza hlavních predispozičních genů *BRCA1* a *BRCA2* podmiňujících vznik dědičných forem karcinomu prsu umožňuje identifikaci vysoce rizikových osob. Kromě zpřesnění odhadu rizika onemocnění lze nosiče patogenních mutací zařadit do programů pro časnou diagnostiku a prevenci onemocnění a v případě jeho rozvoje i specifickou léčbu. Nosiči mutací v hlavních predispozičních genech však tvoří přibližně jen 25 % populace vysoce rizikových pacientů. V nedávné době byla identifikována řada dalších genů, jejichž alterace zvyšují riziko karcinomu prsu a některých dalších nádorů. Tyto geny se však vyznačují nižším rizikem vzniku onemocnění a výraznou populační variabilitou ve světě. **Cíl:** Provedli jsme shrnutí studií analyzujících dědičné mutace v genech středního rizika v populaci pacientů s karcinomem prsu a případně dalšími nádorovými onemocněními v ČR s cílem vyhodnotit současné možnosti uplatnění analýz těchto genů v klinické praxi. **Výsledky:** V populaci onkologických pacientů v ČR byly provedeny analýzy genů *ATM*, *CHEK2*, *NBS1 (NBN)* a *PALB2*. Vyšetřované populace pacientů zahrnovaly především soubory vysoce rizikových pacientek s karcinomem prsu bez nálezu alterací v hlavních predispozičních genech *BRCA1/2*. **Závěry:** Na základě výsledků provedených studií lze u *BRCA1/2*-negativních pacientek z rizikových rodin s karcinomem prsu pro klinické testování v ČR doporučit analýzu patogenních variant genu *CHEK2* (především mutace c.1100delC a rozsáhlé delece postihující exony 9–10). Missense varianty genu *CHEK2* nelze zatím jednoznačně klinicky hodnotit. Analýzy mutací genů *ATM* a *NBS1 (NBN)* nejsou s ohledem na malou frekvenci jejich výskytu vhodné pro klinické hodnocení. Nadějná je analýza patogenních variant genu *PALB2* u *BRCA1/2*-negativních pacientek z rodin s mnohočetným výskytem karcinomu prsu, jejíž význam v této skupině může být v naší populaci srovnatelný s významem mutací v genu *BRCA2*.

Klíčová slova

dědičné nádory – genetické testování – *ATM* – *CHEK2* – *NBS1 (NBN)* – *PALB2*

Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR NT/13343 a Evropským fondem pro regionální rozvoj a státním rozpočtem České republiky (OP VaVpl - RECAMO, CZ.1.05/2.1.00/03.0101).

This study was supported by IGA MZ ČR NT/13343 grant and by the European Regional Development Fund and by the National budget of the Czech republic (OP VaVpl - RECAMO, CZ.1.05/2.1.00/03.0101).

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE "uniform requirements" for biomedical papers.



doc. MUDr. Petr Pohlreich, Ph.D.

Ústav biochemie a experimentální onkologie

1. LF UK a VFN v Praze

U Nemocnice 5

128 53 Praha 2

e-mail: ppohl@lf1.cuni.cz

doc. MUDr. Lenka Foretová, Ph.D.

Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů

Masarykův onkologický ústav

Žlutý kopec 7

656 53 Brno

e-mail: foretova@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 15. 5. 2012

Přijato/Accepted: 26. 5. 2012

Summary

Background: Analysis of the major breast cancer (BC) predisposition genes *BRCA1* and *BRCA2* enables identification of high-risk individuals. Specialized programs enrolling the carriers of *BRCA1/2* mutations facilitate an improvement in prevention and early diagnostics in asymptomatic individuals and rationalize the selection of individualized treatment in case of a BC onset. However, the carriers of mutations in the major predisposition genes represent only approximately 25% of cases among high-risk BC patients. Numerous candidate predisposing genes for breast and other cancers have recently been identified. The risk of cancer development associated with alterations in these genes is lower, and there is a considerable population variability in different regions worldwide. **Aim:** We have performed mutation analyses of moderate-risk cancer susceptibility genes to evaluate their clinical importance for genetic counseling in high-risk patients suffering from breast and other cancers in the Czech population. **Results:** Czech oncological patients were analysed for mutation in *ATM*, *CHEK2*, *NBS1 (NBN)* and *PALB2* genes. The majority of analyzed individuals represent the population of high-risk *BRCA1/2*-negative BC patients. **Conclusions:** Based on results of this study, we recommend an analysis of recurrent truncating mutations in the *CHEK2* gene (the c.1100delC mutation and a large deletion affecting exons 9–10) in *BRCA1/2*-negative patients from high-risk BC families. A clinical assessment of missense variants in *CHEK2* is not suitable. A routine mutation analysis of the *ATM* and *NBS1 (NBN)* genes is not recommended in BC patients due to the low frequency of alterations in these genes in the Czech Republic. An identification of truncating mutations in the *PALB2* gene is important in *BRCA1/2*-negative BC patients from families with a strong history of BC (HBC families). The frequency of *PALB2* mutations may be comparable to the frequency of mutations in the *BRCA2* gene in Czech HBC families.

Key words

hereditary cancer – genetic testing – *ATM* – *CHEK2* – *NBS1 (NBN)* – *PALB2*

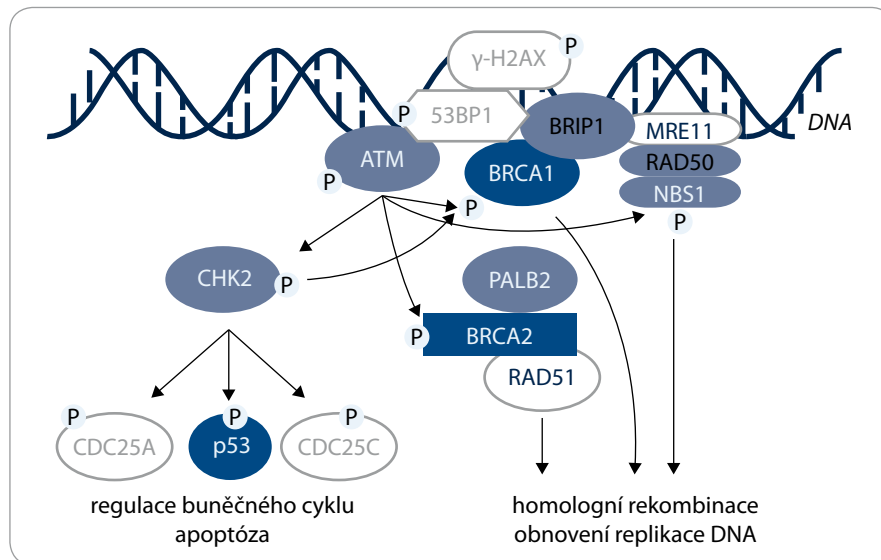
Úvod

Karcinom prsu se vyskytuje ve dvou patogeneticky rozdílných formách. U většiny žen se karcinom prsu vyvíjí ve formě sporadického onemocnění, které vzniká v důsledku akumulace somatických mutací v buňkách prsní žlázy. Nádorová transformace mamárních epitelů se dotýká deregulace kritických signálně-transdukčních cest (buněčného dělení, apoptózy a reparace genomové DNA) způsobených aktivací protoonkogenů a inaktivací tumor supresorových genů na základě genetických inzultů doprovázených epigenetickými změnami. Výsledkem těchto selhání je vznik maligně transformované buňky *in situ*, která může na základě genomové nestability způsobené poruchami DNA reparačních pochodů vytvářet řadu geneticky nestabilních dceřiných buněk tolerujících genomové defekty postihující další regulační mechanismy.

U dědičných forem karcinomu prsu tvořících 5–10 % mamárních tumorů dochází k obdobnému vývoji jako v případě nádorů sporadických. Proces nádorové transformace je však výrazně pravděpodobnější kvůli existenci patogenní mutace v některém z predispozičních genů kódujících proteinů zúčastněných v (pravděpodobně tkáňově specifickém) procesu nádorové supresivity. Pro nosičky mutací v genech predisponujících ke vzniku hereditární formy karcinomu prsu je tak

typické, že riziko vzniku karcinomu prsu je oproti populačnímu riziku významně zvýšeno, k onemocnění dochází v nižším věku, postižení je často bilaterální, a kromě samotného karcinomu prsu jsou nosiči onemocnění ohroženi i zvýšeným

rizikem vzniku nádorů v dalších lokalizacích. Do současné doby bylo charakterizováno několik predispozičních genů, jejichž patogenní alterace významně zvyšují riziko vzniku karcinomu prsu (*BRCA1* a *BRCA2*, *TP53*, *PTEN*, *LKB1/STK11*) [1].



Obr. 1. Schematické znázornění hlavních proteinů podílejících se na reparaci dvouřetězcových zlomů v DNA pomocí homologní rekombinace.

Řada genů kódujících proteiny reparace dvouřetězcových zlomů DNA vykazuje přímý vliv na patogenezi hereditárních i sporadických forem karcinomu prsu, počínaje senzoryckými proteiny (*ATM*) a proteiny MRN komplexu (*MRE11*, *RAD50*, *NBS1 (NBN)*), přenašeči signálu (*CHK2*) i výkonnými molekulami regulujícími vlastní reparační pochody (*BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *RAD51*), kontrolní body buněčného cyklu (*CDC25A* a *C*) nebo aktivaci apoptózy (*p53*). Proteiny kódované hlavními predispozičními geny jsou znázorněny tmavomodře (■), proteiny kódované geny se středním rizikem světlemodře (▒). Geny analyzované jako hereditární nádorové predispoziční faktory v populaci pacientů v ČR jsou vyznačeny bílým písmem.

Další geny ovlivňující riziko vzniku karcinomu prsu se vyskytují v podstatně menší míře (geny s nízkou a střední penetrancí), avšak tvoří rozrůstající se pestrá skupinu genů (*ATM*, *CHEK2*, *NBS1* (*NBN*), *PALB2*, *TGFβ1*, *CASP-8* a další).

Až nápadným, ve výčtu genů podílejících se na vzniku hereditárních forem karcinomu prsu, je jejich blízký vztah k pochodům přímo zprostředkujícím nebo regulujícím kontrolní body (check-points) buněčného cyklu a reparaci genomové DNA (obr. 1) [2].

Jak již bylo řečeno, predispoziční geny modifikují riziko vzniku karcinomu prsu (a dalších nádorů) nestejnoměrně. Zatímco u některých vysoce penetrantních genů (*BRCA1/2*) je nosičství patogenních alterací spojené s rizikem vysokým, u jiných je zvýšení rizika pouze střední či malé (tab. 1) a lze předpokládat, že některé z variant riziko vzniku nádorů snižují – jejich význam je tak protektivní.

Po objevu *BRCA1* a *BRCA2* v polovině 90. let bylo věnováno enormní úsilí charakterizaci dalších predispozičních genů (*BRCA3/BRCA4*). Přes jeho neúspěch byla na základě asociačních studií a vazebných analýz vytvářena řada genů ovlivňujících riziko vzniku karcinomu prsu, avšak na rozdíl od hlavních predispozičních genů je pravděpodobnost vývoje nádoru u nosičů mutací jen mírně či středně zvýšena ve srovnání s rizikem v obecné populaci. Tyto geny byly nazvány jako geny se střední až nízkou penetrancí. Zatímco alterace vysoce penetrantních genů se v populaci vyskytují s malou četností (~0,1–0,01 %), alterace v genech s nízkou penetrancí (resp. nízkopenetrantní alely) jsou relativně časté (1–30 %) [3]. Přestože se geny se střední a nízkou penetrancí vyznačují klinicky méně závažným ovlivněním rizika onemocnění, vysoká alelická frekvence umožňuje kooperativní účinek nízkopenetrantních alel, které tak mohou být příčinou zvýšeného rodinného výskytu nádorového onemocnění u osob bez alterací v hlavních predispozičních genech. Za arbitrárně stanovenou hranici odlišující geny s nízkou penetrancí od vysoce penetrantních genů se považuje relativní riziko (RR) ~2. S ohledem na skutečnost, že penetrance je spojitou veličinou a skupina kandidátních genů se významně

Tab 1. Relativní riziko (RR) vzniku karcinomu prsu u nosičů mutací v jedné z alel uvedených genů (podle [46]).

Penetrance	Gen	MAF	RR/alelu	Fam. riziko (%)
vysoká	<i>BRCA1</i>	1/1 500	20	10
	<i>BRCA2</i>	1/1 500	12	10
	<i>PTEN</i>	1/25 000	10	1,0
	<i>TP53</i>	1/5 000	50	1,0
střední	<i>ATM</i>	0,3%	2,3	0,7
	<i>PALB2</i>	0,1%	2,3	0,2
	<i>CHEK2</i>	0,5%	2,2	1,0
	<i>BRIP1</i>	0,1%	2,1	0,1
malá	<i>FGFR2</i>	38%	1,26	2,0
	<i>TNRC9</i>	25%	1,2	1,0
	<i>MAP3K1</i>	28%	1,13	0,5
	<i>LSP1</i>	30%	1,07	0,2
	<i>CASP8</i>	13%	0,89	0,2

MAF – Minor Allele Frequency (frekvence recesivní alely)

zvýšuje, setkáváme se v poslední době ještě s termínem „geny se střední penetrancí“ (geny středního rizika), u kterých se RR vyskytuje v intervalu 2–5.

V předkládané práci uvádíme přehled vybraných genů se střední penetrancí (*ATM*, *CHEK2*, *NBS1* (*NBN*) a *PALB2*) zvyšujících riziko vzniku karcinomu prsu, u kterých byly provedeny alespoň pilotní studie v populaci pacientů v ČR. Změřujeme se na zhodnocení jejich klinického významu v onkogenetice.

1. *ATM* (Ataxia Telangiectasia Mutated)

Hereditární mutace obou alel genu *ATM* (OMIM 607585) zapříčiňují vznik vzácného autozomálně recesivního onemocnění ataxia telangiectasia (AT) charakterizovaného mozečkovou ataxií, okulokutánními telangiektáziemi, defekty imunitního systému, zvýšenou citlivostí na účinky ionizujícího záření a výrazným sklonem ke vzniku nádorů, především lymfomů a leukemií [4]. Vznik karcinomu prsu u pacientů s AT je poměrně raritní, na čemž se podílí především významné zkrácení života nosičů bílelických mutací. Vztah mutací *ATM* ke karcinomu prsu tak vychází z epidemiologických analýz prokazujících mírné, avšak signifikantně zvýšené celoživotní riziko karcinomu prsu u heterozygotů s mutací genu *ATM*.

Protein *ATM* je iniciální kinázou regulující buněčnou odpověď na přítomnost dvouřetězcových zlomů genomové DNA. Tyto alterace znamenají závažné poruchy integrity genomu s výraznými patologickými důsledky pro postižené buňky. Jejich příčinou jsou exogenní vlivy (ionizující záření, radiomimetika) i endogenní procesy (poruchy replikace, radikálové ataky, meiotické rekombinace). V závislosti na proliferacním stavu buňky jsou dvouřetězcové zlomy reparovány v G0, G1–S fázi buněčného cyklu pomocí nehomologního spojení konců DNA (NHEJ) nebo přesnějším způsobem reparace docíleným homologní rekombinací v postreplikačních fázích buněčného cyklu. *ATM* kináza primárně iniciuje reparaci procesem homologní rekombinace, čímž se významně podílí na tvorbě bariéry zabraňující vzniku maligně transformovaných buněk *in vivo* [5]. Aktivovaná kináza *ATM* následně fosforyluje řadu substrátů, které se účastní reparace DNA, ale i regulace buněčného cyklu a apoptózy [6]. Gen *ATM*, zahrnující oblast 150 kb (11q22–23), kóduje v 66 exonech protein o velikosti 350 kDa (62 kódujících exonů).

Mutační analýza *ATM* u pacientek s karcinomem prsu v ČR

Soukupová et al [7] analyzovali gen *ATM* u 161 osob s karcinomem prsu z vysoce

Tab. 2. Výsledky mutační analýzy genu *ATM* u 161 vysoce rizikových patientek s karcinomem prsu z ČR.

Mutace (lokalizace)	Změna proteinu	Diagnóza (věk)	Nádory v rodině (věk)
c.1066-6T>G (IVS 10)	Δe11, 372X	C50 (32)	C50 (60), C50 (?)
c.5177+1G>A (IVS 36)	Δe36, 1680X	C50 (42,44)	C50 (64), C50 (?), C25 (75)
c.5932G>T (e 42)	E1978X	C50 (53, 60), C56 (61)	C56 (57), C9X (?), C64 (?), C34 (59)
c.6096-9del5 (IVS 43)	Δe44, 2044X	C50 (37)	C25 (73)

rizikových rodin, u kterých nebyla zaznamenána přítomnost patogenních alterací v genech *BRCA1/2* a 183 vzorků kontrolní nenádorové populace. Analýza prokázala přítomnost alterací vedoucích ke zkrácení proteinového produktu u 4 (2,5 %) ze 161 vyšetřených pacientů (tab. 2). S výjimkou alterace postihující sestřih exonu 11 (c.1066-6 T>G), která byla detekována u dvou ze 183 souběžně vyšetřených vzorků kontrolní skupiny a jejíž patogenita je sporná, nebyly u kontrol zachyceny žádné další patogenní varianty genu *ATM*.

Klinický význam analýzy *ATM* v ČR

Z výsledků jediné doposud provedené studie vyplývá, že četnost hereditárních alterací v genu *ATM* v naší populaci je pravděpodobně nízká (< 2 % u osob s karcinomem prsu z vysoce rizikových rodin). Míra zvýšení rizika vzniku karcinomu prsu u vysoce rizikových osob je $RR = 2,37$ (95% CI = 1,51–3,78) [8]. Provádění mutační analýzy genu *ATM* (i s ohledem na velikost genu) se, kromě podezření na onemocnění ataxií telangiektázií, u rizikových patientek s karcinomem prsu zatím nedoporučuje. Diskutabilní otázkou zůstává vztah alterací genu *ATM* k radiosenzitivitě.

2. *CHEK2* (Checkpoint kinase 2)

Gen *CHEK2* (OMIM 604373) je lokalizován na chromozomu 22q12.1. Výsledný protein, označovaný jako CHK2, má velikost přibližně 60 kD a tvoří jej 546 aminokyselinových zbytků [9]. CHK2 je jaderný fosfoprotein, který se účastní přenosu a amplifikace signálů od senzorických proteinů rozpoznávajících přítomnost dvouřetězcových zlomů v DNA na efektorové proteiny fosforylované CHK2 kinázou, které následně regulují intracelulární pochody v odpovědi na poškození genomu (obr. 1).

Mutace v genu *CHEK2* byly na přelomu tisíciletí popsány v souvislosti se vznikem Li-Fraumeni syndromu u nemocných bez přítomnosti mutace v genu *TP53* [10]. Třebaže tato asociace byla v dalších studiích značně zpochybněna, provedené analýzy naznačily, že alterace *CHEK2* genu se podílejí na zvýšení rizika vzniku řady nádorových onemocnění čítajících nejen karcinomy prsu, ale i karcinomy kolorekta, prostaty, ovaria, štítné žlázy a ledviny [11–15]. Mutace c.1100delC, vedoucí k posunu čtecího rámce a translaci zkráceného proteinového produktu s nefunkční kinázovou aktivitou, je nejvíce studovanou alterací *CHEK2* genu. V současné době známe výsledky řady rozsáhlých studií provedených především na populacích pacientů s hereditárními a sporadickými karcinomy prsu, které ukazují, že frekvence této alterace oplývá výraznou geografickou odlišností, s vysokou četností v severní a západní Evropě a Rusku, nižším výskytem ve střední a východní Evropě, USA a Austrálii a zanedbatelným výskytem v jižní Evropě, Jižní Americe a Asii [16].

Mezi další často sledované alterace *CHEK2* patří mutace c.470C>A (I157T) postihující funkci FHA domény (vysoce konzervativní oblasti genu *CHEK2*), alterace donorového místa sestřihu c.444+1G>A (známé jako IVS2+1G>A) způsobující aberantní sestřih vedoucí k posunu čtecího rámce a vzniku zkráceného translačního produktu a rozsáhlá delece c.909-2028_1095+330del5395 (p.Met304Leufs15X) postihující dva exony v centrální části genu, která se endemicky objevuje v regionu zahrnujícím ČR [17]. Kromě těchto patogenních alterací genu *CHEK2* však bylo do současné doby popsáno více než 80 dalších genetických změn, mezi kterými jasně dominují missense alterace,

jejichž význam je ve většině případů nejasný.

Analýza genu *CHEK2* v ČR

Analýza posunových mutací

Výskyt patogenní mutace c.1100delC vedoucí k syntéze zkráceného proteinového produktu (p. T367MfsX15) byl analyzován u 358 nemocných s karcinomem prsu z vysoce rizikových rodin a 688 neselektovaných patientek se sporadickým karcinomem prsu [18]. Výsledky analýzy ukázaly, že četnost této alterace ve vyšetřované populaci byla nízká (1/358 (0,28 %) a 3/688 (0,44 %)). Vyšetření kontrolního souboru odhalilo dva nosiče této alterace v 730 vyšetřených vzorcích (0,27 %). Od uvedení do praxe v roce 2006 je screening mutace c.1100delC zahrnut do vyšetření rozsáhlých delecí *BRCA2* pomocí standardně prováděné MLPA. Na základě souhrnných výsledků analýz provedených na pracovištích Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů MOÚ Brno a Ústavu biochemie a experimentální onkologie (ÚBEO) 1. LF UK v Praze se ukazuje, že četnost mutace c.1100delC je v ČR vyšší než prvotní zjištění. Mutace byla identifikována u 17 z 1 866 vysoce rizikových *BRCA1/2*-negativních pacientů (0,91 %). U 18 pacientů z tohoto souboru (0,96 %) byla nalezena rozsáhlá delece 5395bp. V současné době dokončujeme analýzu *CHEK2* v souboru vysoce rizikových *BRCA1/2*-negativních pacientů, která kromě shora uvedených alterací odhalila i přítomnost čtyř dalších posunových mutací u 6 z 616 vyšetřovaných pacientů.

Význam posunových mutací v genu *CHEK2* byl rovněž studován jako rizikový faktor vzniku maligního onemocnění i u dalších onkologických pacientů v ČR. Četnost výskytu nosičů c.1100delC ve skupině nemocných s karcinomem ko-

lorekta (4/631, 0,63 %) se nelišila od výskytu v kontrolní populaci (2/730, 0,27 %, $p = 0,4$) [19]. Ve vzorcích 113 osob s adenomatózní familiární polypózou (FAP) a její atenuovanou formou (AFAP) nebyl nalezen žádný nosič mutace c.1100delC [20]. Rovněž jsme nenalezli žádného nosiče této mutace ve skupině 270 nemocných s karcinomem pankreatu [21].

Rozsáhlá delece genu *CHEK2* postihující exony 9 a 10 nebyla nalezena u nemocných s kolorektálním karcinomem či sporadickým karcinomem pankreatu, a je tedy pravděpodobně asociována pouze se zvýšeným rizikem vzniku karcinomu prsu.

Analyza dalších alterací genu *CHEK2*

V rámci výzkumných programů jsme se zabývali i studiem výskytu missense variant (mutací vedoucích k záměně jedné aminokyseliny za jinou) ve vybraných oblastech genu *CHEK2* u pacientek s karcinomem prsu a dalšími nádory dospělého věku v české populaci (tab. 3). Analýza byla zaměřena na oblast tzv. FHA domény, kde se vyskytuje missense varianty genu *CHEK2* c.470T>C (p.I157T). Tato varianta byla nejčastější změnou v kódující oblasti genu *CHEK2* ve vyšetřovaných souborech. Její výskyt byl ve srovnání s kontrolní populací však významně vyšší pouze u pacientů s karcinomem kolorekta (2,5 vs 4,8 %, $p = 0,03$), ale nelišil se u nemocných se sporadickým karcinomem prsu (2,5 vs 2,8 %, $p = 0,7$). Výskyt alterace I157T vedl ke zvýšení rizika vzniku sporadického karcinomu kolorekta (OR = 2,0), ale ne karcinomu prsu. Ve srovnání s výsledky studií v Polsku nebo Finsku je výskyt alterace I157T v ČR nižší [24–26].

V souborech pacientů se sporadickým karcinomem prsu i kolorekta jsme analyzovali vztah nalezených alterací ve FHA doméně k familiárnímu výskytu nádorových onemocnění, který však nebyl nalezen ani v populaci karcinomu prsu ani v případě karcinomu kolorekta, kde přítomnost mutace I157T prokazatelně zvyšovala riziko vzniku „sporadického“ onemocnění. Hraničního významu dosahovala korelace mezi současným výskytem karcinomu kolorekta a karcinomu plic u nosičů alterace v oblasti FHA domény ($p = 0,051$). Tento nesignifikantní

Tab 3. Četnost missense varianty I157T v genu *CHEK2* v populacích pacientů a kontrol z ČR.

Analyzovaná populace; počet	I157T	Citace
vysoce rizikový ca prsu (<i>BRCA1/2</i> -negat.; 1. LF UK); n = 616	22 (3,57 %)	nepublikovaná data
vysoce rizikový ca prsu (<i>BRCA1/2</i> -negat.; MOÚ); n = 1 250	11 (0,88 %)	[31]
sporadický ca prsu; n = 673	19 (2,82 %)	[22]
sporadický ca kolorekta; n = 631	30 (4,75 %)	[19]
sporadický ca pankreatu; n = 270	6 (2,22 %)	[21]
Hodgkinův lymfom; n = 298	12 (4,02 %)	[23]
karcinom plic; n = 277	6 (2,17 %)	[12]
nádory hlavy a krku; n = 55	1 (1,8 %)	[12]
karcinom ledviny; n = 471	17 (3,77 %)	[12]
kontroly 1; n = 683	17 (2,49 %)	[22]
kontroly 2; n = 636	16 (2,52 %)	[12]

výsledek je potenciálně zajímavým zjištěním, neboť byla na dvou nezávislých studiích prokázána negativní asociace výskytu mutace I157T a karcinomu plic (RR = 0,44, 95% CI 0,31–0,63) [12,27]. Zjištění, že I157T může vykazovat protektivní účinek na vznik karcinomu plic a rizikový účinek na vznik dalších nádorů, včetně karcinomu prsu a kolorekta, oživil zájem o místně specifický charakter alterací *CHEK2*, který naznačuje, že v některých tkáních (prs, kolorektum) vedou alterace *CHK2* k „vyřazení“ DNA reparačních mechanismů umožňujících destabilizaci genomu a vznik následných genetických inzultů zodpovědných za nádorovou transformaci, zatímco v jiných tkáních (plíce) iniciuje porucha této signalizace netolerovatelné selhání genomové integrity iniciující zánik takto poškozených buněk [28]. Této spekulaci nahrává i pozorovaný akcentovaný protektivní účinek (snížení RR přibližně o polovinu) mutace I157T na vznik karcinomu plic u kuřáků, kde se předpokládá, že haploinsuficientní stav *CHK2* vede k akcentované apoptóze buněk získávajících rozsáhlá genotoxická poškození v důsledku kouření. Odpověď na tuto zatím nevyjasněnou otázku je důležitým předpokladem pro racionální použití specifické terapie založené na ovlivnění signálních cest regulovaných *CHK2* kinázou ve smyslu použití jejích inhibitorů na straně jedné, nebo reaktivace její funkce na straně druhé.

Klinický význam analýzy *CHEK2* v ČR

Z doposud provedených studií a výsledků genetických analýz vyplývá, že četnost nosičů s vysokou pravděpodobností prokazatelně patogenních alterací (posunových mutací) v genu *CHEK2* v české populaci bude vyšší než 2 %.

V roce 2008 Weischer et al [29] publikovali rozsáhlou metaanalýzu (26 000 nemocných a 27 000 kontrol) mutace c.1100delC u pacientů s karcinomem prsu. Její výsledky odhalily větší význam mutace c.1100delC, než vyplývalo z předchozích dílčích výsledků jednotlivých studií (OR = 2,7; 95% CI 2,1–3,4 u pacientek se sporadickým karcinomem prsu, s kumulativním rizikem 37 % do 70 let; 95% CI 26–57 %). Ještě podstatně vyšší riziko bylo nalezeno pro pacientky s familiárním karcinomem prsu (OR = 4,8; 95% CI 3,3–7,2). Autoři doporučují zařazení nosičů mutace c.1100delC do intenzivních screeningových programů pro nosiče mutací v hlavních predispozičních genech zodpovědných za vznik hereditárních karcinomů prsu a/nebo ovaria. S tímto závěrem se ztotožňuje i shrnující práce Naroda [30], ve které je doporučen screening nosiček mutace c.1100delC pomocí MR a chemoprevence tamoxifenem. Je pravděpodobné, že ostatní posunové mutace v genu *CHEK2* se budou vyznačovat obdobným ovlivněním rizika, jako je tomu v případě c.1100delC.

Testování dvou prokazatelně patogenních a rekurentních mutací v genu *CHEK2* (c.1100delC a rozsáhlé delece postihující dva exony centrální oblasti) je možné v ČR doporučit v rodinách s familiálním nebo sporadickým výskytem nádoru prsu, kde je indikováno vyšetření i *BRCA1/2* genů pro možnou dědičnou příčinu. Pokud byla mutace zjištěna v rizikové rodině s nádory prsu, je vhodné provést prediktivní testování u příbuzných. U nosiček mutace c.1100delC přesahuje přepokládané celoživotní riziko nádorů prsu 25 %, pokud má žena příbuznou prvního stupně s nádorem prsu, nicméně může být vyšší v rodinách s mnohočetným výskytem nádorů prsu. Přesto se běžně nenabízí nosičkám *CHEK2* mutace profylaktická mastektomie.

V preventivní péči je nutné použití i roční magnetické rezonance prsů. Nádory prsu jsou u většiny pacientek ER a PR pozitivní, objevují se o něco později než u nosiček *BRCA1/2* mutací. V souboru byl průměrný věk onemocnění nádorem prsu u žen s velkou delecí dvou exonů *CHEK2* 48,1 let (32–71 let), u nosiček c.1100delC *CHEK2* 43,3 let (24–59 let) [31].

Genetické poradenství v rodinách s *CHEK2* mutací je na základě neúplné penetrance patogenních alterací problematické, jelikož riziko nádorů nemusí záviset pouze na samotné mutaci, ale i na významnosti rodinné anamnézy. Nelze zcela vyloučit, že mutace v *CHEK2* genu může být modifikačním faktorem, který moduluje riziko dalšího predispozičního genu.

U žen, které nejsou nosičkami familiární *CHEK2* mutace, je nutné opatrně posuzovat nutnost preventivní péče. Vzhledem k tomu, že je možná polygenní etiologie rizika nádoru prsu v rodině, je vhodné navrhnout preventivní péči dle empirického rizika rodinné anamnézy.

CHEK2 mutace se pouze minimálně vyskytuje v rodinách s *BRCA1/2* mutací. V souboru 1 250 pacientek analyzovaných v MOÚ byly nalezeny obě mutace *BRCA1* a *CHEK2* pouze v jedné rodině. V běžném testování vyšetřování končí nálezem patogenní *BRCA1/2* mutace a mutace v *CHEK2* genu již není zjišťována. Zachycení obou mutací je proto možné pouze v rámci studií.

Metaanalýza mutace c.1100delC u kolorektálního karcinomu (4 194 pacientů a 10 010 kontrol) prokázala zvýšení rizika vzniku onemocnění u neselektovaných nemocných s kolorektálním karcinomem (OR = 2,11; 95% CI 1,41–3,16), u nemocných s familiálním onemocněním (OR = 2,80; 95% CI 1,74–4,51), ale ne se sporadickou formou onemocnění (OR = 1,45; 95% CI 0,49–4,30). S ohledem na malou četnost této varianty a nejasná indikační kritéria nelze zatím vyšetření v klinické praxi doporučit.

Výsledky nedávné rozsáhlé studie mutace c.1100delC u pacientů s maligním melanomem z Německa a Dánska rovněž ukazují, že tato alterace se podílí na dvojnásobném zvýšení rizika onemocnění (OR = 2,01; 95% CI 1,03–3,91). Analýza genu *CHEK2* u nemocných s melanomem v ČR zatím neproběhla.

Analýza mutací v genu *CHEK2* u ostatních nádorů, u kterých byla nalezena asociace nosičství mutace v genu *CHEK2* (obvykle c.1100delC) se zvýšeným rizikem vzniku onemocnění (karcinom prostaty (OR = 3,0), karcinom štítné žlázy, karcinom ledviny), není zatím pro klinickou praxi doporučena. Výsledky vyplývají z ojedinělých studií a analýza u pacientů v ČR neproběhla vůbec nebo jen na malém souboru nemocných.

Mutace I157T *CHEK2* je missense variantou, která by mohla zvyšovat rizika různých nádorů; riziko nádorů prsu asi 1,5násobně, uváděna jsou i vyšší rizika nádorů tlustého střeva a prostaty. Na základě současných výsledků nelze přesně hodnotit její vliv na vznik karcinomu prsu a dalších nádorů a její klinické využití zatím není možné. Pro další missense varianty v *CHEK2* genu (Arg180Cys, Thr387Asn, Ala392Val) je v současnosti klinické využití ještě více problematické.

3. *NBS1* (Nibrin, NBN)

Gen *NBS1* (dnes NBN; OMIM*602667) se nachází na chromozomu 8q21 a kóduje protein skládající se ze 754 aminokyselin nazývaný nibrin [32]. Nibrin je součástí heterotrimerního MRN komplexu (složeného z proteinů MRE11/RAD50/*NBS1*; obr. 1), který sehrává základní úlohu v reparaci dvouřetězcových zlomů procesem homologní rekombinace. Zatímco MRE11 svou nukleolytickou aktivitou

upravuje místo zlomu DNA pro zahájení homologní rekombinace a RAD50 udržuje MRN komplex a přerušené konce DNA, *NBS1* působí jako komunikační uzel dodávající celému komplexu možnost interakce s dalšími proteiny odpovědi na vznik dvouřetězcových zlomů (ATM, CtIP), čímž vzniká velmi komplexní struktura reparačního ohniska [33]. Dědičné mutace v genu *NBS1* způsobují autozomálně recesivní onemocnění Nijmegen Breakage Syndrome (NBS), charakterizovaný mikrocefalií, růstovou retardací, imunodeficiencí, hypersenzitivitou na ionizující záření a zvýšeným rizikem vzniku lymfoidních malignit [34]. U více než 90 % nemocných s NBS se vyskytuje patogenní mutace c.657del5 (p.K219DfsX16) v exonu 6, méně častá je pravděpodobně rovněž patogenní missense varianta c.643C>T (R215W). Řada studií nalezla zvýšené riziko vzniku karcinomu prsu a dalších nádorů (karcinom kolorekta, leukemie) u heterozygotů s c.657del5 [35].

Mutační analýza v genech kódujících dalších dva proteiny MRN komplexu (MRE11 a RAD50) v ČR doposud provedena nebyla. Předpokládá se, že alterace v těchto genech by se mohly podílet na zvýšeném riziku vzniku karcinomu prsu [2].

Mutační analýza *NBS1* v ČR

V nedávné době byly publikovány výsledky dvou rozsáhlých analýz mutace c.657del5 u pacientů s kolorektálním karcinomem [36] a *BRCA1/2*-negativních pacientek z vysoce rizikových rodin s karcinomem prsu a v populaci pacientek s neselektovaným karcinomem prsu [37]. Obě studie ukazují nízkou četnost výskytu studované mutace mezi nemocnými s kolorektálním karcinomem (3/750, 0,40 %), vysoce rizikovým karcinomem prsu (2/600, 0,33 %) i sporadickým karcinomem prsu (2/703, 0,28 %). Výskyt mutace v populacích pacientů c.657del5 se nadto nelišil od výskytu v kontrolních populacích (5/1411, 0,35 % a 2/915, 0,22 %).

Klinický význam analýzy *NBS1* (NBN) v ČR

S ohledem na velmi nízký výskyt alterací v genu *NBS1* je praktický význam mu-

Tab. 4. Výsledky mutační analýzy genu *PALB2* u 190 vysoce rizikových pacientek s karcinomem prsu z ČR.

Mutace (lokalizace)	Změna proteinu	Diagnóza (věk)	Nádory v rodině (věk)
c.73A/T	p.K25X	C50 bilat. (75/75)	C50 (40), C54 (49)
c.172_175delTTGT	p.L58fsX8	C50 (39)	C50 (41), C50 (70), C18 (50)
c.172_175delTTGT	p.L58fsX8	C50 (38)	C50 (56), C50 (40)
c.172_175delTTGT	p.L58fsX8	C50 bilat. (42/52)	C50 (55), C50 (?), C18 (56), C25 (46)
c.509_510delGA	p.R170fsX14	C50 (59)	C50 (40), C50 (50), C?? (?)
c.1227_1231delTGTTA	p.Y409fsX0	C50 (37)	C50 (37), C50 (65)

tační analýzy pro pacientky s karcinomem prsu a nemocné s kolorektálním karcinomem malý.

4. *PALB2* (Partner and Localizer of *BRCA2*)

Gen *PALB2* (OMIM 610355) byl objeven v roce 2006 [38]. Je lokalizován na chromozomu 16p12.2 a skládá se ze 13 exonů. Proteinový produkt o 1 186 aminokyselinách je součástí endogenního *BRCA2*-komplexu. Předpokládá se, že *PALB2* proteiny oligomerizují a zprostředkovávají vstup *BRCA2* s *RAD51* a *BRCA1* proteinů do reparačního ohniska. Tato interakce je zásadní pro spuštění HR.

Krátce po objevu genu *PALB2* byly prokázány jeho bialelické patogenní mutace jako příčina nového subtypu Fanconio anémie (FA-N) [39]. Vzhledem k fenotypové podobnosti subtypu Fanconio anémie (FA-D1) způsobené bialelickými mutacemi genu *BRCA2* s typem FA-N a s ohledem na úzké funkční spojení proteinů *BRCA2* a *PALB2* bylo možné předpokládat, že monoalelické mutace *PALB2* genu mohou být – jak je tomu u genu *BRCA2* – příčinou dědičné predispozice k nádorovému onemocnění, zejména ke karcinomu prsu. Zvýšení rizika vzniku karcinomu prsu na dvou- až šestnásobek bylo následně u heterozygotních nosičů mutací genu *PALB2* skutečně prokázáno v řadě především bělošských populací [40]. Jako patogenní byly klasifikovány nonsense mutace, posunové mutace a sestřihové mutace spojené s posunem čtecího rámce; naopak klinický význam různých zachycených missense variant genu *PALB2* zůstává nejistý [41]. Relativní riziko karcinomu prsu u nosiček mutací v genu *PALB2* bylo zpočátku od-

hadnuto na 2,3 (95% CI 1,4–3,9), resp. (3,0 u žen mladších 50. let a 1,9 u starších pacientek). V následujících studiích ale bylo popsáno riziko vyšší (2,3–6,1) [42–44]. Do současné doby byla charakterizována řada populačně-specifických alterací genu *PALB2*, které jsou často unikátní pro studovaný region.

Mutační analýza *PALB2* v ČR

Doposud jsou k dispozici pouze pilotní výsledky mutační analýzy genu *PALB2* u vysoce rizikových *BRCA1/2*-negativních pacientek s karcinomem prsu [45]. Tyto výsledky však naznačují, že prokazatelně patogenní posunové mutace v genu *PALB2* se u vysoce rizikových pacientek s karcinomem prsu vyskytují v ČR relativně často (6/190, 3,1 %). Nalezené mutace (tab. 4) nebyly zachyceny v souboru 1 227 vzorků kontrolní populace.

Klinický význam analýzy *PALB2* v ČR

O zařazení mutační analýzy bude možné kvalifikovaně rozhodnout po dokončení studie. Z dosavadních výsledků vyplývá, že o mutační analýze genu *PALB2* by bylo možné uvažovat u pacientek s karcinomem prsu z rodin s familiárním výskytem karcinomu prsu. Nosičky patogenních alterací v genu *PALB2* by měly být zařazeny do sledování podobně jako nosičky mutací v genu *BRCA2*. Vzhledem k neúplné segregaci variant genu *PALB2* s nádorovým fenotypem je indikace pacientek s prokazatelně patogenními mutacemi v *PALB2* k preventivním chirurgickým výkonům doposud nejasná. Alterace v genu *PALB2* neasociují se zvýšeným rizikem vzniku karcinomu ovaria. Jejich zvýšený výskyt u nemocných s karcinomem pankreatu je předmětem dalších analýz.

Závěr

Identifikace nosičů patogenních mutací predisponujících ke vzniku nádorů je důležitým cílem klinické onkogenetiky. Umožňuje zařazení onkologických pacientů do specializovaných programů pro časnou diagnostiku případného vzniku metachronního nádorového onemocnění či aplikaci specializovaných léčebných modalit (např. inhibitory PARP1). U klinicky asymptomatických jedinců v rodinách nosičů mutací umožňuje diferencovat preventivní programy na základě přítomnosti, či nepřítomnosti příčinné alterace. Vedle zřejmého klinického významu (záchyt onemocnění v časném, tedy obvykle lépe kurbilním stadiu, možnosti profylaktických výkonů, aplikace specializovaných terapeutických postupů) má identifikace příčinných mutací podmiňující vznik hereditárních nádorových syndromů i psychologicko-sociální význam pro postižené rodiny a v neposlední řadě prokazatelný ekonomický přínos.

V současné době dochází k výraznému rozšiřování spektra kandidátních predispozičních genů. V případě karcinomu prsu tak vedle klasických a relativně častých hlavních predispozičních genů *BRCA1/2* a vysoce rizikových, avšak velmi vzácných genů *TP53* a *PTEN*, byla identifikována další skupina genů zahrnující *CHEK2*, *ATM*, *NBS1*, *RAD50*, *BRIP1*, a *PALB2* [46]. Je vysoce pravděpodobné, že díky rozvoji next-generation sekvenování budou brzy identifikovány i geny další [47,48]. Na rozdíl od hlavních predispozičních genů však patrně nelze očekávat, že jejich výskyt bude uniformní ve všech populacích (pravděpodobnost objevu *BRCA3* je velmi malá). Zdá se, že tyto další predispoziční geny (jejich hereditární mutace) budou u jednotlivých

nádorových onemocnění nebo skupiny nádorů charakteristické pro určité populace či regiony, z čehož vyplývá urgentní potřeba studií predispozičních genů na národních úrovních. Kromě toho, pro klinické využití umožňující aplikaci racionálních diagnostických, preventivních či terapeutických postupů je nezbytné, aby byl k dispozici dostatečně rozsáhlý a dobře charakterizovaný soubor nosičů mutací, který umožňuje zpřesnění kvalifikovaného odhadu rizika studovaných alterací. Přes nepochybné pokroky tento požadavek dnes splňuje, s výjimkou hlavních predispozičních genů, pouze mizivé procento alterací v ostatních predispozičních genech.

Závěrem lze tak konstatovat, že pro zařazení do rutinního screeningu u vysoce rizikových pacientek s karcinomem prsu lze v současnosti jednoznačně doporučit screening posunových mutací v genu *CHEK2* (především c.1100delC a rozsáhlá delece postihující dva exony). V dohledné době bude patrně možné kvalifikovaně rozhodnout i v otázce analýzy genu *PALB2*. Naopak, analýza dědičných alterací v genu *ATM* a *NBS1* na základě současných výsledků pro identifikaci rizika karcinomu prsu (a u *NBS1* i karcinomu kolorekta) vhodná není.

Poděkování

Autoři práce děkují všem spolupracujícím klinickým genetikům a onkologům za jejich pochopení a pomoc.

Literatura

- Oldenburg RA, Meijers-Heijboer H, Cornelisse CJ et al. Genetic susceptibility for breast cancer: how many more genes to be found? *Crit Rev Oncol Hematol* 2007; 63(2): 125–149.
- Bartkova J, Tommiska J, Oplustilova L et al. Aberrations of the MRE11-RAD50-NBS1 DNA damage sensor complex in human breast cancer: MRE11 as a candidate familial cancer-predisposing gene. *Mol Oncol* 2008; 2(4): 296–316.
- Foulkes WD. Inherited susceptibility to common cancers. *N Engl J Med* 2008; 359(20): 2143–2153.
- Soukupova J, Pohlreich P, Seemanova E. Characterisation of ATM mutations in Slavic Ataxia telangiectasia patients. *Neuromolecular Med* 2011; 13(3): 204–211.
- Bartek J, Bartkova J, Lukas J. DNA damage signalling guards against activated oncogenes and tumour progression. *Oncogene* 2007; 26(56): 7773–7779.
- Prokopcova J, Kleibl Z, Banwell CM et al. The role of ATM in breast cancer development. *Breast Cancer Res Treat* 2007; 104(2): 121–128.
- Soukupova J, Dunder P, Kleibl Z et al. Contribution of mutations in ATM to breast cancer development in the Czech population. *Oncol Rep* 2008; 19(6): 1505–1510.
- Renwick A, Thompson D, Seal S et al. ATM mutations that cause ataxia-telangiectasia are breast cancer susceptibility alleles. *Nat Genet* 2006; 38(8): 873–875.
- Matsuoka S, Huang M, Elledge SJ. Linkage of ATM to cell cycle regulation by the Chk2 protein kinase. *Science* 1998; 282(5395): 1893–1897.
- Bell DW, Varley JM, Szydlo TE et al. Heterozygous germline hCHK2 mutations in Li-Fraumeni syndrome. *Science* 1999; 286(5449): 2528–2531.
- Cybulski C, Górski B, Huzarski T et al. CHEK2 is a multi-organ cancer susceptibility gene. *Am J Hum Genet* 2004; 75(6): 1131–1135.
- Brennan P, McKay J, Moore L et al. Uncommon CHEK2 mis-sense variant and reduced risk of tobacco-related cancers: case control study. *Hum Mol Genet* 2007; 16(15): 1794–1801.
- Seppälä EH, Ikonen T, Mononen N et al. CHEK2 variants associate with hereditary prostate cancer. *Br J Cancer* 2003; 89(10): 1966–1970.
- Thompson D, Seal S, Schutte M et al. A multicenter study of cancer incidence in CHEK2 1100delC mutation carriers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15(12): 2542–2545.
- Nevanlinna H, Bartek J. The CHEK2 gene and inherited breast cancer susceptibility. *Oncogene* 2006; 25(43): 5912–5919.
- Kleibl Z, Novotný J, Bezdicova D et al. The CHEK2 c.1100delC germline mutation rarely contributes to breast cancer development in the Czech Republic. *Breast Cancer Res Treat* 2005; 90(2): 165–167.
- Walsh T, Casadei S, Coats KH et al. Spectrum of mutations in BRCA1, BRCA2, CHEK2, and TP53 in families at high risk of breast cancer. *JAMA* 2006; 295(12): 1379–1388.
- Kleibl Z, Novotný J, Malik R et al. Výskyt a význam mutace CHEK2*1100delC u pacientek s karcinomem prsu a v kontrolní skupině zdravých žen v České republice. *Klin Onkol* 2005; 18(3): 98–101.
- Kleibl Z, Havranek O, Hlavata I et al. The CHEK2 gene I157T mutation and other alterations in its proximity increase the risk of sporadic colorectal cancer in the Czech population. *Eur J Cancer* 2009; 45(4): 618–624.
- Kleibl Z, Havranek O, Novotný J et al. Analýza mutace c.1100delC genu CHEK2 v populaci pacientů se sporadickým karcinomem kolorekta a familiární adenomatózní polypózou. *Klin Onkol* 2007; 20(2): 224–226.
- Mohelnikova-Duchonova B, Havranek O, Hlavata I et al. CHEK2 gene alterations in the forkhead-associated domain, 1100delC and del5395 do not modify the risk of sporadic pancreatic cancer. *Cancer Epidemiol* 2010; 34(5): 656–658.
- Kleibl Z, Havranek O, Novotný J et al. Analysis of CHEK2 FHA domain in Czech patients with sporadic breast cancer revealed distinct rare genetic alterations. *Breast Cancer Res Treat* 2008; 112(1): 159–164.
- Havranek O, Spacek M, Hubacek P et al. Alterations of CHEK2 forkhead-associated domain increase the risk of Hodgkin lymphoma. *Neoplasma* 2011; 58(5): 392–395.
- Cybulski C, Wokolorczyk D, Kladny J et al. Germline CHEK2 mutations and colorectal cancer risk: different effects of a missense and truncating mutations? *Eur J Hum Genet* 2007; 15(2): 237–241.
- Kilpivaara O, Vahteristo P, Falck J et al. CHEK2 variant I157T may be associated with increased breast cancer risk. *Int J Cancer* 2004; 111(4): 543–547.
- Kilpivaara O, Alhopuro P, Vahteristo P et al. CHEK2 I157T associates with familial and sporadic colorectal cancer. *J Med Genet* 2006; 43(7): e34.
- Cybulski C, Masojc B, Oszutowska D et al. Constitutional CHEK2 mutations are associated with a decreased risk of lung and laryngeal cancers. *Carcinogenesis* 2008; 29(4): 762–765.
- Antoni L, Sodha N, Collins I et al. CHK2 kinase: cancer susceptibility and cancer therapy – two sides of the same coin? *Nat Rev Cancer* 2007; 7(12): 925–936.
- Weischer M, Bojesen SE, Ellervik C et al. CHEK2*1100delC genotyping for clinical assessment of breast cancer risk: meta-analyses of 26,000 patient cases and 27,000 controls. *J Clin Oncol* 2008; 26(4): 542–548.
- Narod SA. Testing for CHEK2 in the cancer genetics clinic: ready for prime time? *Clin Genet* 2010; 78(1): 1–7.
- Macháčková E, Vašíčková P, Stáhlová Hrabincová E et al. Zárudečné mutace v genu CHEK2 u českých pacientů s nádorovou predispozicí. Abstrakt 005. In: Edukační sborník. Brno: XXXVI Brněnské onkologické dny a XXVI Konference pro sestry a laboranty 2012.
- Varon R, Vissinga C, Platzer M et al. Nibrin, a novel DNA double-strand break repair protein, is mutated in Nijmegen breakage syndrome. *Cell* 1998; 93(3): 467–476.
- Williams RS, Dodson GE, Limbo O et al. NBS1 flexibly tethers Ctp1 and Mre11-RAD50 to coordinate DNA double-strand break processing and repair. *Cell* 2009; 139(1): 87–99.
- Seemanova E, Sperling K, Neitzel H et al. Nijmegen breakage syndrome (NBS) with neurological abnormalities and without chromosomal instability. *J Med Genet* 2006; 43(3): 218–224.
- Seemanova E, Jarolim P, Seeman P et al. Increased risk of malignancies in heterozygotes in families of patients with Nijmegen breakage syndrome. *Čas Lék Česk* 2006; 145(2): 138–143.
- Pardini B, Naccarati A, Polakova V et al. NBN 657del5 heterozygous mutations and colorectal cancer risk in the Czech Republic. *Mutat Res* 2009; 666(1–2): 64–67.
- Mateju M, Kleiblova P, Kleibl Z et al. Germline mutations 657del5 and 643C>T (R215W) in NBN are not likely to be associated with increased risk of breast cancer in Czech women. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 133(2): 809–811.
- Xia B, Sheng Q, Nakanishi K et al. Control of BRCA2 cellular and clinical functions by a nuclear partner, PALB2. *Mol Cell* 2006; 22(6): 719–729.
- Xia B, Dorsman JC, Ameiziane N et al. Fanconi anemia is associated with a defect in the BRCA2 partner PALB2. *Nat Genet* 2007; 39(2): 159–161.
- Rahman N, Seal S, Thompson D et al. PALB2, which encodes a BRCA2-interacting protein, is a breast cancer susceptibility gene. *Nat Genet* 2007; 39(2): 165–167.
- Hellebrand H, Sutter C, Honisch E et al. Germline mutations in the PALB2 gene are population specific and occur with low frequencies in familial breast cancer. *Hum Mutat* 2011; 32(6): E2176–E2188.
- Casadei S, Norquist BM, Walsh T et al. Contribution of inherited mutations in the BRCA2-interacting protein PALB2 to familial breast cancer. *Cancer Res* 2011; 71(6): 2222–2229.
- Erkko H, Dowty JG, Nikkilä J et al. Penetrance analysis of the PALB2 c.1592delT founder mutation. *Clin Cancer Res* 2008; 14(14): 4667–4671.
- Tischkowitz M, Capanu M, Sabbaghian N et al. Rare germline mutations in PALB2 and breast cancer risk: a population-based study. *Hum Mutat* 2012; 33(4): 674–680.
- Janatova M, Pohlreich P, Kotlas J. PALB2 mutations in familial breast cancer in the Czech republic. *Eur J Cancer* 2011; 47 (Suppl 1): S133.
- Walsh T, King MC. Ten genes for inherited breast cancer. *Cancer Cell* 2007; 11(2): 103–105.
- Walsh T, Casadei S, Lee MK et al. Mutations in 12 genes for inherited ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinoma identified by massively parallel sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108(44): 18032–18037.
- Brownstein Z, Friedman LM, Shahin H et al. Targeted genomic capture and massively parallel sequencing to identify genes for hereditary hearing loss in middle eastern families. *Genome Biol* 2011; 12(9): R89.