

KLINICKÁ ONKOLOGIE

Hereditární nádorová onemocnění IV.

Hereditary Cancer Diseases IV.

Kolektiv autorů



Slovenská
onkologická
spoločnosť

Vydává ČLS JEP. ISSN 0862-495X. ISSN 1802-5307 on-line přístup
Indexed in MEDLINE/PubMed, EMBASE/Excerpta Medica, EBSCO,
SCOPUS, Bibliographia medica čechoslovaca, Index Copernicus

ročník 29 | **2016** | Supplementum I

Editorial

Vážení kolegové,

další díl supplementa o hereditárních nádorových onemocněních se věnuje především rozšíření indikací k testování dědičného syndromu nádorů prsu a vaječníků, které odrážejí mezinárodní kritéria a nové skutečnosti v onkologické léčbě. Je nutné testování všech pacientek s karcinomy vaječníků, neboť předpokládaná záchytnost mutací mezi neselektovanými pacientkami přesahuje 10 %, na spadnutí je indikace léčby PARP inhibitory u *BRCA1/2* pozitivních pacientek (germinální nebo somatické mutace) a preventivní péče o zdravé nosičky je založena na profylaktických operacích, které zásadně ovlivňují úmrtnost na nádory vejcovodů a vaječníků. Důležitý je také pohled onkogynekologa na dispenzarizaci žen s *BRCA1/2* mutací a pohled onkologů na preventivní péči o nosiče a nosičky mutací, který vychází z vlastních více než 15letých zkušeností i ze zkušeností v zahraničí. Nicméně tato doporučení jsou určitým základem doporučené péče a vzhledem k velké variabilitě klinických symptomů v různých rodinách je vždy vhodné, aby genetik společně s onkologem, gynekologem i dalšími lékaři zohlednili možná individuální rizika.

Profylaktické operace se staly součástí standardní onkologické péče u nosiček *BRCA1/2* mutace. Především profylaktické adnektomie jsou nezbytně nutné, protože žádná sekundární prevence karcinomů tub a ovarií nefunguje. Zároveň je kladen důraz i na onkology, kteří musí tuto nutnost připomínat nosičkám *BRCA1/2* mutací a opakovaně ji s nimi konzultovat. Ne všechny ženy jsou sledovány v onkogynekologických centrech, mnohé jsou ponechány v péči primárních gynekologů. Profylaktické mastektomie s okamžitou rekonstrukcí jsou důležitou redukcí rizika karcinomu prsu, u zdravých nosiček téměř na nulové riziko, přesto si pojišťovny málo uvědomují význam těchto operací a nejsou ochotné tyto operace adekvátně finančně ohodnotit. Tyto operace jsou pro nemocnice ztrátové. Například osmihodinová operace – oboustranná profylaktická mastektomie s okamžitou rekonstrukcí prsů dvěma volnými břišními laloky, DIEP – jejíž náklady jsou asi 140 000 Kč, je hrazena pojišťovnami do výše 30 000 Kč. Pouze díky zapálení a houževnatosti plastických chirurgů je můžeme ženám poskytnout. V naší republice se provede asi 250 těchto operací ročně, 150 ve FN u sv. Anny v Brně, zbylých 100 je rozprostřeno v ostatních centrech plastické chirurgie. Nezájem a neochota pojišťoven uhradit náklady je nepochopitelná vzhledem k jejich finančním úsporám na další prevenci a onkologické léčbě.

V poslední době se i v klinickém genetickém testování stále více uplatňuje testování pomocí nové generace sekvenování s testováním panelů mnoha genů (desítky i stovky) pro rizika hereditárních malignit. Tyto panely nacházejí germinální mutace ve známých vysoce penetrantních genech, ale i v genech dosud klinicky standardně netestovaných. Mají velký potenciál zvýšit objasněnost příčin u suspektních nádorových syndromů, ale zároveň přinášejí mnoho informací, které dosud neumíme v praxi použít. U vzácných genů se naše znalosti o jejich klinických účincích teprve vytvářejí a musíme počkat na více dat, abychom byli schopni navrhnout preventivní spektrum.

V pediatrii onkologii je rychlé testování somatických i zárodečných mutací u solidních nádorů základem pro optimalizaci chemoterapie a využití nestandardních léčebných postupů. Rychlé testování je stále více požadováno i pro rozhodování o postupech chirurgické, ale i onkologické léčby především u nádorů prsu a vaječníků. Nové možnosti personalizované léčby se budou rozšiřovat a genetická pracoviště musí být schopna na požadavky lékařů rychle reagovat. Zároveň si však onkologové musí uvědomit, že informace o dědičné formě a zárodečné mutaci je prioritně důležitá pro prevenci nádorů v rodině a že nemohou obcházet genetické poradenství v rodinách.

Asistovaná reprodukce a preimplantační genetická diagnostika jsou dnes využívány v plánování rodičovství u hereditárních nádorových syndromů. Jsou předloženy dosavadní poznatky a publikované informace o rizicích těhotenství pacientek ohrožených karcinomem prsu i o současných možnostech asistované reprodukce.

Rozvoj genetického testování je velmi rychlý. Údaje o somatických změnách v nádorech, o kauzálních germinálních mutacích, o nových metodách nádorové léčby a prevence je potřeba sledovat a co nejdříve aplikovat v praxi.

V novém supplementu se snažíme přinést údaje využitelné pro klinickou praxi, upozornit na nové indikace, geny, syndromy, na další možnosti testování a prevence. Děkujeme všem autorům, kteří přispěli svým článkem do tohoto supplementa.

doc. MUDr. Lenka Foretová, Ph.D.

MUDr. Katarína Petráková, Ph.D.

Masarykův onkologický ústav, Brno

Obsah | Contents

Editorial	S3
Seznam onkologických pracovišť a onkologů zajišťujících prevenci pro osoby (i zdravé) s dědičným rizikem nádorů	S6
Seznam genetických ambulancí při KOC	
Doporučení rozšíření indikačních kritérií ke genetickému testování mutací v genech <i>BRCA1</i> a <i>BRCA2</i> u hereditárního syndromu nádorů prsu a ovarií	S9
Recommended Extension of Indication Criteria for Genetic Testing of <i>BRCA1</i> and <i>BRCA2</i> Mutations in Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome	
Foretová L., Macháčková E., Palácová M., Navrátilová M., Svoboda M., Petráková K.	
Syndrom hereditárního karcinomu prsu a ovarií	S14
Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome	
Petráková K., Palácová M., Schneiderová M., Standara M.	
Gynekologická prevence a gynekologické aspekty péče u nosiček mutací genů <i>BRCA1</i> a <i>BRCA2</i>	S22
Gynecological Care and Prevention of Gynecological Malignancies in <i>BRCA1</i> and <i>BRCA2</i> Mutation Carriers	
Zikán M.	
<i>PALB2</i> jako další kandidátní gen pro genetické testování u pacientů s hereditárním karcinomem prsu v České republice	S31
<i>PALB2</i> as Another Candidate Gene for Genetic Testing in Patients with Hereditary Breast Cancer in Czech Republic	
Janatová M., Borecká M., Soukupová J., Kleiblová P., Stříbrná J., Vočka M., Zemánková P., Panczak A., Veselá K., Souček P., Foretová L., Kleibl Z.	
Retrospektivní NGS studie u vysoce rizikových pacientů s hereditární predispozicí k nádorovému onemocnění v Masarykově onkologickém ústavu	S35
Retrospective NGS Study in High-risk Hereditary Cancer Patients at Masaryk Memorial Cancer Institute	
Macháčková E., Házová J., Stáhlová Hrabincová E., Vašíčková P., Navrátilová M., Svoboda M., Foretová L.	
CZECANCA: CZEch CAncer paNel for Clinical Application – návrh a příprava cíleného sekvenčního panelu pro identifikaci nádorové predispozice u rizikových osob v České republice	S46
CZECANCA: CZEch CAncer paNel for Clinical Application – Design and Refinements of the Targeted Sequencing Panel for the Identification of Cancer Susceptibility in High-risk Individuals in Czech Republic	
Soukupová J., Zemánková P., Kleiblová P., Janatová M., Kleibl Z.	
Genetika tumorigenézy nádorů kolorekta (možnosti testování a screeningové predikce dědičné formy onemocnění – Lynchovyho syndrómu)	S55
Genetics of Colorectal Tumorigenesis (Possibilities of Testing and Screening Prediction of Hereditary Form of Colorectal Cancer – Lynch Syndrome)	
Mrkvá I.	
Syndromy predisponující k nádorům v dětském věku – zkušenosti Kliniky dětské onkologie FN Brno	S62
Syndromes Predisposing to Cancer in Children – the Experience of Pediatric Oncology Department of University Hospital Brno	
Bajčiová V.	

Genetické syndromy predisponující k dětským nádorům centrálního nervového systému Genetic Syndromes Predisposing to Tumors of Central Nervous System in Children Krutílková V.	S71
Hepatoblastom, etiologie, kazuistiky Hepatoblastoma, Etiology, Case Reports Puchmajerová A., Křepelová A., Indráková J., Sítková R., Balaščík I., Kruseová J., Švojgr K., Kodet R., Kynčl M., Vícha A., Macek M. Jr.	S78
Identifikace rodiny s nosičstvím germinální delece genu <i>SUFU</i> na podkladě diagnózy desmoplastického meduloblastomu u batolete Identification of a Family with <i>SUFU</i> Germline Deletion Based on a Case of Desmoplastic Medulloblastoma in an Infant Šoukalová J., Vejmelková K., Cermanová T., Kašíková K., Mikulášová A., Janyšková H., Melichárková K., Pavelka Z., Ježová M., Pospíšilová Š., Kuglík P., Valášková I., Gaillyová R., Štěrba J., Zitterbart K.	S83
Fanconiho anémie, komplementační skupina D1 v důsledku bialelické mutace genu <i>BRCA2</i> – kazuistika Fanconi Anemia, Complementation Group D1 Caused by Biallelic Mutations of <i>BRCA2</i> Gene – Case Report Puchmajerová A., Švojgr K., Novotná D., Macháčková E., Sumerauer D., Smíšek P., Kodet R., Kynčl M., Křepelová A., Foretová L.	S89
Asistovaná reprodukce a preimplantační genetická diagnostika u pacientek ohrožených karcinomem prsu Assisted Reproduction and Preimplantation Genetic Diagnosis in Patients Susceptible to Breast Cancer Veselá K., Kocur T., Horák J., Horňák M., Oráčová E., Hromadová L., Veselý J., Trávník P.	S93

Seznam onkologických pracovišť a onkologů zajišťujících prevenci pro osoby (i zdravé) s dědičným rizikem nádorů

Seznam genetických ambulancí při KOC

Komplexní onkologická centra

Komplexní onkologické centrum, FN Hradec Králové

Vedoucí: prof. MUDr. Jiří Petera, Ph.D.

Klinická onkologie a radioterapie LF UK a FN Hradec Králové

Onkologická ambulance: MUDr. Iva Slánská

Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové

Tel. k objednání: 495 833 708 (pátek)

Genetická ambulance, Oddělení lékařské genetiky FN Hradec Králové

Tel. k objednání: 495 832 553

Komplexní onkologické centrum Pardubického kraje

Vedoucí: doc. MUDr. Jaroslav Vaňásek, CSc.

vanasek@kocpardubickehokraje.cz, tel.: 466 016 401

Multiscan s. r. o.

Onkologická ambulance:

MUDr. Kateřina Vondráčková

vondrackova@multiscan.cz, tel.: 466 016 415

Kyjejská 44, 530 01 Pardubice

www.kocpardubickehokraje.cz

Tel. k objednání: 466 016 414

Komplexní onkologické centrum, KN Liberec

Vedoucí: MUDr. Jiří Bartoš, MBA

jiri.bartos@nemlib.cz

Onkologická ambulance: MUDr. Lucie Barsová

lucie.barsova@nemlib.cz

Oddělení klinické onkologie, KN Liberec

Husova 10, 460 63 Liberec

Tel. k objednání: 485 312 909, 485 312 267

Komplexní onkologické centrum, FN Ostrava

Vedoucí: MUDr. David Feltl, Ph.D.

Onkologická ambulance: MUDr. Zlata Bravencová

bravencova@email.cz, tel.: 597 373 492

Onkologická klinika LF OU a FN Ostrava

Tel. k objednání – sestry 597 374 327, lékař 597 373 492 (pondělí–pátek 8–15 hod)

Genetická ambulance, Oddělení lékařské genetiky FN Ostrava

17. listopadu 1790, 708 52 Ostrava

Tel. k objednání: 597 373 264

Komplexní onkologické centrum, FN na Bulovce, VFN a Thomayerovy nemocnice, Praha

Vedoucí: prof. MUDr. Jitka Abrahámová, DrSc.

jitka.abrahamova@ftn.cz, tel.: 261 083 492

Všeobecná fakultní nemocnice

Onkologická ambulance: MUDr. Martina Zimovjanová, Ph.D.

zimov@seznam.cz

Onkologická klinika 1. LF UK a VFN v Praze

Karlovo náměstí 32, 128 08 Praha

Tel. k objednání: ZS Zuzana Semanová, tel.: 224 966 768

Ambulance poliklinika 2. patro Budova B, každý pátek 8–13 hod

Genetická ambulance, Ústav biologie a lékařské genetiky, VFN v Praze

Ke Karlovu 2, 120 00 Praha 2

Tel. k objednání: 224 967 171, 224 967 175

Thomayerova nemocnice, Praha

Onkologická ambulance: doc. MUDr. Josef Dvořák

josef.dvorak@ftn.cz, tel.: 261 083 832

Onkologická klinika 1. LF UK a Thomayerova nemocnice

Vídeňská 800, 140 59 Praha 4-Krč

Tel. k objednání: 261 083 832

Genetická ambulance, Oddělení lékařské genetiky, TN Praha

Tel. k objednání: 261 083 760

Komplexní onkologické centrum, FN v Motole, Praha

Vedoucí: doc. MUDr. Jana Prausová, Ph.D., MBA

tel.: 224 434 720

Onkologická ambulance: MUDr. Vlastimila Čmejlová

vlastimila.cmejlova@fnmotol.cz, tel.: 224 434 761

Radioterapeuticko-onkologické oddělení, FN v Motole

V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Tel. k objednání: 224 434 760, 224 434 761

Genetická ambulance, Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN v Motole

Tel. k objednání: 224 433 564, 567, denně 7–8 a 14–15 hod

Klinika nukleární medicíny a endokrinologie

2. LF UK a FN v Motole, Praha

Centrum pro tyreoidální onkologii

Vedoucí a ambulance: prof. MUDr. Petr Vlček, CSc.

petr.vlcek@fnmotol.cz, tel.: 224 434 600

V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Tel. k objednání: 224 434 601, 224 434 628

Centrum vysoce specializované onkologické péče pro dospělé, FN Královské Vinohrady, Praha**Vedoucí: MUDr. PharmDr. Jan Dvořák**

jan.dvorak@fnkv.cz, tel.: 267 162 837

Radioterapeutická a onkologická klinika**Vedoucí: doc. MUDr. Martina Kubecová, Ph.D.**

kubecova@fnkv.cz, tel.: 267 162 333

Onkologická ambulance: MUDr. Marie Bendová, CSc.

Bendova.Marie@seznam.cz, tel.: 267 163 020

FN Královské Vinohrady, Praha

Radioterapeutická a onkologická klinika

Šrobárova 50, 100 34 Praha 10

Tel. k objednání: 267 163 020, 267 163 293, 267 162 815

Genetická ambulance: doc. MUDr. Aleš Panczak, CSc.

genetika.rtok@fnkv.cz, tel.: k objednání: 267 163 136

Komplexní onkologické centrum, Nemocnice Nový Jičín a. s.**Vedoucí: doc. MUDr. Renáta Soumarová, Ph.D.****Onkologická ambulance: MUDr. Nina Dvořáčková**

nina.dvorackova@onkologickecentrum.cz, tel.: 606 265 245

Poliklinika Agel

Revoluční 2214/35, 741 01 Nový Jičín

Tel. k objednání: ZS Anna Jančálková, tel.: 556 416 142

(602 632 736)

Genetická ambulance

Revoluční 2214/35, 741 01 Nový Jičín

Tel. k objednání: 556 416 142, 602 632 736

Komplexní onkologické centrum, KNTB, a. s., Zlín**Vedoucí: MUDr. Milan Kohoutek**

kohoutek@bnzlin.cz, tel.: 577 552 344

Onkologická ambulance: MUDr. Pavel Veselý, Ph.D.

pavel.vesely@bnzlin.cz, tel.: 577 552 812

Onkologické centrum, KNTB, a. s., Zlín

Havlíčkově nábřeží 600, 762 75 Zlín

Tel. k objednání: 577 552 812

Genetická ambulance, Centrum fetální medicíny a lékařské genetiky, KNTB, a. s., Zlín

Havlíčkově nábřeží 600, 762 75 Zlín

Tel. k objednání: 577 552 537

Komplexní onkologické centrum, Nemocnice Jihlava**Vedoucí: MUDr. Lubomír Slavíček, Ph.D.**

slavicekl@nemji.cz, tel.: 567 157 151, 731 628 882

Onkologická ambulance: MUDr. Zuzana Vaculínová

zuzana.vaculinova@gmail.com, tel.: 567 157 377

Onkologické oddělení, Nemocnice Jihlava

Vrchlického 59, 586 33 Jihlava

Tel. k objednání: 567 157 377

Genetická ambulance, Nemocnice Jihlava

Tel. k objednání: 604 415 649

Komplexní onkologické centrum, FN Plzeň**Vedoucí: prof. MUDr. Jindřich Fínek, Ph.D.**

finek@fnplzen.cz, tel.: 377 105 500, fax.: 377 105 545

Onkologická ambulance: prof. MUDr. Jindřich Fínek, Ph.D.

RTO FN Plzeň

E. Beneše 13, 305 99 Plzeň

Tel. k objednání: 377 105 514, 377 105 511

Genetická ambulance, Ústav lékařské genetiky, FN Plzeň

Tel. k objednání: 377 402 868, 377 402 869

Komplexní onkologické centrum Nemocnice České Budějovice, a. s.**Vedoucí: MUDr. Václav Janovský****Onkologická ambulance:****MUDr. Ivona Mrázová, MBA**

mrazova@nemcb.cz, tel.: 387 875 114

MUDr. Petr Vitek

vitek@nemcb.cz, tel.: 387 875 114

Onkologické oddělení, Nemocnice České Budějovice, a. s.

B. Němcové 585/54, 370 87 České Budějovice

Tel. k objednání: 387 875 114

Genetická ambulance, Oddělení lékařské genetiky, NČB

Tel. k objednání: 387 873 007

Komplexní onkologické centrum, MN v Ústí nad Labem, o. z.**Vedoucí: MUDr. Martina Chodacká**

martina.chodacka@kzcr.eu, tel.: 477 113 260

Onkologická ambulance: MUDr. Denisa Musilová

denisa.musilova@kzcr.eu, tel.: 477 113 295

Krajská zdravotní, a. s., Masarykova nemocnice, o. z. – KOC –

Onkologie MN

V Podhájí 21, 401 13 Ústí nad Labem

Tel. k objednání: 477 113 281, 477 113 295

Genetická ambulance, Oddělení lékařské genetiky,**MN Ústí nad Labem**

Tel. k objednání: 475 682 473

Komplexní onkologické centrum, FN Olomouc**Vedoucí a onkologická ambulance:****prof. MUDr. Bohuslav Melichar, Ph.D.**

bohuslav.melichar@fnol.cz, tel.: 588 444 288

Klinika onkologie

Onkologická klinika FN Olomouc

I. P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc

Tel. k objednání: 588 444 295

Genetická ambulance, Ústav lékařské genetiky**FN Olomouc**

Tel. k objednání: 588 443 858

Komplexní onkologické centrum Brno, MOÚ,**FN u sv. Anny, FN Brno****Vedoucí: prof. MUDr. Rostislav Vyzula, CSc.****Onkologická ambulance:****MUDr. Katarína Petráková, Ph.D.**

petrakova@mou.cz, tel.: 543 134 000

MUDr. Markéta Palácová, palacova@mou.cz, tel.: 543 136 812**MUDr. Marta Krásenská, krasenska@mou.cz, tel.: 543 136 111****MUDr. Anna Ondračková, ondrackova@mou.cz,**

tel.: 543 136 162, objednávky na tel.: 543 136 161

(zdravotní sestra)

MUDr. Dagmar Macková, CSc.

mackova@mou.cz, tel.: 543 136 110

doc. MUDr. Marek Svoboda, Ph.D.

msvoboda@mou.cz, tel.: 543 136 902

Klinika komplexní onkologické péče

Masarykův onkologický ústav

Žlutý kopec 7, 656 53 Brno

Tel. k objednání pro všechny preventivní ambulance:

543 136 911

Genetická ambulance, Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů, MOÚ

Tel. k objednání: 543 13 kl. 6900, 6901, 6907, 6911

Onkologická ambulance: MUDr. Dagmar Brancíková

dagmar.brancikova@fnbrno.cz, tel.: 532 232 384

Interní hematoonkologická klinika

Onkologická ambulance pro solidní nádory, FN Brno

Jihlavská 20, 625 00 Brno

Tel. k objednání: 532 233 976

Genetická ambulance, Oddělení lékařské genetiky, FN Brno

Černopolní 9, 613 00 Brno

Tel. k objednání: 532 234 490

Dětské onkologické centrum, FN v Motole, Praha**Vedoucí: prof. MUDr. Jan Starý, DrSc.****Onkologická ambulance: MUDr. Jarmila Kruseová, Ph.D.**

Jarmila.Kruseova@fnmotol.cz, tel.: 224 436 444

V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Tel. k objednání: 224 436 444, e-mail: vysetreni.kdho@fnmotol.cz

Genetická ambulance, Ústav biologie a lékařské genetiky**2. LF UK a FN v Motole**

Tel. k objednání: 224 433 564, 567, denně 7–8 a 14–15 hod

Dětské onkologické centrum, FN Brno**Vedoucí: prof. MUDr. Jaroslav Štěrba, Ph.D.**

jsterb@fnbrno.cz, tel.: 532 234 755

Onkologická ambulance: prim. MUDr. Viera Bajčiová, CSc.

vbajciova@fnbrno.cz, tel.: 532 234 671

Klinika dětské onkologie LF MU a FN Brno

Černopolní 9, 613 00 Brno

Tel. k objednání: 532 234 605

Genetická ambulance, Oddělení lékařské genetiky, FN Brno (Černopolní 9)

Tel. k objednání: 532 234 490

Další onkologická pracoviště**Centrum klinické onkologie Přerov****MUDr. Lubomír Skopal**

lubskopal@volny.cz

Poliklinika MENS

Náměstí Přerovského povstání 1, 750 02 Přerov

Tel. k objednání: 581 701 352 (sestry), 581 701 351 (lékař)

Oddělení radiační a klinické onkologie,**Nemocnice Znojmo****Vedoucí: MUDr. Renata Neumanová, Ph.D., MBA**

renata.neumanova@nemzn.cz

Onkologická ambulance

Oddělení radiační a klinické onkologie

MUDr. Jana Jánského 11, 669 02 Znojmo

prim. MUDr. Renata Neumanová, Ph.D., MBA

Po: 14.30–15.30 hod

St: 15.30–17.00 hod

MUDr. Jindra Číberová: Út: 10.00–11.00 hod**MUDr. Jan Holoubek:** Čt: 9.00–10.00 hod**MUDr. Marie Špalková:** Pá: 8.00–9.00 hod

Tel. k objednání: 515 215 150 (sestry), 515 215 141 (primář)

Interní oddělení, SN Opava**prim. MUDr. Peter Gajdoš****Vedoucí lékařka onkologická ambulance SN Opava:****MUDr. Margita Nováčiková**

Mnovacikova@seznam.cz, tel.: 553 766 552

Lékař onkologické ambulance: MUDr. Petr Štěpánek

Olomoucká 86, 746 01 Opava

p.stepanek@atlas.cz, tel.: 553 766 551

Tel. k objednání: 553 766 550 – ošetřovna

(požadováno doporučení praktického lékaře ke sledování a výsledek genetického testování)

Seznam všech onkologických pracovišť: www.onconet.cz/index.php?s=koc&f=komplexni-onkologicka-centra**Seznam genetických pracovišť:** <http://www.slg.cz/pracoviste/klinicka-genetika/>

Doporučení rozšíření indikačních kritérií ke genetickému testování mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2* u hereditárního syndromu nádorů prsu a ovarií

Recommended Extension of Indication Criteria for Genetic Testing of *BRCA1* and *BRCA2* Mutations in Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome

Foretová L.¹, Macháčková E.¹, Palácová M.², Navrátilová M.¹, Svoboda M.^{1,2}, Petráková K.²

¹ Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů, Masarykův onkologický ústav, Brno

² Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn

Genetické testování pro dědičný syndrom nádorů prsu a ovarií se provádí po konzultaci s lékařským genetikem a po zvážení osobní i rodinné anamnézy, dle určitých konsenzuálních kritérií, která odrážejí současný stav znalostí. Poslední doporučení schválená výbory České onkologické společnosti a Společnosti lékařské genetiky ČLS JEP byla publikována v supplementu Klinické onkologie 2009, ročník 22. Update těchto kritérií je nutný vzhledem k novým skutečnostem týkajícím se především nádorů vaječníků, kdy je nosičství mutace v genech *BRCA1/2* také indikací k léčbě PARP inhibitory. Dalším faktorem je i přítomnost některých jiných malignit v rodině, jako jsou opakovaná onemocnění nádory prostaty nebo slinivky. Cílem je zvýšit zachyt mutací v rodinách, rozšířit prevenci a dále zajistit důležité údaje pro cílenou nádorovou léčbu.

Klíčová slova

hereditární syndrom nádorů prsu a ovarií – genetické testování – genetické poradenství

Summary

Genetic testing for hereditary breast and ovarian cancer syndrome is indicated by a genetic counselor on the basis of personal and family history evaluation, with regards to consensual criteria, reflecting the current knowledge. The latest recommendation accepted by Czech Oncology Society and Society of Medical Genetics was published in the supplement 22 to the Journal of Clinical Oncology in 2009. Since the availability of PARP inhibitors for treatment of ovarian cancer in *BRCA1/2* mutation carriers, an update of these guidelines is urgently needed. Another reason is a higher incidence of other malignancies in high-risk families, such as prostate or pancreatic cancer. The goal is to refine the detection of mutations in selected families, to improve preventive care and collect data necessary for targeted cancer treatment.

Key words

hereditary breast and ovarian cancer syndrome – genetic testing – genetic counseling

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 recommendation for biomedical papers.



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: 25. 8. 2015

Přijato/Accepted: 20. 10. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko201659>

Úvod

V roce 1994 a 1995 byly objeveny tumor supresorové geny *BRCA1* (chromozom 17q21, 24 exonů) a *BRCA2* (chromozom 13q12-13, 27 exonů), které mnohonásobně zvyšují celoživotní rizika onemocnění nádory prsu a vaječníků [1,2]. Předpokládá se, že zárodečné mutace v těchto genech jsou schopné objasnit asi 20 % ze všech familiárních forem nádorů prsu, mutace v jiných vysoce rizikových genech pro specifické nádorové syndromy *TP53*, *PTEN*, *STK11*, *CDH1* asi 1 %. Dalšími geny, které mohou vysvětlit určitou část familiárních případů, jsou geny středně zvýšeného rizika onemocnění. Jedná se např. o geny *CHEK2*, *ATM*, *BRIP1*, *PALB2* i *RAD51C*, nicméně se dá předpokládat, že s rozvojem nové generace sekvenování (next-generation sequencing – NGS) a testování panelu genů nebo celoexomového testování budou nalézány další možné predispoziční geny s různě vyjádřeným rizikem onemocnění pro nádory prsu, vaječníků, event. i jiná nádorová onemocnění. U většiny genů mírného a středního rizika nejsou dosud vytvořeny guidelines pro klinické sledování nosiček a nosičů [3–7].

Nádory prsu a vaječníků mohou jako většina nádorových onemocnění vznikat na základě polygenní etiologie. Proto vyloučit určité zvýšené riziko negativně testovaným zdravým příbuzným nelze, obzvláště u středně rizikových genů.

Předpokládaná populační frekvence mutací v genech *BRCA1/2* se uvádí asi 1/800–1/1 000 pro každý gen [8]. Výskyt mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2* v ČR lze na základě výskytu populačně specifických variant u neselektované populace žen s karcinomem prsu odhadnout na 2,8 % [9]. V některých zemích jsou uváděny populačně specifické mutace, nicméně v ČR se kromě častějších mutací vyskytují naprosto individuální mutace v průběhu kódujících sekvencí obou genů a genetické testování nelze zjednodušit na vyšetření několika izolovaných mutací. Každé lékařem indikované testování genů *BRCA1/2* musí zahrnovat kompletní vyšetření všech exonů a exon-intronových spojení a vyšetření velkých přestaveb obou genů (velké delece nebo inserce).

I přes tyto podrobné metody testování ani při použití NGS nelze považovat genetické testování za 100% a je možné, že některé typy mutací není možné zachytit. Senzitivita testování by se mohla pohybovat v dnešní době kolem 95–99 %. U všech laboratoří poskytujících testování *BRCA1/2* genů pro klinické účely je nutné, aby měly pravidelně sledovanou svou kvalitu testování pomocí systému mezinárodních kontrol kvality (EMQN aj.).

Základní charakteristiky hereditárního syndromu nádorů prsu a ovarií

Celoživotní rizika onemocnění pro nosičky mutace jsou uváděna různě v různých studiích a v různých populacích. Ve studii ve Velké Británii [10] je uváděno celoživotní riziko nádorů prsu do 80 let u nosiček *BRCA1* mutace do 79,5 % a nosiček *BRCA2* mutace do 88 %, riziko ovariálního karcinomu je uváděno 65 % pro *BRCA1* nosičky a 37 % pro nosičky *BRCA2*. Obecně jsou uváděna rizika onemocnění nádorem prsu do 75 let pro oba geny 85 %, rizika druhostranného karcinomu prsu 40–60 %. Kumulativní rizika pro nádory vaječníků jsou u nosiček *BRCA1* mutace 39–65 %, u nosiček *BRCA2* 11–37 % [11–16]. Rizika onemocnění jsou variabilní i v rámci jedné rodiny.

Geny *BRCA1* a *BRCA2* jsou tumor supresorové geny, které kódují jaderné fosfoproteiny, které se jako součást multiproteinových komplexů podílejí na zprostředkování oprav dvouřetězcových zlomů DNA, především cestou homologní rekombinace, a taktéž na regulaci buněčného cyklu a transkripce [17,18].

Nejčastější patogenní mutací v těchto genech jsou krátké inserce a delece způsobující posun čtecího rámce (frameshift) a předčasné ukončení translace s vytvořením zkráceného, nefunkčního proteinu. Missense mutace tvoří jen malou část ze všech kauzálních mutací a jejich klasifikace je v řadě případů problematická [19,20]. Pokud nejsou dostupné funkční testy, jsou často uváděny jako varianty s neznámým klinickým účinkem. Na základě multifaktoriálního pravděpodobnostního modelu lze stanovit pravděpodobnostní poměr patogenity, který bere v úvahu

výsledky segregačních analýz, zda byla sledovaná varianta zachycena v pozici „trans“ s jinou patogenní mutací nebo zda byla zachycena také v homozygotním stavu, zohledňuje osobní a rodinnou anamnézu a patologický profil nádoru [21,22]. Další možnosti jsou „in silico“ analýzy založené na míře evoluční konzervativnosti sekvence jako např. Align-GVGD (<http://agvgd.iarc.fr/>); PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>), SIFT (<http://sift.bii.a-star.edu.sg/>), které mohou pomoci identifikovat potenciálně významné změny [22]. S ohledem na výše uvedené možnosti byla vytvořena pětistupňová IARC klasifikace (viz dále) významnosti missense variant [22,23].

Genetické testování zárodečných *BRCA1/2* mutací se provádí dle konsenzuálních kritérií, po genetickém poradenství (indikuje lékařský genetik dle osobní a rodinné anamnézy) a na základě písemného souhlasu testované osoby. Výsledky jsou uvolňovány lékařským genetikem při osobní konzultaci.

V současné době s rozvojem personalizované léčby vznikl zvýšený požadavek na testování genů *BRCA1/2* pro účely nasazení nových léčebných modalit, jak u nádorů prsu, tak u nádorů ovarií [24–27]. Inhibitory PARP, poly(ADP-ribóza)polymerázy reprezentují novou léčebnou modalitu pro pacientky s germinální nebo somatickou *BRCA1/2* mutací. V tomto případě rozhodují o indikaci k testování onkologové a onkogynekologové, nicméně výsledky genetického vyšetření dědičných mutací, které vždy předchází případnému vyšetření somatických mutací v nádorové tkáni, musí být pacientce referovány lékařským genetikem pro účely genetického poradenství v rodině. Stále je klinicky nejdůležitějším a nejefektivnějším důvodem testování *BRCA1/2* možnost preventivních zásahů u zdravých nosiček a včasná minimalizace rizika onemocnění i pomocí preventivních operací.

Indikační kritéria k testování zárodečných mutací v genech *BRCA1/2*

V roce 2009 pracovní komise složená z lékařských genetiků, onkologů i gynekologů publikovala po schválení od-

bornými společnostmi základní kritéria k rozhodování o testování germinálních mutací v genech *BRCA1/2* u pacientek nebo v rodinách s nádory prsu/ovaria [28]. Všeobecně se doporučuje testování v takových případech, kdy primární pravděpodobnost nalezení mutace převyšuje 10 %. U neselektovaných karcinomů prsu se uvádí asi 3–7% zachytlost mutací [29,30], u neselektovaných nádorů ovarií se však frekvence mutací uvádí v novějších publikacích nad 10 % [30,31]. Je nutné, aby se tato předpokládaná významná četnost dědičných karcinomů ovarií odrazila i v úpravě indikací, neboť profylaktické operace pomocí adnexektomií jsou nejúčinnější prevencí většinou neléčitelného onemocnění u nosiček mutací. Podle současných publikovaných kritérií je detekovaná patogenní mutace u asi 23 % testovaných probandek s nádorem prsu nebo ovaria [19]. Je tedy nutné kritéria upravit a umožnit četnější zachyt dědičně disponovaných osob.

S rozvojem NGS je postupně převládána diagnostika individuálních genů na komplex několika desítek i stovek genů. Tento přechod znamená možnosti zachytu predisponujících mutací i v jiných genech a rozšiřuje spektrum možných pozitivních výsledků [5,32]. Biologická a klinická interpretace těchto výsledků je složitá. Může se jednat o nález diskordantní, tj. nalezená mutace v genu neodpovídá dosavadní osobní a rodinné anamnéze, nebo se jedná o nález mutací v málo penetrantních genech, je zachycena polygenní etiologie nebo se jedná o varianty neznámého klinického účinku v různých genech. Nově navrhovaná rozšířená kritéria jsou uvedena v tab. 1.

Negativní prediktivní test neznamena populační riziko nádoru prsu, ale dle studií mírně zvýšené riziko karcinomu prsu vzhledem k předpokládanému genetickému pozadí [34]. Je nutné navrhnout roční preventivní kontroly prsou včetně ultrazvuku nebo mamografie.

Poznámky k tab. 1

- Příímí příbuzní prvního stupně, přes otce druhého.
- Bilaterální karcinom prsu nebo ipsilaterální jednoznačně víceložiskový syn-

Tab. 1. Indikační kritéria modifikovaná (dle NCCN, National Comprehensive Cancer Guidelines, 2015 [33], schválená Společností lékařské genetiky a genomiky ČLS JEP).

Sporadické formy

- epitelový karcinom ovaria/tuby/primární peritoneální karcinom v jakémkoliv věku
- triple negativní karcinom (receptory ER, PR a HER2 negativní) prsu do 60 let (medulární karcinomy prsu se téměř vždy shodují s TNBC)
- unilaterální karcinom prsu do 45 let (do 50 let pokud není známá vůbec rodinná anamnéza)
- dva samostatné primární karcinomy prsu, první do 50 let, nebo oba do 60 let (bilaterální nebo ipsilaterální/synchronní nebo metachronní)
- duplicita karcinomu prsu a slinivky v jakémkoliv věku
- karcinom prsu u muže v jakémkoliv věku

Familiární formy (karcinom ovaria, tuby nebo primární peritoneální v rodinné anamnéze je vždy indikací k testování)

3 příbuzní

- alespoň 3 příímí příbuzní (včetně probandky) s karcinomem prsu v jakémkoliv věku

2 příbuzní

- 2 příímí příbuzné (včetně probandky) s karcinomem prsu, alespoň jedna diagnostikována ve věku pod 50 let, nebo obě do 60 let (empirické riziko karcinomu prsu je pro příímí příbuzné nad 20 %, tj. vysoké, a doporučujeme MRI prsou)
- probandka s karcinomem prsu do 50 let s příímým příbuzným s nádorem spojeným s HBOC (především karcinom slinivky, prostaty)

prediktivní testování známé rodinné mutace u příbuzných od 18 let věku (ve zvláštních případech individuálně)

TNBC – triple negativní karcinom prsu, HBOC – hereditární karcinom prsu a ovaria

chronní nebo asynchronní je brán jako dva nádory.

- *BRCA1/2* pozitivní nádory ovarií nejsou většinou mucinózní.
- Karcinomy ovarií/tuby/primární peritoneální jsou často spojeny i s Lynchovým syndromem, non-epiteliální s Peutz-Jeghersovým syndromem, event. jinými syndromy.
- V rodinách, kde již nežije proband s nádorovým onemocněním, je možné testování příbuzných v riziku dle uvedených kritérií.
- V rodinách s nádory prsu je vysoká frekvence fenokopí (asi 12 %), proto pokud je negativně testovaná probandka, je vhodné zvážit testování i další pacientky s vysokou pravděpodobností nosičství *BRCA1/2* mutace [34,35].
- Pacienti po alogenní transplantaci kostní dřeně nemohou mít molekulární genetické testování z krve, je vhodné

z jiné dostupné tkáně nebo z bukalní sliznice (i zde možná kontaminace).

Výsledky genetického testování

V genetické zprávě jsou pacientovi přídávány výsledky typu:

- Je zjištěna **patogenní mutace** ve vysoce penetrantním genu.
- Je zjištěna **varianta s neznámým klinickým účinkem** ve vysoce penetrantním genu, klasifikace dle IARC třída 3–5 [22,23] (varianty třídy 1 a 2 pacientům nejsou referovány):
 - u klasifikace třídy 3 – nejasného významu (nehodnoceno) – prediktivní testování je sporné a není indikováno;
 - u klasifikace třídy 4 – pravděpodobně patogenní (na základě predikce a multifaktoriálních studií) – je prediktivní testování indikováno, u negativně testovaných vhodná prevence dle rizika rodinné anamnézy;

- u klasifikace třídy 5 – definitivně patogenní mutace (nezvratné potvrzení na základě multifaktoriálních studií, případně potvrzení funkčním testem).
- Patogenní mutace ve středně rizikových genech (např. *CHEK2* aj.) – většinou však neexistují zcela jasné guidelines pro preventivní péči [36]. U pozitivního nálezu tam, kde empirická rizika rodinné anamnézy převyšují publikovaná rizika středně rizikového genu, se doporučuje návrh prevence dle rodinné anamnézy, stejně tak i u negativního prediktivního testu u zdravých příbuzných (nelze vyloučit možné jiné geny).

Testování pro účely onkologické léčby

V současné době je onkolog indikován urgentní testování kvůli léčbě:

A. U patientek splňujících genetická indikační kritéria k testování

V situaci, kdy jedinou indikací k adjuvantní radioterapii je parciální výkon a mastektomií indikovanou z důvodu mutace genů *BRCA1/2* by pacientka mohla radioterapii předejít.

Při rozhodování o typu operace – parciální mastektomie (pokud je technicky možná), nebo bilaterální mastektomie (v případě přítomnosti mutace genů *BRCA1/2*).

Jaký typ chemoterapie nasadit – otázka zařazení platinového derivátu.

B. Indikuje onkolog/gynekolog

Při zařazení léčby PARP inhibitory do léčby ovariálního karcinomu podle daných kritérií (high-grade serózní, po 2. linii chemoterapie a nejméně šestměsíční remisi, indikuje onkolog/gynekolog) CAVE všechny pacientky s karcinomy ovarií jsou indikovány z genetického hlediska k testování *BRCA1/2* dle nových kritérií, proto je vhodné je odesílat k testování co nejdříve po diagnóze.

Doporučení

- Urgenci testování kvůli léčbě určuje onkolog, gynekolog, chirurg, plastický chirurg aj.
- Odesílá pacientku **urgentně na genetickou poradnu** (vynechání pouze v odůvodněných případech).

- **Na žádosti o urgentní poradnu a testování je vhodné uvést důvod a termín potřebných výsledků** (dostupnost dle laboratoře, většinou za 1–3 měsíce).
- **Laboratorní výsledek** musí být předán genetikem lékaři ihned po ukončení testování.
- Genetická konzultace s osobním předáním výsledků a lékařské zprávy pacientce (nebo oprávněnému příbuznému) proběhne později a je vždy nutná.

Závěr

Testování zárodečných mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2* je stále více důležitou součástí preventivní péče o rizikové ženy i součástí onkologické léčby. Způsob laboratorního vyšetření by měl odpovídat současným nejlepším možnostem, tj. s využitím vysoce senzitivních screeningových metod, ale i přímým Sangerovým sekvenováním, NGS (masivním paralelním sekvenováním) s doplněním analýz ke zjištění velkých přestaveb genů [37]. Senzitivita těchto metod je pravděpodobně srovnatelná, nicméně je důležitá **pravidelná mezinárodní kontrola kvality všech laboratoří testujících pro klinické účely**. Bez ní není schopnost laboratoře zachytit maximum mutací ověřitelná. Tyto výsledky by měly být zveřejňovány na webových stránkách pracoviště.

Interpretace výsledků je důležitá jak z biologického hlediska, tak z hlediska klinického v kontextu celé osobní a rodinné anamnézy. Je za ni zodpovědný molekulární genetik a lékařský genetik. Je nutné klasifikovat, zda se jedná o patogenní mutaci nebo variantu s neznámým klinickým účinkem, event. se snažit o experimentální ověření např. u suspektních sestřihových mutací analýzou mRNA.

Za indikace k testování genů *BRCA1/2*, event. jiných rizikových genů je zodpovědný lékařský genetik, po domluvě s onkologem, event. jiným lékařem indikujícím genetickou konzultaci. Pro účely nasazení **PARP inhibitorů** je indikujícím lékařem onkolog/onkogynekolog, který pacienta léčí. Vždy je však nutné postupovat standardním způsobem – **žádanka s urgentním požadav-**

kem a zdůvodněním včetně časového požadavku – genetické poradenství v co nejkratším termínu – testování v co nejkratším termínu – předání laboratorního výsledku onkologovi/onkogynekologovi do nemocničního systému – pozvání pacientky do genetické poradny s předáním výsledků a doporučením další preventivní péče a prediktivního testování v rodině. Pokud nebude toto prováděno přes genetikou ambulanci, bude většina důležitých preventivních a prediktivních informací pro pacientku i rodinu ztracena.

Nová kritéria ke genetickému testování *BRCA1/2* genů pro hereditární syndrom karcinomu prsu a ovarií rozšiřují testování pro všechny ženy s **karcinomem ovarií bez věkové limitace**, bez limitace histologické, přestože mucinózní karcinom ovarií je u nosiček mutací *BRCA1/2* vzácný. Dále rozšiřují testování pro **pacientky se sporadickým triple negativním karcinomem prsu do 60 let**, pro rodiny s **kombinací nádorů prsu/vaječníků a prostaty nebo pankreatu**.

Každá rodina je jedinečná a je vždy individuálně zvažováno lékařským genetikem, zda existují další možné rizikové faktory, které zvyšují pravděpodobnost hereditární etiologie.

Literatura

1. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene *BRCA1*. *Science* 1994; 266(5182): 66–71.
2. Wooster R, Bignell G, Lancaster J et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene *BRCA2*. *Nature* 1995; 378(6559): 789–792.
3. Apostolou P, Fostira F. Hereditary breast cancer: the era of new susceptibility genes. *Biomed Res Int* 2013; 2013: ID747318. doi: 10.1155/2013/747318.
4. Lalloo F, Evans DG. Familial breast cancer. *Clin Genet* 2012; 82(2): 105–114. doi: 10.1111/j.1399-0004.2012.01859.x.
5. Gracia-Aznaves FJ, Fernandez V, Pita G et al. Whole exome sequencing suggests much of non-*BRCA1/BRCA2* familial breast cancer is due to moderate and low penetrance susceptibility alleles. *PLoS One* 2013; 8(2): e55681. doi: 10.1371/journal.pone.0055681.
6. Kleibl Z, Novotný J, Bezdičková 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.
7. Bogdanova N, Helvit S, Dörk T. Hereditary breast cancer: ever more pieces to the polygenic puzzle. *Hered Cancer Clin Pract* 2013; 11(1): 12. doi: 10.1186/1897-4287-11-12.
8. Balmaña J, Diez O, Rubio IT et al. *BRCA* in breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol* 2011; 22 (Suppl 6): vi31–vi34. doi: 10.1093/annonc/mdr373.
9. Matějů M, Stribrna J, Zikan M et al. Population-based study of *BRCA1/2* mutations: family history based criteria

- identify minority of mutation carriers. *Neoplasma* 2010; 57(3): 280–285.
10. Evans DG, Shenton A, Woodward E et al. Penetrance estimates for BRCA1 and BRCA2 based on genetic testing in a Clinical cancer genetics service setting: risks of breast/ovarian cancer quoted should reflect the cancer burden in the family. *BMC Cancer* 2008; 8: 155. doi: 10.1186/1471-2407-8-155.
 11. Ford D, Easton DF, Stratton M et al. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. *Am J Hum Genet* 1998; 62(3): 676–689.
 12. Thompson D, Easton DF. Breast Cancer Linkage Consortium. Cancer incidence in BRCA1 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94(18): 1358–1365.
 13. Brose MS, Rebbeck TR, Calzone KA et al. Cancer risk estimates for BRCA1 mutation carriers identified in a risk evaluation program. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94(18): 1365–1372.
 14. Antoniou A, Pharoah PD, Narod S et al. Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. *J Hum Genet* 2003; 72(5): 1117–1130.
 15. Chen S, Parmigiani G. Meta-analysis of BRCA1 and BRCA2 Penetrance. *J Clin Oncol* 2007; 25(11): 1329–1333.
 16. Finch A, Evans G, Narod SA. BRCA carriers, prophylactic salpingo-oophorectomy and menopause: clinical management considerations and recommendations. *Women's Health* 2012; 8(5): 543–555. doi: 10.2217/whe.12.41.
 17. Liu Y, West SC. Distinct functions of BRCA1 and BRCA2 in double-strand break repair. *Breast Cancer Res* 2002; 4(1): 9–13.
 18. Yoshida K, Miki Y. Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, transcription, and cell cycle in response to DNA damage. *Cancer Sci* 2004; 95(11): 866–871.
 19. Machackova E, Foretova L, Lukesova M et al. Spectrum and characterisation of BRCA1 and BRCA2 deleterious mutations in high-risk Czech patients with breast and/or ovarian cancer. *BMC Cancer* 2008; 8: 140. doi: 10.1186/1471-2407-8-140.
 20. Claes K, Poppe B, Machackova E et al. Differentiating pathogenic mutations from polymorphic alterations in the splice sites of BRCA1 and BRCA2. *Genes Chromosomes Cancer* 2003; 37(3): 314–320.
 21. Easton DF, Deffenbaugh AM, Pruss D et al. A systematic genetic assessment of 1,433 sequence variants of unknown clinical significance in the BRCA1 and BRCA2 breast cancer susceptibility genes. *Am J Hum Genet* 2007; 81(5): 873–883.
 22. Lindor NM, Guidugli L, Wang X et al. A review of a multifactorial probability based model for classification of BRCA1 and BRCA2 variants of uncertain significance (VUS). *Hum Mutat* 2012; 33(1): 8–21. doi: 10.1002/humu.21627.
 23. Plon SE, Eccles DM, Easton D et al. Sequence variant classification and reporting: recommendations for improving the interpretation of cancer susceptibility genetic test results. *Hum Mutat* 2008; 29(11): 1282–1291. doi: 10.1002/humu.20880.
 24. Ledermann J, Harter P, Gourley C et al. Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed serous ovarian cancer: a preplanned retrospective analysis of outcomes by BRCA status in a randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15(8): 852–861. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70228-1.
 25. Ledermann J, Harter P, Gourley C et al. Olaparib maintenance therapy in platinum-sensitive relapsed ovarian cancer. *N Engl J Med* 2012; 366(15): 1382–1392. doi: 10.1056/NEJMoa1105535.
 26. Reinbolt RE, Hays JL. The role of PARP inhibitors in the treatment of gynecologic malignancies. *Front Oncol* 2013; 3: 237. doi: 10.3389/fonc.2013.00237.
 27. Telli ML, Ford J. PARP Inhibitors in breast cancer. *Clin Adv Hematol Oncol* 2010; 8(9): 629–635.
 28. Plevová P, Novotný J, Petráková K et al. Syndrom hereditárního karcinomu prsu a ovarií. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl): S8–S11.
 29. Newman B, Mu H, Butler LM et al. Frequency of breast cancer attributable to BRCA1 in a population based series of American women. *JAMA* 1998; 279(12): 915–921.
 30. Minion LE, Dolinsky JS, Chase DM et al. Hereditary predisposition to ovarian cancer, looking beyond BRCA1/BRCA2. *Gynecologic Oncology* 2015; 137(1): 86–92. doi: 10.1016/j.jygyno.2015.01.537.
 31. Song H, Cicek MS, Ficka E et al. The contribution of deleterious germline mutations in BRCA1, BRCA2 and the mismatch repair genes to ovarian cancer in the population. *Hum Mol Genet* 2014; 23(17): 4703–4709. doi: 10.1093/hmg/ddu172.
 32. Walsh T, Casadei S, Lee MK et al. Mutation 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. doi: 10.1073/pnas.1115052108.
 33. NCCN Guidelines Version 2.2015 [online]. Hereditary breast and/or ovarian cancer syndrome. National Comprehensive Cancer Network. Available from: http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp.
 34. Smith A, Moran A, Boyd MC et al. Phenocopies in BRCA1 and BRCA2 families: evidence for modifier genes and implications for screening. *J Med Genet* 2007; 44(1): 10–15.
 35. Fischer C, Engel C, Sutter C et al. BRCA1/2 testing: uptake, phenocopies and strategies to improve detection rates in initially negative families. *Clin Genet* 2012; 82(5): 478–483. doi: 10.1111/j.1399-0004.2011.01788.x.
 36. Pohlreich P, Kleibl Z, Kleiblová P. Klinický význam analýz genů středního rizika pro hodnocení vzniku karcinomu prsu a dalších nádorů v České republice. *Klin onkol* 2012; 25 (Suppl): S59–S66. doi: 10.14735/amko2012 S59.
 37. Vasicova P, Machackova E, Lukesova M et al. High occurrence of BRCA1 intragenic rearrangements in hereditary breast and ovarian cancer syndrome in the Czech Republic. *BMC Med Genet* 2007; 8: 32.

Syndrom hereditárního karcinomu prsu a ovarií

Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome

Petráková K.¹, Palácová M.¹, Schneiderová M.², Standara M.²

¹ Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

² Oddělení radiologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn

Jedinci se syndromem hereditárního karcinomu prsu a ovarií, tedy nosičky mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2*, mají vyšší riziko vzniku karcinomu prsu, ovarií a v menší míře i jiných solidních nádorů, např. karcinomu pankreatu, maligního melanomu a karcinomu prostaty u mužů – nosičů *BRCA1/2* mutací. S rostoucími zkušenostmi se upřeshňují i doporučení pro screening a snížení rizika vzniku malignit ve formě profylaktických operací. Ženy se syndromem hereditárního karcinomu prsu ve věku 25–29 let by měly být sledované v půlročních intervalech, součástí sledování by mělo být vyšetření pomocí UZ a MRI, od 30 do 65 let věku potom střídání MRI a mamografie. Screening karcinomu pankreatu je vhodné zvážit u nosičů mutací *BRCA1/2*, kteří mají v rodině dva příbuzné nebo jednoho prvostupňového příbuzného s karcinomem pankreatu. Screening karcinomu prostaty doporučujeme pro nosiče mutací genu *BRCA2* od věku 40 let a zvážit screening u nosičů mutace *BRCA1*. Screening maligního melanomu doporučujeme zvážit individuálně, podle výskytu v rodině.

Klíčová slova

syndrom hereditárního karcinomu prsu a ovarií – mutace *BRCA1* – mutace *BRCA2* – karcinom prsu – karcinom pankreatu – karcinom prostaty – maligní melanom

Summary

Population with hereditary breast and ovarian cancer syndrome, i.e. *BRCA1/2* mutation carriers, are at higher risk of developing breast and ovarian cancer as well as other solid tumours such as pancreatic cancer, prostate cancer and melanoma. With the increasing experience, screening recommendations and preventive strategies including prophylactic surgery are being settled. Surveillance of women with hereditary breast cancer syndrome comprises clinical breast examination every six months, breast ultrasound and MRI in patients aged 25 to 29 and MRI and mammography in women aged 30 to 65. Screening of pancreatic cancer should be considered in *BRCA1/2* mutation carriers, who have two cases of pancreatic cancer in their family lineage or one first-degree relative with pancreatic cancer. Prostate cancer screening should be recommended to *BRCA2* carriers from the age of 40 onwards and it should be considered in *BRCA1* carriers as well. Screening for melanoma should be recommended on an individual basis with regards to a family history.

Key words

hereditary breast and ovarian cancer syndrome – *BRCA1* gene – *BRCA2* gene – breast cancer – pancreatic cancer – prostate cancer – malignant melanoma

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 recommendation for biomedical papers.



MUDr. Katarína Petráková, Ph.D.

Klinika komplexní onkologické péče
Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
656 53 Brno
e-mail: petrakova@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 14. 8. 2015

Přijato/Accepted: 6. 10. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2016S14>

Úvod

V roce 2009 byla v Klinické onkologii publikována doporučení ke sledování žen se syndromem hereditárního karcinomu prsu a ovarií jako konsenzus mezioborové diskuze [1]. V důsledku rostoucích zkušeností s testováním a péčí o jedince s tímto syndromem se upřesňují i doporučení pro jejich screening a možnosti snížení rizika vzniku malignit hlavně ve formě profylaktických operací. V článku jsou uvedené nové poznatky týkající se syndromu hereditárního karcinomu prsu a ovarií a nová doporučení pro screening nosičů mutací genů *BRCA1/2*. Gynekologická prevence a gynekologické aspekty péče u nosiček mutací genů *BRCA1/2* jsou uvedené v dalším souhrnném článku.

Charakteristika syndromu

Mutace genů *BRCA1/2* způsobují zvýšené riziko vzniku různých malignit, především pak karcinomu prsu a ovarií. Potomci nosiče jedné z těchto mutací mají 50% pravděpodobnost, že mutaci zdědí. Mutace jsou vysoce penetrantní. Ne všechny mutace jsou však zděděné. V populaci se mohou objevit i sporadické mutace vzniklé *de novo*, a to jak v somatických buňkách, tak v zárodečných buňkách (vajíčku nebo spermii). Pro vznik nádoru je nutná alterace druhé kopie v genu, která mutaci nese (double-hit hypothesis) [2]. Projevy syndromu hereditárního karcinomu prsu a ovarií u jednotlivých členů rodiny s mutací mohou být interindividuálně variabilní. Výskyt karcinomu prsu a současně karcinomu vaječníků v jedné rodině je až v 90 % způsoben mutací genů *BRCA1* nebo *BRCA2* [3]. V různých populacích je různá četnost těchto mutací, nejčastější je u populace aškenázských Židů.

Celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu u nosiček mutací genu *BRCA1* je 40–87 % a u nosiček mutací genu *BRCA2* 18–88 %. Celoživotní riziko vzniku ovariálního karcinomu u nosiček mutací *BRCA1* je 22–65 % a nosiček mutací *BRCA2* 10–35 % [4]. Karcinomy prsu vzniklé u nosiček mutací *BRCA1* genu jsou často triple negativní. Podle výsledků klinických studií je výskyt mutací *BRCA1* genu u pacientek s triple

negativním karcinodem prsu 9–21 %. Až 39 % pacientek s triple negativním karcinodem prsu mladších 40 let jsou nosičky mutací genů *BRCA1/2* (mutace *BRCA1* 30 %; mutace *BRCA2* 9 %) [5]. Riziko vzniku kontralaterálního karcinomu prsu u nosiček mutací je také vysoké. Kumulativní riziko vzniku kontralaterálního karcinomu prsu u pacientek s diagnózou jednostranného karcinomu prsu ve věku 70 let je 83 % pro nosičky mutací *BRCA1* a 62 % pro nosičky mutací *BRCA2* genu [6].

Muži s diagnózou karcinomu prsu jsou často nosiči mutací *BRCA* genů, hlavně *BRCA2*. Muži s mutací *BRCA2* genu mají celoživotní riziko pro vznik karcinomu prsu až 8 %, muži s mutací *BRCA1* 1,2 % [7].

Mutace genů *BRCA1/2* jsou spojeny i s vyšším rizikem epiteliálního ovariálního karcinomu (vyskytuje se na povrchu ovarií). U pacientek se serózním ovariálním karcinodem vyššího gradu byly prokázány mutace genů *BRCA1* a *BRCA2* až v 11 % případů [8]. Ovariální nádory, které nemají epiteliální původ, jako např. nádory germinální a nádory z gonadálního mezodermu, nejsou asociované s mutacemi genů *BRCA1/2*. Zdá se, že nádory asociované s mutacemi genů *BRCA1/2* jsou více chemosenzitivní než nádory sporadické a mají lepší prognózu, hlavně nádory asociované s mutacemi v genu *BRCA2* [9]. Časným prekurzorem serózního ovariálního karcinomu je tubární intraepiteliální karcinom, který bývá v 5–8 % případů náhodným nálezem u gynekologických operací nosiček mutací genů *BRCA1/2* [10]. Podle některých analýz mají nosičky mutací i vyšší riziko karcinomu dělohy, a to hlavně agresivnějších typů [11]. Vyšší výskyt endometriálního karcinomu se však dává do souvislosti spíše s vyšším profylaktickým užíváním tamoxifenu u této skupiny žen než se samotnou mutací genů *BRCA1/2* [12].

V rodinách s mutacemi *BRCA1/2* genů byl pozorován vyšší výskyt i jiných solidních nádorů, a to hlavně karcinomu prostaty, pankreatu, kolorektálního karcinomu (colorectal carcinoma – CRC) a maligního melanomu. Vyšší riziko karcinomu prostaty mají nosiči mutací genu *BRCA2* (2–6krát vyšší riziko vzniku

karcinomu prostaty ve srovnání s běžnou populací) [13,14]. Jejich odhadované celoživotní riziko je 20 %, zatímco pro nosiče mutací genu *BRCA1* je to 9,5 % ve věku 65 let, tedy podobně jako je tomu u sporadických karcinomů. Karcinom prostaty se u jedinců s mutacemi genů *BRCA1/2* objevuje v mladším věku, má agresivnější fenotyp (Gleason skóre ≥ 8), častěji se jedná o špatně diferencovaný karcinom (84 vs. 52,7 %) a je většinou diagnostikován v pokročilejším stadiu (T3–4: 79 vs. 36 %). Karcinom prostaty asociovaný s mutacemi genů *BRCA1/2* má horší prognózu ve srovnání se sporadickým karcinodem (2 roky vs. 12 let; $p < 0,001$). Lepší léčebná odpověď na platinové deriváty u pacientů s mutacemi ve srovnání se sporadickými karcinomy prostaty nebyla zatím prokázána. Další zlepšení léčebných výsledků u nádorů asociovaných s mutacemi genů *BRCA1/2* by mohly přinést PARP inhibitory (preparáty způsobující „synтетickou letalitu“), které jsou již schváleny k léčbě metastatického ovariálního karcinomu. U dalších solidních nádorů zatím probíhají klinické studie, na výsledky kterých čekáme [15–17].

U nosičů mutací genu *BRCA2* byl popsán i vyšší výskyt karcinomu pankreatu ve srovnání s běžnou populací. Prvním autorem, který poukázal na tento fakt, byl Goggins [18]. V souboru 41 nosičů mutací *BRCA2* byl výskyt karcinomu pankreatu 7 %. V recentně publikované práci byla pozorována až 22krát vyšší četnost karcinomu pankreatu u nosičů mutace *BRCA2* než v běžné populaci, přičemž muži měli až 82,5krát vyšší výskyt a ženy 14krát vyšší výskyt [19]. Pro nosiče mutací *BRCA1* nejsou údaje jednoznačné. Některé práce uvádějí vyšší výskyt karcinomu pankreatu u nosičů této mutace až 2,26krát (95% CI 1,26–4,06), jiné nikoliv [19–21]. Vyšší výskyt karcinomu pankreatu byl prokázán i u jedinců s familiálním výskytem karcinomu pankreatu. Předpokládá se, že jedinci se třemi a více příbuznými s karcinodem pankreatu, z nichž je jeden prvostupňovým příbuzným, mají vyšší riziko vzniku karcinomu pankreatu a měl by jim být nabídnut screening [22].

Rizikovým faktorem pro vznik karcinomu pankreatu je i kouření, vyšší pří-

jem alkoholu (tři a více alkoholických nápojů denně), chronická pankreatitida, diabetes mellitus hlavně typ 1 a vyšší BMI (body mass index) [23,24]. Zdá se, že i karcinom pankreatu asociovaný s mutacemi genů *BRCA1/2* má lepší léčebnou odpověď na platinové deriváty ve srovnání s jinými cytostatiky, podobně jako je tomu u pacientek s karcinomem prsu nebo karcinomem ovarií [25].

Recentně byly publikovány výsledky prospektivní studie, ve které byla sledována incidence CRC u nosiček mutace *BRCA* v 50 kanadských, amerických a evropských centrech. Medián věku souboru byl 43,7 roku. Pro nosičky mutace *BRCA1* mladší 50 let byla roční incidence CRC 62 na 100 000 za rok a pro nosičky mutace *BRCA2* 40 na 100 000 za rok. Podle analýzy podskupin měly nejvyšší incidenci ženy ve věku 40–49 let, a to 84,2 na 100 000 za rok. Časný výskyt CRC byl pozorován pouze u nosiček mutace *BRCA1* [26].

Screening

Screening syndromu hereditárního karcinomu prsu

Dle platných doporučení (ACSO, NCCN, EUSOMA) je u žen s vysokým rizikem vzniku karcinomu prsu (nosiček patologických genetických mutací) vhodný intenzivní screening karcinomu prsu. Screeningový program, který postihne celou dobu rizika (začíná již od 25.–30. roku věku), je minimálně každoroční, lépe půlroční a vedle mamografie (MG) i s použitím MRI, která je zde vedoucí vyšetřovací metodou.

Uplynula určitá doba od posledního vydání doporučení péče o ženy s hereditárním rizikem vzniku karcinomu prsu, a tak se nabízí otázka, zda s větší zkušeností a s narůstajícím počtem sledovaných rizikových žen jsou všechna uvedená doporučení stále platná a zda není vhodná aktualizace nebo změna, byť dílčí. Jednou z otázek může být interval sledování žen pomocí zobrazovacích metod. Půlroční interval se zdá být optimální. Při ročním intervalu sledování je patrný výskyt intervalových karcinomů (rychlý růst *BRCA* tumorů, obtížnější detekce *BRCA* tumorů v zobrazovacích metodách).

MRI je hlavní vyšetřovací metodou u žen s hereditárním rizikem vzniku kar-

cinomu prsu a u této skupiny žen má nejvyšší senzitivitu. I přes její jednoznačně vedoucí úlohu ve screeningu těchto žen má kombinace zobrazovacích metod podle publikovaných prací vyšší výtěžnost. MG je „zlatý standard“ mamární diagnostiky, se kterou je vysoká a obecně rozšířená zkušenost. Její přínos je hlavně v průkazu nebo vyloučení mikrokalcifikací. UZ se používá jako doplňující metoda. Jeho nevýhodou je časová náročnost a subjektivní hodnocení, což vyžaduje vysoké zkušenosti radiodiagnostika (expertní UZ) [27–29].

Začátek sledování žen s vysokým rizikem vzniku karcinomu prsu se liší v různých zemích, pracovištích i oficiálních doporučeních (NCCN 25 let, ESMO 25–30 let, NICE 30 let, USPSTF nedává). Pro určité, nízké riziko radiační indukce karcinomu prsu se doporučuje MG od 30 let nebo až 35 let, nejpозději ale od 40 let [29]. Nově se navrhuje provedení jedné „startovní“ MG na začátku sledování (k vyloučení mikrokalcifikací), další MG pak s odstupem. Vzhledem k časnému věku zahájení screeningu je často obava z radiačního rizika u těchto pacientek. Práce harvardských autorů hodnotí i případné radiační riziko – je do 2 % u screeningu MRI/MG od 25 let u obou *BRCA* mutací, snížení mortality u nosiček *BRCA1* mutace je 16,7 %, u nosiček mutace *BRCA2* pak 31,1 % bez ohledu na radiační riziko. S ohledem na možné radiační riziko je pak snížení mortality 15,4 % pro mutaci *BRCA1* a 28,6 % pro mutaci *BRCA2* [30].

Riziko nosiček *BRCA1/2* mutací je celoživotní, od 25 do 75 let. Křivka rizika s věkem kontinuálně stoupá. Studie i metaanalýzy udávají u nosiček mutací *BRCA1/2* genů nízkou senzitivitu MG (33 %) i u nízké denzní mléčné žlázy [31,32]. Ve většině doporučení není horní hranice uvedena – nejspíše se automaticky počítá do 70–75 let (NCCN do 75 let, pouze NICE doporučuje do 49 let).

Riziko vzniku CRC prsu u nosiček mutací *BRCA1/2* genů je 62–83 % [5]. Proto je důležité sledovat ženy, které jsou po léčbě časného karcinomu prsu a jsou nosičky mutací *BRCA1/2*, stejně jako zdravé nosičky.

Zvláštní skupinu tvoří ženy s mutací *BRCA1/2* genu po profylaktické bilate-

rální mastektomii. Otázkou zůstává, zda i tyto ženy sledovat pomocí zobrazovacích metod. Riziko vzniku karcinomu prsu je po profylaktické mastektomii výrazně sníženo, nikdy ale ne zcela, zvláště pokud je ponechán areolo-mamilární komplex. Objevují se případy vzniku nádoru prsu i po profylaktických operacích (jejich počet nejspíše souvisí se stoupajícím počtem operací a dobou od jejich provedení). Proto se kloníme ke sledování i těchto žen klinicky, a to v intervalu jednoho roku. V případě podezřelého nálezu je vhodné doplnit vyšetření pomocí zobrazovacích metod. Metoda není jednoznačně stanovena, nejlepší možnost zobrazení má MRI (hrudní stěna, celistvost implantátu).

Profylaktická bilaterální adnexektomie snižuje riziko vzniku karcinomu prsu o 53 % u nosiček mutace genu *BRCA1*, o 72 % u nosiček mutace genu *BRCA2* [33,34]. Často se proto diskutuje otázka, zda i tyto ženy sledovat ve stejném algoritmu jako zdravé nosičky mutace. Vzhledem k tomu, že ve srovnání s běžnou populací je riziko vzniku karcinomu prsu zvýšené i po profylaktické adnexektomii, kloníme se ke sledování těchto žen ve stejném algoritmu, jako je tomu u zdravých nosiček.

Nové doporučené schéma sledování nosiček mutací *BRCA1/2*

Samovyšetření prsou od 18 let.

Klinické vyšetření jednou za půl roku od 25 let nebo 10 let dříve, než byl věk nejmladší nemocné příbuzné.

25–29 let: MRI a UZ, střídát po šesti měsících.

V případě výskytu velmi časného karcinomu prsu v rodině začít UZ a MRI vyšetření o 10 let dříve, než byl věk nejmladší nemocné příbuzné.

30–65 let: MRI a MG, střídát po šesti měsících (MG 1krát ročně od 30 let – možnost zařazení určí radiodiagnostik dle typu žlázy).

Ve 25 a 30 letech jedna MG – k vyloučení mikrokalcifikací – jen jedna šikmá (MLO) projekce na každý prs. UZ jako metoda doplňující – v základním schématu není – často je indikován cílený UZ po MRI vyšetření (tzv. 2nd look UZ).

MRI prsů dělat mezi 7. a 17. dnem menstruačního cyklu, MRI nelze použí-

vat v laktaci a je relativně kontraindikována v prvním trimestru gravidity.

65 let a starší: MG a UZ, střídát po šesti měsících (nutné doporučit přísně individuální přístup dle zdravotního stavu ženy).

Edukovat nosičky mutací *BRCA1/2* o přínosu profylaktické mastektomie a bilaterální adnexektomie.

Nosičky mutací *BRCA1/2* s jednostranným karcinomem prsu po léčbě sledovat stejně jako zdravé nosičky.

Screening karcinomu pankreatu

Předpokladem účinného screeningu je zachycení malignity v časném stadiu s možností následného chirurgického řešení. Až 80 % případů karcinomu pankreatu je diagnostikováno v pokročilém stadiu. Předpokládanými rizikovými faktory jsou kromě jiného vyšší příjem alkoholu, kouření a vyšší BMI. Proto je žádoucí upozornit na tento fakt nosiče mutací *BRCA1/2* genů. Dosud nejsou jasné důkazy o tom, že by screening karcinomu pankreatu prodloužil přežití nosičů mutací *BRCA1/2*, což je potřeba mít na paměti při jeho doporučení. Jedním z důvodů může být nízká senzitivita některých vyšetřovacích metod, které byly zvolené ke screeningu, jako např. UZ [35]. Podle výsledků jedné ze studií byla senzitivita UZ vyšetření 7,5 %. Falešná pozitivita přitom dosahovala až 15 % a vyšetření tak zbytečně vedlo k indikaci bioptického vyšetření nebo operace u pacientů, a tím ke zbytečným komplikacím. Resekce pankreatu může být zatížena až 2,5% mortalitou a při větším rozsahu může mít za následek vznik inzulin dependentního diabetu [36].

Počítačová tomografie (CT) je relativně dostupná vyšetřovací metoda. Výhodou je i nižší ekonomická nákladnost ve srovnání s MRI. Nevýhodou je její limitovaná senzitivita, hlavně u menších lézí, vyšší radiační zátěž a nemožnost jejího využití u jedinců s alergií na jód. Výhodou MRI je vysoká diagnostická přesnost a žádná radiační zátěž. K nevýhodám patří vysoké náklady za vyšetření a nízká senzitivita neinvazivních prekurzorových lézí (pancreatic intraepithelial neoplasia – PanIN). Vyšetřovací metodou, která je nejčastěji používána ve

screeningu karcinomu pankreatu, je endosonografie (EUS). Jedná se sice o invazivní metodu, která má ale vysokou rozlišovací schopnost, žádnou radiační zátěž, vysokou diagnostickou přesnost a možnost současného odběru materiálu z podezřelé léze k bioptickému vyšetření. Nevýhodou jsou vyšší náklady na vyšetření, horší dostupnost, vysoká inter-observační variabilita a riziko spojené se sedací. MRI a EUS mohou být komplementární vyšetření. Cystické léze jsou lépe detekovatelné pomocí MRI, zatímco solidní léze pomocí EUS.

Recentně byly publikované výsledky metaanalýzy klinických studií zabývajících se screeningem karcinomu pankreatu u jedinců s vysokým rizikem. Jednalo se o jedince z rodin s mnohočetným výskytem karcinomu pankreatu (dva prvostupňoví příbuzní s karcinomem pankreatu nebo tři příbuzní a více s karcinomem pankreatu, z toho jeden prvostupňový příbuzný). Z celkem 16 klinických studií mělo pět klinických studií i kontrolní rameno. Nejčastěji používanou vyšetřovací screeningovou metodou byla EUS, pomocí které bylo diagnostikováno 64,3 % karcinomů pankreatu. Dalšími použitými vyšetřovacími metodami byly MRI, CT a ERCP (endoscop retrograde cannulation of pancreas), které detekovaly 42,9, 21,4 a 28,6 % karcinomů pankreatu. Vzhledem k uvedeným výsledkům je dnes EUS považována za nejúčinnější screeningové vyšetření u pacientů s vyšším rizikem vzniku karcinomu pankreatu. Jedinci sledovaní screeningovou metodou měli vyšší procento kurativních resekcí, i když ne-signifikantně (60 vs. 25 %; $p = 0,011$), delší medián celkového přežití (overall survival – OS) (14,5 vs. 4 měsíce; $p < 0,001$) a vyšší tříleté OS (20 vs. 15 %; $p = 0,624$) [37].

Nejpoužívanějším biochemickým markerem pro detekci karcinomu pankreatu je marker CA19-9. Pro svoji nízkou prediktivní hodnotu je však vhodný pouze pro sledování pacientů po léčbě karcinomu pankreatu nebo pro sledování průběhu léčby metastatického karcinomu pankreatu, nikoliv však ve screeningu [38].

V roce 2012 bylo publikované mezinárodní doporučení pro screening kar-

cinomu pankreatu, které bylo definované na základě konsenzu panelu odborníků. Základním předpokladem pro doporučení screeningu karcinomu pankreatu pro jedince by měl být předpoklad, že se jedná o kandidáta na chirurgické řešení. Screeningovou vyšetřovací metodou by měla být EUS a/nebo MRI v intervalu 12 měsíců. Podle doporučení jsou za vhodnou cílovou skupinu pro screening považováni nosiči mutace genu *BRCA2*, kteří mají dva příbuzné s karcinomem pankreatu nebo jednoho prvostupňového příbuzného s karcinomem pankreatu. Doporučení pro nosiče mutací *BRCA1* není jednoznačné, stejně jako pro nosiče mutací *BRCA2* bez příbuzných s karcinomem pankreatu. V doporučení se nezmiňuje ani věk nosiče mutace, ve kterém by měl být screening zahájen [39].

Na základě uvedených informací doporučujeme u nosičů mutace genu *BRCA2*, kteří mají prvostupňového příbuzného s karcinomem pankreatu nebo dva příbuzné s karcinomem pankreatu a byli by kandidáti na chirurgické řešení, zvážit screening pomocí EUS v intervalu 12 měsíců. Screening by měl začít ve věku 50 let nebo 10 let předtím, než onemocní nejmladší člen rodiny karcinomem pankreatu.

Screening kolorektálního karcinomu

Recentně publikovaná data incidence CRC u nosiček mutací *BRCA1/2* podporují navržený screening v roce 2009, proto bychom nadále doporučovali kolonoskopii u nosičů mutace od věku 45 let jednou za 3–5 let a test na okultní krvácení jednou za rok [26].

Screening karcinomu prostaty

Nosiči mutace genu *BRCA2* mladší 65 let mají 2,5–8,6krát vyšší riziko vzniku karcinomu prostaty ve srovnání s běžnou populací a 20% celoživotní riziko vzniku karcinomu prostaty. Nosiči mutace genu *BRCA1* mají nižší riziko vzniku karcinomu prostaty než nosiči *BRCA2*. Muži mladší 65 let mají 1,8–4,5krát vyšší riziko vzniku karcinomu prostaty a 9,5% celoživotní riziko vzniku karcinomu prostaty [40,41]. Karcinom prostaty asociovaný s mutacemi genů *BRCA1/2* mívá často agresivnější chování (objevuje se

v mladším věku, postižení lymfatických uzlin, přítomnost vzdálených metastáz v době diagnózy, vyšší Gleason skóre a horší OS) [42].

V současné době probíhá v odborných kruzích diskuze o přínosu screeningu karcinomu prostaty u běžné populace. Vyšetření prostatického antigenu (PSA) v séru má vysokou (> 90 %) senzitivitu. Hladina však může být zvýšená i u pouhé hyperplazie prostaty a lokalizovaných karcinomů prostaty s dobrou prognózou.

Karcinomy prostaty asociované s mutací genů *BRCA1/2* jsou však agresivnější než sporadické karcinomy a mají horší prognózu, proto doporučujeme screening karcinomu prostaty pro nosiče mutace genu *BRCA2* od věku 40 let a zvážit screening u nosičů mutace genu *BRCA1* [43].

Maligní melanom

Nosiči mutací genu *BRCA2* mají podle některých studií vyšší riziko vzniku maligního melanomu, a to i okulárního melanomu (RR 99,4; 95% CI 11,1–359,8) [44].

U nosičů mutací *BRCA1/2* doporučujeme zvážit screening maligního melanomu individuálně, podle výskytu maligního melanomu v rodině.

Redukce rizika vzniku karcinomu prsu a ovariálního karcinomu

Cílem péče o ženy s vysokým rizikem vzniku karcinomu prsu je zvýšit šanci dožít se vysokého věku, zlepšit jejich přežití a snížit incidenci malignit. Toho lze dosáhnout pomocí preventivních chirurgických operací, pravidelnou screeningovou péčí tam, kde nebyly preventivní operace provedeny, dále pomocí chemoprevence, popř. ovlivněním dalších rizikových faktorů. Kombinace více preventivních metod je efektivnější ve srovnání s pouze jedinou intervencí.

Chirurgické metody redukcí riziko u zdravých nosiček mutací v genech *BRCA1/2*

Preventivní bilaterální mastektomie

Retrospektivní analýza s dlouhým mediánem sledování (13–14 let) prokázala přínos preventivní bilaterální mastektomie (PBM). Došlo k redukci rizika vzniku karcinomu prsu nejméně

o 90 % u žen se středním a vysokým rizikem a u žen s prokázanou mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2*. Úmrtnost spojená s karcinomem prsu byla redukována o 81 % ve skupině žen s vysokým rizikem [45,46]. Efektivitu preventivních operací dokládá i další prospektivní studie z Rotterdamu, ve které bylo sledováno 139 nosiček mutací v genech *BRCA1/2*. Během tří let sledování bylo diagnostikováno osm karcinomů prsu ve skupině 63 žen, které si zvolily pouze sledování, ve srovnání se skupinou, kde byla provedena elektivní bilaterální mastektomie. Ve skupině s PBM nebyl nalezen žádný karcinom prsu [47]. Donedávna převažovala data, která vypovídala především o redukci rizika vzniku karcinomu prsu, ale prospektivní data, která by kromě výskytu karcinomu prsu sledovala i přežití žen, byla publikována až v roce 2013. V tomto roce publikovali holanští autoři první prospektivní data, kde byly srovnávány nosičky mutací *BRCA1/2* genů, které podstoupily preventivní bilaterální mastektomii se skupinou nosiček, které byly pravidelně intenzivně sledovány. Celkem bylo zařazeno 570 zdravých žen – 212 jich podstoupilo PBM a 358 žen se rozhodlo pro sledování. Studie probíhala od roku 1994, v úvodu byla prováděna pouze MG 1krát ročně, od roku 1998 byla zařazena i MRI a tyto dvě metody alternovaly až 6 měsíců. Ve skupině žen, které byly pouze sledované, bylo diagnostikováno 57 karcinomů prsu ve srovnání s nulovým počtem nádorů ve skupině žen po preventivní operaci. Jednoznačně byla prokázána redukce rizika vzniku karcinomu prsu, doposud však nebyl prokázán benefit v parametru OS, pouze trend ve skupině s PBM [48].

Provedení PBM by měla předcházet konzultace v multidisciplinárním týmu s cílem diskutovat rizika a benefit operačního řešení a možnosti rekonstrukčních výkonů.

Bilaterální salpingo-oophorectomie s cílem redukce rizika karcinomu prsu

Nosičky mutací v genech *BRCA1/2* mají nejenom vysoké riziko vzniku karcinomu prsu, ale také vysoké riziko vzniku karcinomu ovarií včetně nádorů tuby a primárního peritoneálního karci-

nomu [48–50]. Provedení preventivní gynekologické operace redukuje nejenom riziko vzniku ovariálního karcinomu, ale redukuje u nosiček mutací v genech *BRCA1/2* i riziko vzniku karcinomu prsu přibližně o 50 % [51,52]. V mezinárodní studii Eisena et al byla prokázána redukce vzniku karcinomu prsu při provedení bilaterální salpingo-oophorectomie (BSO) 56 % u nosiček mutací genu *BRCA1* a 43 % u žen s mutacemi v genu *BRCA2* [53].

V dalších dvou studiích srovnávajících riziko vzniku karcinomu prsu u nosiček mutací genů *BRCA1/2* po preventivní BSO ve srovnání se ženami, které byly pouze sledovány, bylo prokázáno hazard ratio (HR) 0,47 a 0,30 [54,55]. Tato data dále podporují výsledky metaanalýzy, která prokázala podobnou redukci rizika vzniku karcinomu prsu kolem 50 % u nosiček mutací genů *BRCA1/2*, které podstoupily BSO [56]. Nicméně data z prospektivní studie naznačují, že BSO může být spojena s větší redukcí rizika u nosiček mutace v genu *BRCA2* ve srovnání s nosičkami mutace v genu *BRCA1*.

Redukce rizika vzniku karcinomu prsu po provedení BSO je spojena s poklesem hormonálních hladin. Větší redukce rizika byla pozorována u nosiček mutace genu *BRCA1*, které podstoupily BSO do věku 40 let (odds ratio – OR 0,36, 95% CI 0,20–0,64), u žen ve věku 41–50 let, které podstoupily BSO byla efektivita nižší (OR 0,50, 95% CI 0,27–0,92) [57,58]. Nesignifikantní redukce rizika pro vznik karcinomu prsu byla nalezena u žen nad 51 let. Také dle práce autorů Rebbecka et al nebyl nalezen podstatný pokles redukce rizika karcinomu prsu po provedení BSO u žen nad 50 let. Na základě uvedených dat a v souladu s doporučením NCCN je nejvhodnějším věkem pro provedení preventivní BSO u nosiček mutací genů *BRCA1/2* věk mezi 35. a 40. rokem po dokončení reprodukčních aktivit. V kontrastu s tím je potřeba posuzovat riziko kardiovaskulárních a jiných vedlejších efektů, např. riziko osteoporózy, možné ovlivnění kognitivních funkcí, vazomotorické symptomy, které jsou spojeny s předčasnou menopauzou po provedení BSO. Ačkoliv je tato kapitola věnována redukci rizika karcinomu prsu, nelze opominout jako

Tab. 1. Doporučení pro ženy.**Věk: 25–29 let**

MRI a UZ, střídát po 6 měsících, v případě výskytu velmi časného karcinomu prsu v rodině začít UZ a MRI vyšetření o 10 let dříve než byl věk nejmladší nemocné příbuzné.

Věk: 30–65 let

MRI a MG, střídát po 6 měsících (MG 1krát ročně od 30 let, možnost zařazení určí radiodiagnostik dle typu žlázy). UZ je metoda doplňující – v základním schématu není – často je indikován cílený UZ po MRI vyšetření (tzv. 2nd look UZ).

Jedna šikmá projekce MG ve věku 25 let jako úvodní MG na počátku sledování, která umožní znalost MG obrazu žlázy; další šikmá projekce MG ve věku 30 let k vyloučení mikrokalcifikací

Věk: 65 let a starší

MG a UZ, střídát po 6 měsících (nutné doporučit přísně individuální přístup dle zdravotního stavu ženy).

Edukovat nosičky mutací *BRCA1/2* o přínosu profylaktické mastektomie a možnosti rekonstrukčních výkonů včetně rizik spojených s operací, a o přínosu bilaterální adnexektomie ve věku 35–40 let v redukci rizika vzniku karcinomu ovarii i karcinomu prsu.

Nosičky mutací *BRCA1/2* s jednostranným karcinomem prsu po léčbě sledovat stejně jako zdravé nosičky.

Tab. 2. Doporučení pro ženy a muže.

U nosičů mutací *BRCA2* genu, kteří mají prvostupňového příbuzného s karcinomem pankreatu nebo dva příbuzné s karcinomem pankreatu a byli by kandidáti na chirurgické řešení, zvážit screening pomocí EUS jednou za rok. Screening by měl začít ve věku 50 let nebo 10 let před tím, než onemocněl nejmladší člen rodiny karcinomem pankreatu.

U nosičů mutací *BRCA1/2* genů zvážit screening maligního melanomu, kožní a oční vyšetření jednou za rok.

Screening CRC, od věku 45 let, kolonoskopie v intervalu 3–5 let, test na okultní krvácení jednou ročně.

CRC – kolorektální karcinom

Tab. 3. Doporučení pro muže.

Samovyšetření prsou jednou měsíčně od 35 let.

Klinické vyšetření včetně prsou jednou za rok od 35 let.

Screening karcinomu prostaty u nosičů mutace genu *BRCA2* od věku 40 let.

Zvážit screening karcinomu prostaty u nosičů mutace *BRCA1* od věku 40 let.

Vzhledem k vysoké variabilitě vhodné i individuální zvážení dalších vhodných preventivních opatření dle rizika dané rodinné anamnézy.

Doporučení pro screening pro gynekologické malignity je popsán v samostatném článku.

jeden z hlavních přínosů i riziko redukce vzniku ovariálního karcinomu, které významně stoupá ve věku 35–40 let. Pouze 2–3 % nosiček mutace *BRCA1* genu onemocní nádorem ovaria do 40 let věku.

Podle publikovaných dat krátkodobé podávání hormonální substituční terapie (HRT) u žen, které podstoupily BSO, nesnižuje přínos BSO ve smyslu redukce rizika vzniku karcinomu

prsu [57]. Nedávno byly publikovány výsledky „case-control“ studie u nosiček mutace *BRCA1* genu, které neprokazují souvislosti HRT s nárůstem rizika vzniku karcinomu prsu u postmenopauzálních žen s mutací *BRCA1* genu, nicméně je vhodné v indikacích HRT postupovat individuálně a obezřetně [59].

Nechirurgické metody redukující riziko vzniku karcinomu prsu u zdravých nosiček mutace *BRCA1/2* **Chemoprevence**

Efektivita selektivních modulátorů estrogenového receptoru (tamoxifen, raloxifen) byla zkoumána v několika klinických studiích u žen s vysokým rizikem pro vznik karcinomu prsu. Nicméně pro skupinu nosiček mutací genů *BRCA1/2* existují velmi limitovaná data. Pacientky s mutací, u kterých byl již diagnostikován karcinom prsu, mají zvýšené riziko pro vznik kontralaterálního karcinomu prsu. V jedné z největších prospektivních prací týkajících se žen s mutací genů *BRCA1/2* bylo prokázáno celoživotní riziko pro vznik kontralaterálního karcinomu prsu až 83 % u žen s mutací genu *BRCA1* a 62 % u žen s mutací genu *BRCA2*. Pacientky s *BRCA1/2* mutací, které nepodstoupily BSO nebo neměly chemoprevenci, mají 40% riziko vzniku kontralaterálního karcinomu v 10 letech [60]. „Case-control“ studie Hereditary Breast Cancer Clinical Study Group zveřejnila informace, že medikace tamoxifinem redukuje riziko vzniku kontralaterálního karcinomu o 45–60 % u pacientek s přítomností mutací genů *BRCA1/2* [61]. Tato data ale nejsou konzistentní s protektivním efektem tamoxifenu u nosiček mutací *BRCA1/2* genů, které podstoupily adnexektomii. Nejsou k dispozici ani data týkající se exprese estrogenového receptoru u tumorů. Data z preventivní klinické studie Breast Cancer Prevent Trial udávají 62% redukci rizika vzniku karcinomu prsu u žen s mutací *BRCA2* genu, které užívaly tamoxifen, ve srovnání s placebem, redukce rizika ale nebyla prokázána u žen s mutací genu *BRCA1* [62]. Tato data ale pocházejí z analýzy, která zahrnovala pouze velmi malé množství žen s mutací genů *BRCA1/2* (19 žen, 7 % studiové populace).

Data týkající se efektivity podávání tamoxifenu u žen-nosiček mutací genů *BRCA1/2* nejsou konzistentní. Ve studii NSABP P-1, kde byla prokázána redukce rizika karcinomu prsu u nosiček mutací, bylo zařazeno pouze 19 žen s mutací. Redukce rizika vzniku karcinomu prsu je prokázána u nádorů s pozitivními hormonálními receptory, proto je možno zvažovat preventivní nasazení tamoxifenu, především u nosiček mutace v *BRCA2* genu, kde převažuje lumenální imunofenotyp nádoru. Doba podávání tamoxifenu byla v proběhlých preventivních klinických studiích maximálně pět let. Problematický je i věk zahájení terapie, který by měl odrážet narůstající riziko onemocnění s narůstajícím věkem ženy-nosičky mutace. Na základě preventivních klinických studií a s ohledem na medián věku, kdy je diagnostikován karcinom prsu u žen s *BRCA2* mutací, je vhodné zahájit terapii tamoxifenem nejdříve ve věku 40 let.

V současné době nejsou k dispozici ani data, která by dokládala případnou chemopreventivní účinnost raloxifenu u žen s mutací genů *BRCA1/2*, ani o chemopreventivní účinnosti inhibitorů aromátázy u žen s mutací genů *BRCA1/2*.

S ohledem na uvedené není chemoprevence u nosiček mutací genů *BRCA1/2* standardně doporučena v klinické praxi.

Perorální kontraceptiva

Také u perorálních kontraceptiv v souvislosti s redukcí rizika vzniku karcinomu prsu u nosiček mutací genů *BRCA1/2* existují konfliktní data. Ve dvou metaanalýzách, které byly publikovány v roce 1998 a 2010, nebylo prokázáno, že by užití perorálních kontraceptiv vedlo k ovlivnění rizika vzniku karcinomu prsu u žen s mutací genů *BRCA1/2* [63,64].

Závěr

Nosiči mutací genů *BRCA1* nebo *BRCA2* mají hereditární dispozici ke vzniku karcinomu prsu a karcinomu ovarií, v menší míře k vzniku jiných solidních nádorů jako karcinomu pankreatu, prostaty a melanomu. Přestavují tak skupinu jedinců s přesně definovaným vyšším rizikem malignit. S rostoucími znalostmi a zkušenostmi s touto skupinou jedinců

a pacientů se postupně tvoří i přesnější doporučení pro screeningový program, snížení rizika vzniku malignit ve formě profylaktických operací a jejich léčbou. Počet testovaných jedinců s prokázanou mutací genů *BRCA1/2* v ČR přibývá. Je proto důležitá spolupráce mezi pracovišti, která genetické testování a následné poradenství poskytují, a klinickými pracovišti, která jsou kapacitně a odborně schopná převzít péči o tyto jedince. Pracoviště by měla mít zkušenost s péčí o jedince se syndromem hereditárních malignit a odpovídající přístrojové vybavení.

Nová doporučení pro péči o jedince s hereditárním syndromem karcinomu prsu a ovarií jsou uvedena v tab. 1–3.

Literatura

1. Plevova P, Novotny J, Petrakova K et al. Syndrom hereditárního karcinomu prsu a ovarií. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl): S8–S11.
2. Simon R, Zhang X. On the dynamics of breast tumor development in women carrying germline *BRCA1* and *BRCA2* mutations. *Int J Cancer* 2008; 122(8): 1916–1967.
3. Ford D, Easton DF, Stratton M et al. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the *BRCA1* and *BRCA2* genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet* 1998; 62(3): 676–689.
4. Engel C, Fischer C. Breast cancer risks and risk prediction models. *Breast Care (Basel)* 2015; 10(1): 7–12. doi: 10.1159/000376600.
5. Tun NM, Villani G, Ong K et al. Risk of having *BRCA1* mutation in high-risk women with triple-negative breast cancer: a meta-analysis. *Clin Genet* 2014; 85(1): 43–48. doi: 10.1111/cge.12270.
6. Mavaddat N, Peock S, Frost D et al. Cancer risks for *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers: results from prospective analysis of EMBRACE. *J Natl Cancer Inst* 2013; 105(11): 812–822. doi: 10.1093/jnci/djt095.
7. Tai YC, Domchek S, Parmigiani G et al. Breast cancer risk among male *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99(23): 1811–1814.
8. Song H, Cicek MS, Dicks E et al. The contribution of deleterious germline mutations in *BRCA1*, *BRCA2* and the mismatch repair genes to ovarian cancer in the population. *Hum Mol Genet* 2014; 23(17): 4703–4709. doi: 10.1093/hmg/ddu172.
9. Alsop K, Fereday S, Meldrum C et al. *BRCA* mutation frequency and patterns of treatment response in *BRCA* mutation-positive women with ovarian cancer: a report from the Australian Ovarian Cancer Study Group. *J Clin Oncol* 2012; 30(21): 2654–2663. doi: 10.1200/JCO.2011.39.8545.
10. Powell CB, Kenley E, Chen LM et al. Risk-reducing salpingo-oophorectomy in *BRCA* mutation carriers: role of serial sectioning in the detection of occult malignancy. *J Clin Oncol* 2005; 23(1): 127–132.
11. Shu CA, Pike M, Jotwani AR et al. Risk of developing uterine corpus cancer (Ut Ca) following risk-reduction salpingo-oophorectomy (RtSO) in woman with *BRCA* mutations. Society of Gynecologic Oncology Annual Meeting 2014; abstr. LBA5.
12. Beiner ME, Finch A, Rosen B et al. The risk of endometrial cancer in women with *BRCA1* and *BRCA2* mutations. A prospective study. *Gynecol Oncol* 2007; 104(1): 7–10.

13. Kote-Jarai Z, Leongamornlert D, Saunders E et al. *BRCA2* is a moderate penetrance gene contributing to young-onset prostate cancer: implications for genetic testing in prostate cancer patients. *Br J Cancer* 2011; 105(8): 1230–1234. doi: 10.1038/bjc.2011.383.
14. Edwards SM, Kote-Jarai Z, Meitz J et al. Two percent of men with early-onset prostate cancer harbor germline mutations in the *BRCA2* gene. *Am J Hum Genet* 2003; 72(1): 1–12.
15. Tryggvadóttir L, Vidarsdóttir L, Thorgeirsson T et al. Prostate cancer progression and survival in *BRCA2* mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99(12): 929–935.
16. Consortium TB. Cancer risks in *BRCA2* mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91(15): 1310–1316.
17. Amin AI, Olama A, Dadaev T, Hazelett DJ et al. Multiple novel prostate cancer susceptibility signals identified by fine-mapping of known risk loci among Europeans. *Hum Mol Genet* 2015; 24(19): 5589–5602. doi: 10.1093/hmg/ddv203.
18. Goggins M, Schutte M, Lu J et al. Germline *BRCA2* gene mutations in patients with apparently sporadic pancreatic carcinomas. *Cancer Res* 1996; 56(23): 5360–5364.
19. Thompson D, Easton DF. Cancer incidence in *BRCA1* mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94(18): 1358–1365.
20. Mersch J, Jackson MA, Park M et al. Cancers associated with *BRCA1* and *BRCA2* mutations other than breast and ovarian. *Cancer* 2015; 121(14): 269–275.
21. Axilbund JE, Argani P, Kamiyama M et al. Absence of germline *BRCA1* mutations in familial pancreatic cancer patients. *Cancer Biol Ther* 2009; 8(2): 1–5.
22. Brand RE, Lerch MM, Rubinstein WS et al. Advances in counselling and surveillance of patients at risk for pancreatic cancer. *Gut* 2007; 56(10): 1460–1469.
23. Maisonneuve P, Lowenfels AB. Risk factors for pancreatic cancer: a summary review of meta-analytical studies. *Int J Epidemiol* 2015; 44(1): 186–198. doi: 10.1093/ije/dyu240.
24. Becker AE, Hernandez YG, Frucht H et al. Pancreatic ductal adenocarcinoma: risk factors, screening, and early detection. *World J Gastroenterol* 2014; 20(32): 11182–11198. doi: 10.3748/wjg.v20.i32.11182.
25. Golan T, Kanji ZS, Epelbaum R et al. Overall survival and clinical characteristics of pancreatic cancer in *BRCA* mutation carriers. *Br J Cancer* 2014; 111(6): 1132–1138. doi: 10.1038/bjc.2014.418.
26. Phelan CM, Iqbal J, Lynch HT et al. Incidence of colorectal cancer in *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers: results from a follow-up study. *Br J Cancer* 2014; 110(2): 530–534. doi: 10.1038/bjc.2013.741.
27. Lowry KP, Lee JM, Kong CY et al. Annual screening strategies in *BRCA1* and *BRCA2* gene mutation carriers: a comparative effectiveness analysis. *Cancer* 2012; 118(8): 2021–2030. doi: 10.1002/cncr.26424.
28. Cott Chubiz JE, Lee JM, Gilmore ME et al. Cost-effectiveness of alternating MRI and digital mammography screening in *BRCA1* and *BRCA2* gene mutation carriers. *Cancer* 2013; 119(6): 1266–1276. doi: 10.1002/cncr.27864.
29. Le-Petross HT, Whitman GJ, Atchley DP et al. Effectiveness of alternating mammography and magnetic resonance imaging for screening women with deleterious *BRCA* mutations at high risk of breast cancer. *Cancer* 2011; 117(17): 3900–3907. doi: 10.1002/cncr.25971.
30. Bick U. Intensified surveillance for early detection of breast cancer in high-risk patients. *Breast Care (Basel)* 2015; 10(1): 13–20. doi: 10.1159/000375390.
31. Warner E, Messersmith H, Causer P et al. Systematic review: using magnetic resonance imaging to screen women at high risk for breast cancer. *Ann Intern Med* 2008; 148(9): 671–679.
32. Phi XA, Houssami N, Obdeijn M et al. Magnetic resonance imaging improves breast screening sensitivity in *BRCA* mutation carriers age ≥ 50 years: evidence from an

- individual patient data meta-analysis. *J Clin Oncol* 2015; 33(4): 349–356. doi: 10.1200/JCO.2014.56.6232.
33. Kauff ND, Domchek SM, Friebel TM et al. Risk-reducing salpingo-oophorectomy for the prevention of BRCA1- and BRCA2-associated breast and gynecologic cancer: a multicenter, prospective study. *J Clin Oncol* 2008; 26(8): 1331–1337. doi: 10.1200/JCO.2007.13.9626.
 34. Rebbeck TR, Lynch HT, Neuhausen SL et al. Prophylactic oophorectomy in carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. *N Engl J Med* 2002; 346(21): 1616–1622.
 35. Kim ER, Bae SY, Lee KH et al. Is health screening beneficial for early detection and prognostic improvement in pancreatic cancer? *Gut Liver* 2011; 5(2): 194–199. doi: 10.5009/gnl.2011.5.2.194.
 36. Gurusamy KS, Kumar S, Davidson BR et al. Resection versus other treatments for locally advanced pancreatic cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2014; 2: CD010244. doi: 10.1002/14651858.CD010244.pub2.
 37. Lu C, Xu CF, Wan XY et al. Screening for pancreatic cancer in familial high-risk individuals: a systematic review. *World J Gastroenterol* 2015; 21(28): 8678–8686. doi: 10.3748/wjg.v21.i28.8678.
 38. Kim JE, Lee KT, Lee JK et al. Clinical usefulness of carbohydrate antigen 19-9 as a screening test for pancreatic cancer in an asymptomatic population. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19(2): 182–186.
 39. Canto MI, Harinck F, Hruban RH et al. International Cancer of the Pancreas Screening (CAPS) Consortium summit on the management of patients with increased risk for familial pancreatic cancer. *Gut* 2013; 62(3): 339–347. doi: 10.1136/gutjnl-2012-303108.
 40. Castro E, Goh C, Olmos D et al. Germline BRCA mutations are associated with higher risk of nodal involvement, distant metastasis, and poor survival outcomes in prostate cancer. *J Clin Oncol* 2013; 31(14): 1748–1757. doi: 10.1200/JCO.2012.43.1882.
 41. Leongamornlert D, Mahmud N, Tymrakiewicz M et al. Germline BRCA1 mutations increase prostate cancer risk. *Br J Cancer* 2012; 106(10): 1697–1701. doi: 10.1038/bjc.2012.146.
 42. Mitra A, Fisher C, Foster CS et al. Prostate cancer in male BRCA1 and BRCA2 mutation carriers has a more aggressive phenotype. *Br J Cancer* 2008; 98(2): 502–507. doi: 10.1038/sj.bjc.6604132.
 43. Thorne H, Willems AJ, Niedermayr E et al. Decreased prostate cancer-specific survival of men with BRCA2 mutations from multiple breast cancer families. *Cancer Prev Res (Phila)* 2011; 4(7): 1002–1010. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-10-0397.
 44. Moran A, O'Hara C, Khan S et al. Risk of cancer other than breast or ovarian in individuals with BRCA1 and BRCA2 mutations. *Fam Cancer* 2012; 11(2): 235–242. doi: 10.1007/s10689-011-9506-2.
 45. Hartmann LC, Schaid DJ, Woods JE et al. Efficacy of bilateral prophylactic mastectomy in women with a family history of breast cancer. *N Engl J Med* 1999; 340(2): 77–84.
 46. Hartmann LC, Sellers TA, Schaid DJ et al. Efficacy of bilateral prophylactic mastectomy in BRCA 1 and BRCA2 gene mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93(21): 1633–1637.
 47. Meijers-Heijboer H, van Geel B, van Putten WL et al. Breast cancer after prophylactic bilateral mastectomy in women with a BRCA1 or BRCA2 mutation. *N Engl J Med* 2001; 345(3): 159–164.
 48. Heemskerk-Gerritsen BA, Menke-Pluijmers MB, Jager A et al. Substantial breast cancer risk reduction and potential survival benefit after bilateral mastectomy when compared with surveillance in healthy BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: a prospective analysis. *Ann Oncol*; 24(8): 2029–2035. doi: 10.1093/annonc/mdt134.
 49. Levine DA, Argenta PA, Yee CJ et al. Fallopian tube and primary peritoneal carcinomas associated with BRCA mutations. *J Clin Oncol* 2003; 21(22): 4222–4227.
 50. Pivers MS, Jishi MF, Tsukada Y et al. Primary peritoneal carcinoma after prophylactic oophorectomy in women with family history of ovarian cancer. A report of the Gilda Radner Familial Ovarian Cancer Registry. *Cancer* 1993; 71(9): 2751–2755.
 51. Rebbeck TR, Lynch HT, Neuhausen SL et al. Prophylactic oophorectomy in carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. *N Engl J Med* 2002; 346: 1616–1622.
 52. Rebbeck TR, Kauff ND, Domchek SM. Meta-analysis of risk reduction estimates associated with risk-reducing salpingo-oophorectomy in BRCA1 or BRCA2 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101(2): 80–87. doi: 10.1093/jnci/djn442.
 53. Eisen A, Lubinski J, Klijn J et al. Breast cancer risk following bilateral oophorectomy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: an international case-control study. *J Clin Oncol* 2005; 23(30): 7491–7496.
 54. Rebbeck TR, Lynch HT, Neuhausen SL et al. Prophylactic oophorectomy in carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. *N Engl J Med* 2002; 346(21): 1616–1622.
 55. Kemel Y, Kauff ND, Robson ME et al. Four-year follow-up of outcomes following risk-reducing salpingo-oophorectomy in BRCA mutation carriers. *J Clin Oncol* 2005; 23: abstr. 1013.
 56. Rebbeck TR, Kauff ND, Domchek SM. Meta-analysis of risk reduction estimates associated with risk-reducing salpingo-oophorectomy in BRCA1 or BRCA2 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101(2): 80–87. doi: 10.1093/jnci/djn442.
 57. Kauff ND, Domchek SM, Friebel TM et al. Risk-reducing salpingo-oophorectomy for the prevention of BRCA1 and BRCA2-associated breast and gynecologic cancer: a multicenter, prospective study. *J Clin Oncol* 2008; 26(8): 1331–1337. doi: 10.1200/JCO.2007.13.9626.
 58. Eisen A, Lubinski J, Klijn J et al. Breast cancer risk following bilateral oophorectomy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: an international case-control study. *J Clin Oncol* 2005; 23(30): 7491–7496.
 59. Eisen A, Lubinski J, Gronwald J et al. Hormone therapy and the risk of breast cancer in BRCA1 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100(19): 1361–1367. doi: 10.1093/jnci/djn313.
 60. Metcalfe K, Lynch HT, Ghadirian P et al. Contralateral breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *J Clin Oncol* 2004; 22(12): 2328–2335.
 61. Narod SA, Brunet JS, Ghadirian P et al. Tamoxifen and risk of contralateral breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: a case-control study. *Hereditary Breast Cancer Clinical Study Group. Lancet* 2000; 356(9245): 1876–1881.
 62. King MC, Wiest S, Hale K et al. Tamoxifen and breast cancer incidence among women with inherited mutations in BRCA1 and BRCA2: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP P1) Breast Cancer Prevention Trial. *JAMA* 2001; 286(18): 2251–2256.
 63. Narod SA, Risch H, Moslehi R et al. Oral contraceptives and the risk of hereditary ovarian cancer. *Hereditary Ovarian Cancer Clinical Study Group. N Engl J Med* 1998; 339(7): 424–428.
 64. Moorman PG, Havrilesky LJ, Gierisch JM et al. Oral contraceptives and risk of ovarian cancer and breast cancer among high-risk women: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Oncol* 2013; 31(33): 4188–4198. doi: 10.1200/JCO.2013.48.9021.

Gynekologická prevence a gynekologické aspekty péče u nosiček mutací genů *BRCA1* a *BRCA2*

Gynecological Care and Prevention of Gynecological Malignancies in *BRCA1* and *BRCA2* Mutation Carriers

Zikán M.

Onkogynekologické centrum, Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a VFN v Praze

Souhrn

Předkládaná práce shrnuje současné poznatky o gynekologických aspektech péče o ženy s dědičnou dispozicí ke vzniku karcinomu prsu a vaječníků – nosičkách mutací genů *BRCA1* a *BRCA2* – a předkládá návrh péče o tyto ženy včetně dispenzarizace, doporučení profylaktických operací a preimplantační genetické diagnostiky. Shrnuje rizika vzniku nádorů a závažnost především ovariálního karcinomu pro jeho vysokou mortalitu rezultující z agresivního biologického chování nádoru a omezených možností časně detekce. *BRCA* pozitivním ženám lze nabídnout program pečlivé dispenzarizace, profylaktické chirurgické zákroky a preimplantační genetickou diagnostiku. Součástí dispenzární péče je gynekologické vyšetření, expertní onkogynekologický ultrazvuk a stanovení markeru CA125 v šestiměsíčních intervalech. Jediným nástrojem efektivně snižujícím mortalitu ovariálního karcinomu je profylaktická operace – adnexektomie (s hysterektomií). Optimální věk pro provedení operace je 35–40 let. Profylaktická adnexektomie provedená premenopauzálně snižuje nejen riziko vzniku karcinomu vaječníků, ale také riziko vzniku karcinomu prsu. Příznaky estrogenního deficitu po profylaktické operaci lze potlačit podáním hormonální substituční léčby bez zvýšení rizika vzniku karcinomu prsu. Preimplantační genetická diagnostika představuje možnost, jak zabránit přenosu dědičné dispozice do další generace. Péče o ženy v hereditárním riziku vzniku karcinomu vaječníků by měla být soustředěna do specializovaných center.

Klíčová slova

hereditární karcinom prsu a vaječníků – ovariální karcinom – gen *BRCA1* – gen *BRCA2*

Summary

This paper summarizes the current knowledge of gynecological care aspects in women with inherited predisposition to breast and ovarian cancer, i.e. *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers, and proposes guidelines for further management of these women, addressing follow-up recommendations, prophylactic surgery indications and preimplantation genetic counseling. It evaluates cancer risk and severity of ovarian cancer in particular with regards to its high mortality resulting from aggressive biological behavior of the tumor and late detection rates. *BRCA*-positive women should be enrolled in prevention programs including careful surveillance, prophylactic surgery or pre-implantation genetic counseling. Follow-up care consists of gynecological examination, expert oncogynecological ultrasound and tumor marker CA125 examination every six months. However, the most effective strategy for mortality reduction in ovarian cancer is prophylactic surgery – salpingo-oophorectomy (and hysterectomy). The optimal age for surgery is between 35 to 40 years. Prophylactic salpingo-oophorectomy performed in premenopausal women was proved to reduce the risk of ovarian as well as breast cancer. Symptoms of estrogen deficiency after prophylactic surgery can be suppressed by administration of hormone replacement therapy without increasing the risk of breast cancer. Preimplantation genetic diagnosis is an effective way to prevent the transmission of hereditary predisposition to the next generation. The management of patients with hereditary susceptibility to ovarian cancer should be confined to specialized centres.

Key words

hereditary breast and ovarian cancer syndrome – ovarian neoplasms – *BRCA1* gene – *BRCA2* gene

Autor deklaruje, že v souvislosti s předmětem studie nemá žádné komerční zájmy.

The author declares he has 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 recommendation for biomedical papers.



doc. MUDr. Michal Zikán, Ph.D.

Onkogynekologické centrum
Gynekologicko-porodnická klinika
1. LF UK a VFN v Praze
Apolinářská 18
128 00 Praha 2
e-mail: michal.zikan@lf1.cuni.cz

Obdrženo/Submitted: 14. 7. 2015

Přijato/Accepted: 3. 9. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2016S22>

Úvod

Přibližně u 8–13 % všech žen s ovariálním karcinomem vzniká nádor na základě zděděné predispoziční zárodečné mutace, nejčastěji v genu *BRCA1* nebo *BRCA2* v rámci syndromu hereditárního karcinomu prsu a vaječníků (hereditary breast and ovarian cancer – HBOC) [1].

Celoživotní riziko onemocnění u nosiček mutací genu *BRCA1* dosahuje 40–60 %, u nosiček mutací genu *BRCA2* je nižší, dosahuje 10–30 %. Populační riziko vzniku ovariálního karcinomu v naší populaci je 1,8 %; relativní riziko u nosiček hereditární dispozice tedy dosahuje 10–30násobku rizika populačního. Riziko vzniku ovariálního karcinomu začíná u nosiček mutací genu *BRCA1* strmě stoupat mezi 35. a 40. rokem života, u nosiček mutací genu *BRCA2* po 50. roce života [2].

Medián věku v době diagnózy ovariálního karcinomu je v nezátížené populaci v ČR 57 let. U nosiček mutace genu *BRCA1* je medián věku v době diagnózy o 10 let nižší, u nosiček mutací genu *BRCA2* nebyl v ČR zaznamenán statisticky signifikantní rozdíl oproti nezátížené populaci [3].

Dominujícím histotypem nádoru u nosiček mutací genů *BRCA1* a *BRCA2* je high-grade serózní karcinom, který představuje tři čtvrtiny všech ovariálních karcinomů.

Prognóza ovariálního karcinomu je nepříznivá, jedná se o gynekologický nádor s nejvyšší mortalitou. Pětileté celkové přežití (overall survival – OS) bez ohledu na stadium se pohybuje mezi 35 a 40 %. Většina pacientek (75 %) je diagnostikována v pozdních stádiích (III–IV), kdy se pětileté OS pohybuje mezi 5 a 25 %. I v časných stádiích se však pětileté OS u high-grade serózního karcinomu pohybuje pouze mezi 60 a 85 %.

Prognóza pacientek s hereditární mutací genu *BRCA1* nebo *BRCA2* je zřejmě, vyjádřeno pětiletým OS, mírně příznivější ve srovnání s pacientkami se sporadickým nádorem, případný benefit v 10letém OS je však sporný [4].

Onemocní-li nosička mutace genu *BRCA1* nebo *BRCA2* karcinomem prsu, má velkou šanci na vyléčení. Onemocní-li taková žena karcinomem vaječníků, má velké riziko, že na tuto nemoc zemře. Na vině je především nemožnost časně detekce nádoru pro chybějící

symptomatologii časných stadií, rychlý a agresivní růst a nízká senzitivita vyšetřovacích metod.

Zdravým nosičkám (včetně žen s karcinomem prsu) můžeme nabídnout tři typy opatření:

1. dispenzární péči (sledování) (tab. 1),
2. profylaktickou operaci (profylaktickou adnexektomií – risk-reducing salpingo-oophorectomy – RRSO, případně s hysterektomií) (tab. 2),
3. preimplantační genetickou diagnostiku (tab. 3).

Dispenzární péče – nechirurgické možnosti prevence

Sledování před profylaktickou operací – CA125 a ultrazvuk

Nosičkám mutací genů *BRCA1/2* bylo dosud doporučováno podstoupit preventivní vyšetření zahrnující vyšetření nádorových markerů (CA125, CA19-9, CEA, CA15-3), gynekologický ultrazvuk a celkové klinické a gynekologické vyšetření v intervalu šest měsíců od 25 let života nebo ve věku o 10 let nižším než věk diagnózy zhoubného nádoru u nejmladšího nemocného v rodině [5].

Tab. 1. Dispenzární péče pro nosičky *BRCA1/2* mutací.

Dispenzární gynekologická péče

sledování před profylaktickou operací

gynekologické fyzikální vyšetření	od zahájení pohlavního života, nejpozději od 25 let věku	à 12 měsíců (registrující gynekolog)
expertní onkogynekologický ultrazvuk	od 20 let	à 4–6 měsíců (onkogynekologické centrum)
CA125	od 20 let	à 4–6 měsíců (s hodnocením trendu, ne pouze absolutní hodnoty) (klinický onkolog/onkogynekologické centrum)
standardní screening cervikálního karcinomu	od 25 do 65 let	à 12 měsíců (registrující gynekolog)

sledování po profylaktické operaci

gynekologické fyzikální vyšetření	à 12 měsíců (registrující gynekolog)
expertní onkogynekologický ultrazvuk	à 12 měsíců (onkogynekologické centrum)
standardní screening cervikálního karcinomu (při zachování dělohy)	à 12 měsíců do 65 let (registrující gynekolog)
denzitometrie	před operací, rok po operaci a dále dle doporučení osteologa
měření krevního tlaku a krevních lipidů pravidelně se začátkem 1 rok po operaci (praktický lékař)	
poučení o důležitosti zdravého životního stylu pro snížení rizika kardiovaskulárních onemocnění	

Cílem této sekundární prevence je vzniklý nádor odhalit v počátečním stadiu s vyšší pravděpodobností vyléčení. Zatímco u karcinomu prsu se objevují data potvrzující downstaging a pozitivní vliv na přežití u intenzivně sledovaných pacientek, účinnost této strategie na časný záchyt ovariálního karcinomu je sporná. V rozsáhlém review [6] zahrnujícím více než 6 000 pacientek v hereditárním riziku onemocnění bylo 63 % ovariálních karcinomů zachyceno ve stadiu IIC nebo vyšším, navíc 40 % všech zachycených karcinomů bylo intervalových. Tento jev souvisí zřejmě s molekulární podstatou onemocnění, kdy ovariální karcinomy vznikající na základě hereditárních mutací genů *BRCA1/2* jsou řazeny k nádorům tzv. typu II, pro něž je charakteristický rychlý růst bez klinicky detekovatelných prekurzorů (benigních nebo hraničních nádorů) [3].

Dosud nemáme k dispozici screeningový postup, který by byl považován u karcinomu ovaria ve většinové populaci za efektivní. V posledních letech však bylo provedeno několik velkých prospektivních studií v celé populaci zabývajících se touto problematikou a další, především tzv. UKTOCS (United Kingdom Familial Ovarian Cancer Screening Study), probíhají [7–9]. Data popisující efekt screeningových postupů na mortalitu ovariálního karcinomu v neselektované populaci však nebyla dosud publikována. Zveřejnění výstupů dosud největší studie (UKTOCS) je očekáváno v závěru roku 2015 [10,11].

Dosavadní studie, které se zabývaly možností screeningu ovariálního karcinomu nikoli v celé populaci, ale pouze v rizikových skupinách, přinesly nejednotné výsledky. Rozdíly jsou způsobeny především významnými odlišnostmi v protokolech – volba screeningové metody (CA125, ultrazvukové vyšetření, jejich kombinace), intervaly screeningových vyšetření (12 nebo 6 měsíců), indikace k expertnímu vyšetření (jedna zvýšená hodnota CA125, vzestupný trend CA125, patologický nález na ultrazvuku, přetrvávající patologie na ultrazvuku), celková doba sledování, velikost souboru, pracoviště provádějící screeningové vyšetření (ambulantní gynekolog, onkogynekologické lůžkové oddělení, centra pro

Tab. 2. Profylaktická operace u nosiček *BRCA1/2* mutací.

Profylaktická operace

optimálně ve věku 35–40 let

u nosiček mutací genu *BRCA2*, které podstoupily bilaterální profylaktickou mastektomii lze zvážit provedení profylaktické adnexektomie ± hysterektomie ve věku 45–50 let

standardem je hysterektomie s bilaterální adnexektomií (salpingooforektomií)

profylaktickou salpingektomií do dokončení reprodukčních plánů s následnou ovarektomií mezi 40. a 45. rokem věku lze nabídnout pacientce, která si přeje zachovat ovariální funkci

nerozhodne-li se pacientka podstoupit profylaktickou operaci na adnexech do ukončeného 40. roku věku, je vhodné získat písemný negativní revers – odmítnutí profylaktického výkonu

odstraněná adnexa je nutné vyšetřit dle protokolu SEE-FIM

Tab. 3. Preimplantační genetická diagnostika u párů s *BRCA1/2* mutací.

Preimplantační genetická diagnostika

na současné úrovni poznání a nastavení etických mezí nelze páru nabízet prenatální diagnostiku mutací genů *BRCA1* a *BRCA2*

nosičkám a nosičům lze nabídnout PGD

indikaci k provedení PGD dává klinický genetik na základě zájmu páru o tuto metodu a poučení páru o možnostech selhání PGD

klinický genetik zváží mutační analýzu i u druhého partnera, event. zváží nutnost vyloučení jiných dědičných chorob u obou partnerů

příslušné centrum asistované reprodukce poučí pár o rizicích IVF, pravděpodobnosti početí touto metodou a o nutnosti přípravy sond (6–9 měsíců)

doporučení ke sledování v graviditě dá po úspěšném oplodnění centrum asistované reprodukce, většinou se neliší od standardního sledování

těhotná *BRCA* pozitivní žena je nadále sledována stran rizik vzniku zhoubných nádorů v rámci pravidelné dispenzarizace à 6 měsíců

PGD – preimplantační genetická diagnostika, IVF – *in vitro* fertilizace

preventivní onkologii), kritéria pro zařazení do screeningu, resp. stupeň rizika, metodika zpracování výsledků (vyřazení karcinomů diagnostikovaných při prvním screeningovém, prevalenčním vyšetření).

Většina prací se však shoduje v tom, že žádný ze screeningových přístupů není schopen detekovat ve větší míře časně karcinomy – u této rizikové skupiny se jedná o nádory typu II (high-grade serózní karcinomy) [12,13]. Tento závěr byl potvrzen i ve fázi I velké britské studie UKFOCSS, která pro screening rizikové skupiny využívala jednoroční stanovení CA125 a ultrazvukové vyšetření. Ačkoliv

senzitivita byla akceptovatelná (81,3 %), pouze menšina nádorů (30,8 %) byla zachycena v časných stádiích [14]. Ve fázi II UKFOCSS byla změněna screeningová strategie a CA125 byl stanovován každé čtyři měsíce a hodnocen pomocí ROCA algoritmu. Předběžná data prezentovaná na ASCO 2013 uvádějící vysokou senzitivitu pro detekci invazivního ovariálního karcinomu (67–100 %) a zároveň nebyl zaznamenán žádný intervalový karcinom. Mezi detekovanými karcinomy bylo 42 % v časném stadiu, 92 % detekovaných nádorů bylo ope-rováno s nulovým makroskopickým re-

ziduem nemoci (ve srovnání s 62 % ve fázi I) [11]. Podobná strategie screeningu byla užita i ve studii Cancer Genetics Network [15] a GOG [16]. Finální data ze všech tří studií by měla být publikována v průběhu letošního roku.

V klinické praxi je pro diferenciální diagnostiku benigních a maligních pánevních tumorů používána i kombinace markeru CA125 a HE4 (human epididymal protein 4) s kalkulací tzv. ROMA (risk of malignancy algorithm) skóre. Význam HE4 nebo jeho kombinace s CA125 ve screeningu však nebyl dosud studován.

Na základě dosud publikovaných dat nelze populační screening ovariálního karcinomu doporučit. U žen v hereditárním riziku je však situace odlišná. Byť jediným bezpečným opatřením zůstává profylaktická adnexektomie, lze v období před jejím provedením doporučit sledování pomocí kombinace CA125 a transvaginálního ultrazvuku. Intervaly vyšetření by neměly být delší než šest měsíců (optimálně v intervalu 4–6 měsíců). Při pozitivním screeningovém vyšetření v rizikové skupině nebo při zvýšení markerů v obecné populaci je velmi důležité expertní ultrazvukové vyšetření (vyšetření zkušeným onkogynekologickým sonografistou s patřičným vybavením), které může významně omezit počet prováděných nadbytečných chirurgických intervencí. Expertní onkogynekologický ultrazvuk je nejpřesnější metodou pro stanovení povahy pánevních tumorů [17,18]. Efektem takového sledování nemusí nutně být záchyt časného stadia, ale i časnější záchyt pokročilých stadií, který umožní (dle předběžných výsledků studie UKFOCS) dosáhnout optimálního debulkingu, a zlepšit tak prognózu pacientky. V ČR je ustanovena síť onkogynekologických center (OGC), která mají potřebné vybavení (high-end ultrazvukový přístroj s multifrekvenčními sondami – vaginální transabdominální a lineární – s integrovanou patientskou databází) a expertní sonografisty. Seznam onkogynekologických center a kontakty lze nalézt na adrese www.onkogynekologie.com.

Jakákoliv strategie screeningu hereditárního ovariálního karcinomu však není (na rozdíl od hereditárního karcinomu prsu) alternativou k profylaktické chirurgii (adnexektomii).

Hormonální antikoncepce

Velmi diskutovaná je otázka možné chemoprevence karcinomu vaječníků u nosiček mutací genů *BRCA1/2* pomocí kombinované orální kontracepce (combined oral contraception – COC). Většina studií se shoduje (tak jako v nezátžené populaci) na 40–50% redukci rizika vzniku ovariálního karcinomu u uživatelky COC [19–22]. Otázkou zůstává však vliv COC na riziko karcinomu prsu. Jak největší a nejlépe designovaná studie [23], tak metaanalýza dosud proběhlých studií [24] hodnotí riziko vzniku karcinomu prsu u uživatelky COC jako zvýšené (RR 1,17–4,3). V situaci, kdy po většinu fertilního věku *BRCA1/2* pozitivní ženy dominuje rostoucí riziko vzniku karcinomu prsu nad rizikem vzniku karcinomu vaječníků (riziko karcinomu prsu u nosiček mutace genu *BRCA1/2* je ve věku 50 let cca 40 %, riziko ovariálního karcinomu je ve stejném věku u nosiček mutací genu *BRCA1* cca 20 % a ženy mají možnost podstoupit profylaktickou adnexektomii, je otázka možného využití COC v chemoprevenci sporná a je třeba s každou pacientkou individuálně zvážit možný přínos a rizika i s ohledem na osobní a rodinnou anamnézu.

V současné době nedoporučujeme hormonální antikoncepci jako metodu prevence karcinomu vaječníků. Pokud si nosička mutace přeje užívat spolehlivou antikoncepci ve formě COC, není důvod k vysazení COC, je třeba však pacientku poučit o možném mírném nárůstu rizika vzniku karcinomu prsu. Nebyl popsán rozdíl v efektu různých preparátů, ani vliv odlišných hladin estrogenů v současné COC obsažených. Volba preparátu je tedy volná v závislosti na toleranci pacientky, případně na žádoucích pozitivních vedlejších efektech. Zároveň bychom vždy měli zvážit jinou možnost spolehlivé antikoncepce, především nitroděložní tělísko, které je dnes již k dispozici i pro nerodivší ženy.

Těhotenství a kojení

Efekt těhotenství a kojení je zřejmě u nosiček mutací genů *BRCA1/2* obecně stejný jako v běžné populaci. Těhotenství dle většiny studií snižuje riziko vzniku karcinomu prsu u nosiček mutací genu *BRCA1* (HR 0,53) i *BRCA2* (HR 0,58) [25]. Další práce prokazuje také snížení rizika u nosiček mutací genu *BRCA1*, u nosiček mutací genu *BRCA2* však nachází zvýšení rizika u žen se dvěma a více dětmi (OR 1,53) [26]. Protektivní efekt je popsán u nosiček mutací genu *BRCA1* i pro kojení delší než jeden rok (snížení rizika vzniku karcinomu prsu o 32 %), u nosiček mutací genu *BRCA2* není statisticky signifikantní [27].

U žen s těhotenstvím a kojením je možné i v těhotenství a při kojení [28,29], protektivní efekt kojení může, zvláště u nosiček mutací genu *BRCA1*, převážit případné obavy z onemocnění v době laktace. Při plánování délky laktace je třeba pacientku informovat o významně horší prognóze karcinomu prsu vzniklého v období kojení.

V případě sterility je možné doporučit pacientku do centra asistované reprodukce a použít metody asistované reprodukce včetně kontrolované ovariální hyperstimulace. Dle současných poznatků by tyto metody neměly mít vliv na riziko vzniku karcinomu prsu u nosiček mutací. Metody asistované reprodukce však zvyšují riziko vzniku jak borderline, tak invazivních karcinomů ovaria [30]. I s ohledem na tato data by měla být pacientka podstupující ovariální hyperstimulaci poučena o vhodnosti profylaktické operace co nejdříve po dokončení úspěšného těhotenství a ukončení reprodukčních plánů.

S ohledem na riziko karcinomu ovaria a plánování profylaktické adnexektomie je vhodné podporovat pacientku ve snaze o těhotenství s optimálním dokončením reprodukčních plánů do 40. roku života.

S ohledem na riziko karcinomu ovaria a plánování profylaktické adnexektomie je vhodné podporovat pacientku ve snaze o těhotenství s optimálním dokončením reprodukčních plánů do 40. roku života.

Sledování po profylaktické operaci

Sledování po profylaktické operaci se zaměřuje především na riziko vzniku primárního peritoneálního karcinomu (primary peritoneal serous tumor – PPST) a management projevů předčasné menopauzy. Neexistuje dosud shoda na tom, v jakých intervalech a jakými prostředky by měly být ženy po operaci sledovány. Většina center doporučuje gynekologické vyšetření a expertní onkogynekologický ultrazvuk jednou

ročně. Stanovení CA125 v časně detekci PPST je sporné.

Vzhledem k nárůstu rizika osteoporózy po předčasné arteficiální menopauze je doporučováno stanovení denzity kostní tkáně před profylaktickou operací a v odstupu 1–2 let po operaci a event. dispenzarizace v osteocentru. Vzhledem ke kardiovaskulárním rizikům je dále doporučováno vyšetření rizikových faktorů kardiovaskulárního onemocnění, tj. především hypercholesterolemie, hypertenze, diabetu a kouření, optimálně v rukou poučeného praktického lékaře. Možnosti hormonální substituční léčby jsou uvedeny níže.

Profylaktická operace – chirurgické možnosti prevence

Benefit operace a její časování

V současné době je jediným nástrojem primární prevence u žen v hereditárním riziku onemocnění gynekologickým zhoubným nádorem chirurgické odstranění rizikového orgánu. Při zákrocích ke snížení rizika ovariálního karcinomu je třeba vždy odstranit i vejcovod (tedy provádět adnexektomii, ne pouze ovariectomii), neboť tuba, zřejmě i ovariální epitel, a peritoneum mají stejný embryonální základ a dávají vznik histologicky stejnému zhoubnému nádoru – seróznímu adenokarcinomu [31]. U pokročilých stadií karcinomu je často nemožné rozhodnout o jeho primárním původu – pro terapii nebo prognózu pacientky to však nemá význam. Vzhledem ke společným cestám karcinogeneze (společné nádorové kmenové buňce) jmenovaných tří tkání neznamená profylaktická adnexektomie absolutní eliminaci rizika vzniku nádoru, ponechává reziduální riziko vzniku primárního peritoneálního karcinomu. U nosiček mutací genů *BRCA1/2* redukuje profylaktická adnexektomie riziko jak karcinomu vaječníků (o 96 %), tak karcinomu prsu (o 53 % u nosiček mutací genu *BRCA1*, o 72 % u nosiček mutací genu *BRCA2*) [32,33]. Redukce rizika karcinomu prsu je překvapující u nosiček mutací genu *BRCA1*, kde je většina nádorů hormonálně independentních; souvisí zřejmě s omezením produkce karcinogenních DNA aduktů s metabolity estro-

genů [34]. V letošním roce však byla publikována práce, která protektivní efekt adnexektomie na snížení rizika vzniku karcinomu prsu nenachází [35].

Významné je především to, že profylaktické adnexektomie vedou nejen ke snížení rizika vzniku gynekologického nádoru, ale také, logicky, k 95% redukci mortality na gynekologický nádor, a především k redukci celkové mortality *BRCA1/2* pozitivních pacientek o 76 % [36].

Na časování profylaktické chirurgie u nosiček mutací genů *BRCA1/2* panuje obecná shoda. Nejvhodnější je provést operaci mezi 35. a 40. rokem života nebo po dokončení reprodukčního plánu. Argumentace u nosiček mutace genu *BRCA1* spočívá jasně ve strmém nárůstu rizika vzniku nádoru právě v tomto věku. U nosiček mutace genu *BRCA2* začíná riziko stoupat o cca 10 let později, mezi 45. a 50. rokem života. Nicméně až u 34 % těchto žen vznikne karcinom prsu před 50. rokem života. Proto i tyto pacientky mohou významně profitovat z profylaktické operace provedené mezi 35. a 40. rokem života pro redukci rizika vzniku karcinomu prsu, což dokládá i analýza celkové mortality [2,37,38].

Z chirurgických metod redukujících riziko vzniku karcinomu vaječníků byla také zmiňována ligace vejcovodů. Postupně byla tato metoda pro nedostatek dat o jejím efektu opuštěna. Recentní metaanalýza 13 studií zabývajících se ligací vejcovodů u *BRCA* pozitivních pacientek však prokázala efekt redukce rizika serózního (RR 0,4) a endometroidního (RR 0,73), nikoli mucinózního karcinomu vaječníků [39].

Hysterektomie jako součást profylaktické operace

U nosiček mutace genu *BRCA1/2* neexistuje dosud jasný postoj k provádění profylaktické hysterektomie zároveň s adnexektomií. Pro provedení hysterektomie hovoří možnost úplného odstranění tuby včetně jejího intramurálního průběhu, byť vznik karcinomu v intramurální části tuby nebyl dosud u nosiček mutací genů *BRCA1/2* popsán. Dalším uváděným argumentem je možnost užívání tamoxifenu bez rizika jeho vlivu na endometrium, což může být významné u žen s hormonálně dependentním

karcinomem prsu nebo u žen s mutací v genu *BRCA2* užívajících tamoxifen jako primární profylaxi. Některé práce uvádějí u nosiček mutací genů *BRCA1/2* i vyšší riziko vzniku endometriálního karcinomu (typu II – serózního nebo clear-cell nebo karcinosarkomu) [40,41]. Zmiňováno je také nižší ovlivnění prsní žlázy u čistě estrogení hormonální (hormone replacement therapy – HRT), kterou lze podávat pouze u žen po hysterektomii, ve srovnání s HRT kombinovanou, byť u nosiček mutací po profylaktické operaci nebyl dosud odlišný vliv prokázán.

Proti provedení hysterektomie hovoří delší hospitalizace a morbidita spojená s rozsáhlejší operací. Často tradovaný vliv hysterektomie na riziko rozvoje inkontinence moči a negativní vliv na sexuální funkci (bolest při pohlavním styku, snížené libido) nebyly dosud spolehlivě prokázány [42–44]. Je však nutné i tyto aspekty s pacientkou diskutovat.

Na základě současných poznatků není hysterektomie ve všech centrech standardní součástí profylaktické operace. Argumenty pro a proti hysterektomii je třeba diskutovat s každou pacientkou a zvážit individuálně prospěch oproti rizikům. U uživatelek tamoxifenu se soudí, že prospěch z provedení hysterektomie převažuje její rizika. Existuje dosud pouze jediná kanadská práce prezentovaná na kongresu IGCS v Bangkoku, která uvádí významnou redukci vzniku primárního peritoneálního karcinomu u nosiček mutací genů *BRCA1/2* (RR 0,05, tj. reziduální riziko 0,5 % – ve srovnání s reziduálním rizikem 4 % při neprovedení hysterektomie), je-li součástí profylaktické operace i hysterektomie [45].

Provedení hysterektomie jako součást profylaktické operace by mělo být doporučeno každé nosičce mutace. V souhrnu jsou hlavními argumenty pro provedení hysterektomie eliminace výskytu rizikových histotypů karcinomu endometria, eliminace rizika případného vlivu tamoxifenu na endometrium, pravděpodobně nižší riziko ovlivnění prsů při užívání čistě estrogení hormonální substituce a pravděpodobně další snížení reziduálního rizika vzniku primárního peritoneálního karcinomu.

Profylaktická salpingektomie

Současný pohled na vznik jednotky označované jako ovariální karcinom mění zažitá schémata. Většina high-grade serózních karcinomů (dominantní, ne-li jediný histotyp u *BRCA* pozitivních žen) vzniká ve vejcovodech (v jejich terminální části) [46]. Na základě tohoto zjištění vznikla široká diskuze, zda by u *BRCA* pozitivních žen nebylo s ohledem na zachování hormonální produkce vhodné provedení salpingektomie po dokončení reprodukčních plánů s následným provedením (dokončením) ovariectomie mezi 40. a 45. rokem věku. Jakkoliv se tato úvaha jeví logická, nemáme dosud k dispozici data, která by prokázala stejnou míru snížení rizika vzniku karcinomu vaječníků (stejnou bezpečnost) pro profylaktické odstranění vejcovodů jako pro profylaktické odstranění vejcovodu a vaječniku. V únoru 2015 byla publikována velká švédská retrospektivní práce analyzující data více než 200 000 žen (bez znalosti mutačního statusu), které podstoupily operaci na děloze nebo adnexech (hysterektomii, adnexektomii, unilaterální nebo bilaterální salpingektomii, sterilizaci) pro benigní onemocnění ve srovnání s pětimilionovou kontrolní populací. Bilaterální salpingektomie signifikantně snížila riziko vzniku ovariálního karcinomu (HR 0,35). Pro srovnání – redukce rizika byla zaznamenána i u tubární sterilizace (HR 0,72) a hysterektomie bez adnexektomie (HR 0,79). Hysterektomie s bilaterální adnexektomií však znamenala významně vyšší redukci rizika (HR 0,06) [47]. Specifická data pro nosičky mutací genů *BRCA1/2* však nejsou k dispozici a data získaná na běžné populaci nelze jednoduše vztahovat i na populaci s genetickou dispozicí.

Pokud je s pacientkou jako alternativa profylaktické adnexektomie diskutována možnost dvoudobé operace, je třeba s ní také diskutovat, že pouhé odstranění vejcovodů (salpingektomie) nemá u *BRCA* pozitivních žen efekt na snížení rizika vzniku karcinomu prsu. Dále je třeba zvážit poměrně vysokou incidenci okultního karcinomu v preparátech po profylaktické adnexektomii u *BRCA1/2* pozitivních žen (až 10 %), navíc u nosiček mutací genu *BRCA1* byly

všechny zachycené okultní karcinomy primárně ovariální [48,49]. Standardem tak stále zůstává profylaktická adnexektomie. Salpingektomii bez ovariectomie lze po adekvátním poučení nabídnout *BRCA* pozitivním ženám, které si přejí zachovat ovariální funkci. V běžné populaci je odstranění vejcovodů vhodné provést jako profylaktický výkon při všech gynekologických operacích pro benigní diagnózu u žen po ukončení reprodukčních plánů.

Menopauzální příznaky a jejich management

Menopauzální příznaky po profylaktické adnexektomii jsou velmi časté, často inverzně korelují se satisfakcí po operaci [50]. Léčba těchto symptomů může být problematická především u pacientek s předěšlým karcinomem prsu. U dvou třetin pacientek se jeví jako účinné, především na vazomotorické symptomy, podání selektivních inhibitorů zpětného vychytávání serotoninu. Systémová hormonální substituce je u většiny pacientek s karcinomem prsu kontraindikovaná a musí být zvažována přísně individuálně [51]. Dvě studie, které zkoumaly možnost podání hormonální substituce tibolone (látkou s kombinovaným estrogením a gestagenním účinkem, avšak nízkým vlivem na prsní žlázu) u žen po léčbě pro karcinom prsu, byly předčasně ukončeny pro nárůst recidiv [52,53]. Nízkodávkovaná vaginálně aplikovaná estrogení substituce je mnohými považována za bezpečnou; určité opatrnosti je třeba u uživatelky inhibitorů aromatáz, kde byly pozorovány vyšší systémové hladiny estrogenů i při vaginálním podání.

Existuje zatím jediná studie, která hodnotí krátkodobé podání hormonální substituce (HRT nebo estrogen replacement therapy – ERT) zdravým nosičkám mutací po profylaktické operaci [33] a považuje je za bezpečné za podmínky vysazení HRT ve věku předpokládané menopauzy, tj. kolem 50. roku života. Vzhledem k nedostatku dalších dat poučujeme nosičky o tom, že užívání hormonální substituce po profylaktické operaci je relativně bezpečné, mohlo by však nepatrně snížit benefit redukce rizika karcinomu prsu.

Při ponechání dělohy je třeba, aby byla pacientka substituována kombinovanou léčbou (estrogen + gestagen), event. lze kombinovat i nitroděložní tělíčko s obsahem gestagenu a estrogení substituci. Po hysterektomii je dostatečná čistě estrogení substituce. Vždy začínáme nejnižší dávkou a případně ji stupňujeme do potlačení příznaků menopauzy. U postmenopauzálních žen bylo popsáno významnější zvýšení rizika vzniku karcinomu prsu u uživatelky kombinované hormonální substituční léčby ve srovnání s užívatelkami čistě estrogení léčby [54]. Tyto závěry však nelze vztahovat na ženy s arteficiální menopauzou, a navíc nebyl tento efekt u *BRCA* pozitivních žen užívajících hormonální substituci po profylaktické adnexektomii potvrzen [55].

Vzhledem k nárůstu rizika osteoporózy po předčasné arteficiální menopauze je doporučováno stanovení denzity kostní tkáně před profylaktickou operací a v odstupu 1–2 let po operaci a event. dispenzarizace v osteocentru. Vzhledem ke kardiovaskulárním rizikům je dále doporučováno vyšetření rizikových faktorů kardiovaskulárního onemocnění, tj. především hypercholesterolemie, hypertenze, diabetu a kouření, optimálně v rukou poučeného praktického lékaře.

Indikace k profylaktické operaci

Provedení preventivní adnexektomie, event. s hysterektomií, je indikováno u žen s prokázanou hereditární dispozicí ke vzniku karcinomu prsu/vaječníků (mutace v genu *BRCA1/2*) nebo s klinicko-geneticky jasně patrným extrémně vysokým rizikem vzniku karcinomu vaječníků.

Provedení zákroku musí předcházet podrobný pohovor s pacientkou provedený genetikem, klinickým onkologem a onkogynekologem. V mnoha případech je nutné opakovaným vysvětlením napomoci překonat obavy pacientky z pooperačních změn a možných komplikací. Nejproblematictější skupinou jsou v tomto případě asymptomatické nosičky mutací.

Před provedením operace je nutné provést aktuální gynekologické a mamologické vyšetření – mamografie, MRI,

UZ prsů, UZ břicha (včetně hodnocení kalichopánvičkového systému), tumor marker CA125, expertní gynekologický UZ, případně CT nebo MRI pánve při nejasnostech gynekologického nálezu. Při rozhodování o rozsahu a radikalitě gynekologické operace nutno tedy brát v úvahu řadu významných faktorů a postup individualizovat:

- u závažných genetických poruch potvrzených genetickým testováním, s prokázaným vysokým rizikem vzniku gynekologických malignit se přikláníme k provedení komplexního výkonu (hysterektomie s adnexektomií);
- je nutno rozlišovat, zda se jedná o zdravou nosičku nebo již onkologicky nemocnou ženu (vliv terapie tamoxifenem s rizikem hyperplazie nebo jiná patologie v oblasti endometria); v těchto případech je rovněž vhodnější komplexní výkon (hysterektomie s adnexektomií);
- aktuální gynekologický nález a nálezy, pro něž je dotyčná dlouhodobě sledována (dysplazie čípku, myomatóza, endometrióza, ovariální cysty, polypy endometria, atd.);
- provedení samotné adnexektomie u zdravých nosiček mutace *BRCA1/2* má význam v prevenci vzniku karcinomu prsu;
- vždy doporučujeme provedení hysterektomie, především u nosiček mutace genu *BRCA1*.

Rozhodující slovo má pacientka, neboť podmínkou operace je písemný informovaný souhlas s rozsahem a typem výkonu s plnou informací o pooperačních změnách, které po zákroku nastanou, včetně vysvětlení možností jejich řešení (estrogen deficitní syndrom).

Technické provedení

Preferujeme laparoskopické a laparovaginální techniky. Rozhodne-li se pacientka pro hysterektomii, pak totální laparoskopickou hysterektomii nebo laparoskopicky asistovanou vaginální hysterektomii dle velikosti dělohy. Přeje-li si pacientka dělohu zachovat, je třeba resekovat vejcovody co nejbližší rohům děložním. Ligamentum suspensorium ovarii má být přerušeno 1–2 cm od okraje ovaria. Součástí operace je laváž

dutiny břišní a pečlivá explorace celé dutiny s popisem v operačním protokolu (detailně popsat nález v dutině břišní, vzhled serózy, vaječníků a vejcovodů a povrchu jater a bránice) a event. s odebráním biopsií ze suspektních míst.

Při nepříznivých anatomických podmínkách v dutině břišní (četné adheze, endometrióza) je nutno odstranit veškeré ovariální a tubární tkáně a detailně v protokolu výkonu popsat možnost ponechaného residua.

Určité opatrnosti a rozvahy je třeba, pokud pacientka plánuje profylaktickou mastektomii s rekonstrukcí pomocí TRAM nebo DIEP laloků. V takovém případě je při zavádění portů pro laparoskopii třeba pečlivě šetřit hlubokou dolní epigastrickou arterii a perforátory v okruhu 8 cm kolem pupku. V případě nutnosti Pfannenstielova řezu vést incizi co nejnižší. Střední laparotomie je pak významnou překážkou pro možnost rekonstrukce prsů vlastní tkání.

Histopatologické vyšetření

Výskyt okultního karcinomu tuby nebo ovaria je uváděn ve 2–10 %. Veškerý operační materiál je nutno kvalitně histologicky vyšetřit. Obě tuby musí být vyšetřeny sériovými řezy po 2–3 mm dle protokolu SEE-FIM (sectioning and extensively examining the fimbria). Děloha a výplachová cytologie zpracovány standardním způsobem [56].

Preimplantační genetická diagnostika

Hereditární mutace genů *BRCA1* a *BRCA2* patří mezi monogenně podmíněné dispozice s neúplnou penetrancí a pozdější manifestací klinických symptomů. V dětském věku nejsou (s výjimkou extrémně vzácné homozygoty pro mutace genu *BRCA2*) nosiči těchto mutací ohroženi vznikem nádorů. Na současné úrovni poznání a nastavení etických mezí nelze páru nabízet prenatální diagnostiku (tedy vyšetření genotypu plodu v děloze) mutací genů *BRCA1* a *BRCA2*. Nosičkám či nosičům mutací genů *BRCA1/2* však lze nabídnout preimplantační genetickou diagnostiku (PGD), tedy metodu založenou na selekci *in vitro* fertilizovaných oocytů, resp. vzniklých embryí, která je obecně eticky akceptována [57]. Indikací

k provedení PGD dává klinický genetik na základě zájmu páru o tuto metodu a poučení páru o možnostech selhání PGD. Klinický genetik zváží mutační analýzu i u druhého partnera, event. zváží nutnost vyloučení jiných dědičných chorob u obou partnerů a odešle pár s indikací PGD do centra asistované reprodukce. Součástí PGD je *in vitro* fertilizace (IVF) – ženě jsou podány většinou agonisté GnRH (gonadotropine-releasing hormone) ke stimulaci dozrání většího množství folikulů. V krátké celkové anestezii jsou pak folikuly pod ultrazvukovou kontrolou vaginálně odsáty a v laboratorních podmínkách oplodněny spermii partnera metodou ICSI (intracytoplasmatic sperm injection), tedy přímým zavedením (injektáží) spermie do vajíčka. Vzniklá embrya jsou kultivována cca 3–5 dnů. Ve stadiu 6–8 buněk (tři dny po oplození) jsou z embrya odebrány 1–2 buňky k provedení vlastní genetické analýzy. Analýza většinou zahrnuje tzv. preimplantační genetickou haplotypizaci, tj. kromě detekce vlastní mutace i stanovení polymorfních mikrosatelitárních markerů k ověření heterozygoty vzorku a vyloučení tzv. allelic drop-out (ADO), tedy ztráty jedné alely při amplifikaci. Přesto se ADO (a tím i falešná negativita vyšetření) může pohybovat v jednotkách procent [58]. Příprava vlastního vyšetření pro konkrétní pár také vyžaduje určitou dobu (zpravidla 6–9 měsíců).

Proces IVF může ženě přinést určitá rizika – vznik ovariálního hyperstimulačního syndromu (0,5–5 %), riziko ektopické gravidity (0,5–3 %) a riziko pelveoperitonitidy po odběru oocytů (0,5–1 %) [59]. Pravděpodobnost otěhotnění po vložení embrya do dělohy není absolutní, u zdravých žen postupujících PGS se pohybuje v rozmezí 40–50 % [60]. Rizika pro samotné těhotenství jsou spojena především s rizikem vícečetné gravidity a měla by být pečlivě diskutována s párem v centru asistované reprodukce. Sledování těhotné ženy po PGD se zpravidla neliší od sledování po spontánním otěhotnění.

Závěr

Ženy s hereditární dispozicí ke vzniku gynekologických zhoubných nádorů

představují specifickou skupinu, u níž je, na rozdíl od majority, identifikován zásadní rizikový faktor. V posledních 15 letech, kdy se péče o tyto pacientky rozvíjí, bylo shromážděno množství dat, která nám dovolují nastavit preventivní péči, včetně chirurgických preventivních přístupů. Gynekolog a onkogynekolog jsou nedílnou součástí týmu pečujícího o nosičky hereditárních mutací. Organizace onkologické a onkogynekologické péče v ČR dovoluje soustředit většinu pacientek do specializovaných center s patřičným vybavením a především erudiicí. Předkládaná práce shrnuje současné znalosti v této oblasti a její autoři doufají, že může sloužit jako podklad utváření standardů pro centra zabývající se péčí o ženy v hereditárním riziku, popř. i otevřít diskuzi o zajištění péče o tyto ženy v ČR.

Literatura

1. Risch HA, McLaughlin JR, Cole DE et al. Prevalence and penetrance of germline BRCA1 and BRCA2 mutations in a population series of 649 women with ovarian cancer. *Am J Hum Genet* 2001; 68(3): 700–710.
2. King MC, Marks JH, Mandell JB. Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2. *Science* 2003; 302(5645): 643–646.
3. Zikan M. Hereditární syndromy. In: Cibula D, Petruželka L (eds). *Onkogynekologie*. Praha: Grada 2009: 614.
4. Bolton KL, Chenevix-Trench G, Goh C et al. Association between BRCA1 and BRCA2 mutations and survival in women with invasive epithelial ovarian cancer. *JAMA* 2012; 307(4): 382–390. doi: 10.1001/jama.2012.20.
5. Plevova P, Novotny J, Petrakova K et al. Hereditary breast and ovarian cancer syndrome. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl): S8–S11.
6. Hogg R, Friedlander M. Biology of epithelial ovarian cancer: implications for screening women at high genetic risk. *J Clin Oncol* 2004; 22(7): 1315–1327.
7. Buys SS, Partridge E, Black A et al. Effect of screening on ovarian cancer mortality: the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) cancer screening randomized controlled trial. *JAMA* 2011; 305(22): 2295–2303. doi: 10.1001/jama.2011.766.
8. Buys SS, Partridge E, Greene MH et al. Ovarian cancer screening in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) cancer screening trial: findings from the initial screen of a randomized trial. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 193(5): 1630–1639.
9. Kobayashi H, Yamada Y, Sado T et al. A randomized study of screening for ovarian cancer: a multicenter study in Japan. *Int J Gynecol Cancer* 2008; 18(3): 414–420.
10. Menon U, Gentry-Maharaj A, Hallett R et al. Sensitivity and specificity of multimodal and ultrasound screening for ovarian cancer, and stage distribution of detected cancers: results of the prevalence screen of the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKTOCS). *Lancet Oncol* 2009; 10(4): 327–340. doi: 10.1016/S1470-2045(09)70026-9.
11. Menon U, Griffin M, Gentry-Maharaj A. Ovarian cancer screening – current status, future directions. *Gynecol Oncol* 2014; 132(2): 490–495. doi: 10.1016/j.ygyno.2013.11.030.
12. Hermesen BB, Olivier RJ, Verheijen RH et al. No efficacy of annual gynaecological screening in BRCA1/2 mutation carriers; an observational follow-up study. *Br J Cancer* 2007; 96(9): 1335–1342.
13. Stirling D, Evans DG, Pichert G et al. Screening for familial ovarian cancer: failure of current protocols to detect ovarian cancer at an early stage according to the international Federation of gynecology and obstetrics system. *J Clin Oncol* 2005; 23(24): 5588–5596.
14. Rosenthal AN, Fraser L, Manchanda R et al. Results of annual screening in phase I of the United Kingdom familial ovarian cancer screening study highlight the need for strict adherence to screening schedule. *J Clin Oncol* 2013; 31(1): 49–57. doi: 10.1200/JCO.2011.39.7638.
15. Skates SJ, Mai P, Horick NK et al. Large prospective study of ovarian cancer screening in high-risk women: CA125 cut-point defined by menopausal status. *Cancer Prev Res* 2011; 4(9): 1401–1408. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-10-0402.
16. Greene MH, Piedmonte M, Alberts D et al. A prospective study of risk-reducing salpingo-oophorectomy and longitudinal CA-125 screening among women at increased genetic risk of ovarian cancer: design and baseline characteristics: a Gynecologic Oncology Group study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17(3): 594–604. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-07-2703.
17. Van Calster B, Timmerman D, Bourne T et al. Discrimination between benign and malignant adnexal masses by specialist ultrasound examination versus serum CA-125. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99(22): 1706–1714.
18. Valentin L, Jurkovic D, Van Calster B et al. Adding a single CA 125 measurement to ultrasound imaging performed by an experienced examiner does not improve preoperative discrimination between benign and malignant adnexal masses. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009; 34(3): 345–354. doi: 10.1002/uog.6415.
19. Antoniou AC, Rookus M, Andrieu N et al. Reproductive and hormonal factors, and ovarian cancer risk for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from the International BRCA1/2 Carrier Cohort Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18(2): 601–610. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-08-0546.
20. McLaughlin JR, Risch HA, Lubinski J et al. Reproductive risk factors for ovarian cancer in carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations: a case-control study. *Lancet Oncol* 2007; 8(1): 26–34.
21. Modan B, Hartge P, Hirsh-Yechezkel G et al. Parity, oral contraceptives, and the risk of ovarian cancer among carriers and noncarriers of a BRCA1 or BRCA2 mutation. *N Engl J Med* 2001; 345(4): 235–240.
22. Narod SA, Risch H, Moslehi R et al. Oral contraceptives and the risk of hereditary ovarian cancer. Hereditary Ovarian Cancer Clinical Study Group. *N Engl J Med* 1998; 339(7): 424–428.
23. Narod SA, Dube MP, Klijn J et al. Oral contraceptives and the risk of breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94(23): 1773–1779.
24. Cibula D, Zikan M, Dusek L et al. Oral contraceptives and risk of ovarian and breast cancers in BRCA mutation carriers: a meta-analysis. *Expert Rev Anticancer Ther* 2011; 11(8): 1197–1207. doi: 10.1586/era.11.38.
25. Antoniou AC, Shenton A, Maher ER et al. Parity and breast cancer risk among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Breast Cancer Res* 2006; 8(6): R72.
26. Cullinane CA, Lubinski J, Neuhausen SL et al. Effect of pregnancy as a risk factor for breast cancer in BRCA1/BRCA2 mutation carriers. *Int J Cancer* 2005; 117(6): 988–991.
27. Kotsopoulos J, Lubinski J, Salmena L et al. Breastfeeding and the risk of breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Breast Cancer Res* 2012; 14(2): R42.
28. Vashi R, Hooley R, Butler R et al. Breast imaging of the pregnant and lactating patient: physiologic changes and common benign entities. *AJR Am J Roentgenol* 2013; 200(2): 329–336. doi: 10.2214/AJR.12.9845.
29. Vashi R, Hooley R, Butler R et al. Breast imaging of the pregnant and lactating patient: imaging modalities and pregnancy-associated breast cancer. *AJR Am J Roentgenol* 2013; 200(2): 321–328.
30. Kotsopoulos J, Librach CL, Lubinski J et al. Infertility, treatment of infertility, and the risk of breast cancer among women with BRCA1 and BRCA2 mutations: a case control study. *Cancer Causes Control* 2008; 19(10): 1111–1119. doi: 10.1007/s10552-008-9175-0.
31. Norquist BM, Garcia RL, Allison KH et al. The molecular pathogenesis of hereditary ovarian carcinoma: alterations in the tubal epithelium of women with BRCA1 and BRCA2 mutations. *Cancer* 2010; 116(22): 5261–5271. doi: 10.1002/cncr.25439.
32. Kauff ND, Domchek SM, Friebe TM et al. Risk-reducing salpingo-oophorectomy for the prevention of BRCA1- and BRCA2-associated breast and gynecologic cancer: a multicenter, prospective study. *J Clin Oncol* 2008; 26(8): 1331–1337.
33. Rebbeck TR, Lynch HT, Neuhausen SL et al. Prophylactic oophorectomy in carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. *N Engl J Med* 2002; 346(21): 1616–1622.
34. Mitrunen K, Hirvonen A. Molecular epidemiology of sporadic breast cancer. The role of polymorphic genes involved in oestrogen biosynthesis and metabolism. *Mutat Res* 2003; 544(1): 9–41.
35. Heemskerk-Gerritsen BA, Seynaeve C, van Asperen CJ et al. Breast cancer risk after salpingo-oophorectomy in healthy BRCA1/2 mutation carriers: revisiting the evidence for risk reduction. *J Natl Cancer Inst* 2015; 107(9): pii: djv217. doi: 10.1093/jnci/djv217.
36. Domchek SM, Friebe TM, Neuhausen SL et al. Mortality after bilateral salpingo-oophorectomy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: a prospective cohort study. *Lancet Oncol* 2006; 7(3): 223–229.
37. Ford D, Easton DF, Stratton M et al. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet* 1998; 62(3): 676–689.
38. Struwing JP, Hartge P, Wacholder S et al. The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews. *N Engl J Med* 1997; 336(20): 1401–1408.
39. Cibula D, Widschwendter M, Majek O et al. Tubal ligation and the risk of ovarian cancer: review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2011; 17(1): 55–67. doi: 10.1093/humupd/dmq030.
40. Beiner ME, Finch A, Rosen B et al. The risk of endometrial cancer in women with BRCA1 and BRCA2 mutations: a prospective study. *Gynecol Oncol* 2007; 104(1): 7–10.
41. Schorge JO, Modesitt SC, Coleman RL et al. SGO White Paper on ovarian cancer: etiology, screening and surveillance. *Gynecol Oncol* 2010; 119(1): 7–17. doi: 10.1016/j.ygyno.2010.06.003.
42. Radosa JC, Meyberg-Solomayer G, Kastl C et al. Influences of different hysterectomy techniques on patients' postoperative sexual function and quality of life. *J Sex Med* 2014; 11: 2342–2350. doi: 10.1111/jsm.12623.
43. Pauls RN. Impact of gynecological surgery on female sexual function. *Int J Impot Res* 2010; 22(2): 105–114. doi: 10.1038/ijir.2009.63.
44. Duru C, Jha S, Lashen H. Urodynamic outcomes after hysterectomy for benign conditions: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol Surv* 2012; 67(1): 45–54. doi: 10.1097/OGX.0b013e318240aa28.
45. de Jong D, Rosen BF, Finch A et al. Low incidence of ovarian cancer established by prophylactic hysterectomy and BSO in patients with BRCA1 and BRCA2 mutations. *IGCS* 2008. Bangkok 2008.
46. Kurman RJ, Shih IE M. The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: a proposed unifying

- ing theory. *Am J Surg Pathol* 2010; 34(3): 433–443. doi: 10.1097/PAS.0b013e3181cf3d79.
47. Falconer H, Yin L, Gronberg H et al. Ovarian cancer risk after salpingectomy: a nationwide population-based study. *J Natl Cancer Inst* 2015; 107(2): pii: dju410. doi: 10.1093/jnci/dju410.
48. Powell CB, Chen LM, McLennan J et al. Risk-reducing salpingo-oophorectomy (RrSO) in BRCA mutation carriers: experience with a consecutive series of 111 patients using a standardized surgical-pathological protocol. *Int J Gynecol Cancer* 2011; 21(5): 846–851. doi: 10.1097/IGC.0b013e31821bc7e3.
49. Manchanda R, Abdelraheim A, Johnson M et al. Outcome of risk-reducing salpingo-oophorectomy in BRCA carriers and women of unknown mutation status. *BJOG* 2011; 118(7): 814–824.
50. Madalinska JB, Hollenstein J, Bleiker E et al. Quality-of-life effects of prophylactic salpingo-oophorectomy versus gynecologic screening among women at increased risk of hereditary ovarian cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23(28): 6890–6898.
51. Holmberg L, Anderson H. HABITS (hormonal replacement therapy after breast cancer – is it safe?), a randomized comparison: trial stopped. *Lancet* 2004; 363(9407): 453–455.
52. Bundred NJ, Kenemans P, Yip CH et al. Tibolone increases bone mineral density but also relapse in breast cancer survivors: LIBERATE trial bone substudy. *Breast Cancer Res* 2012; 14(1): R13.
53. Kenemans P, Bundred NJ, Foidart JM et al. Safety and efficacy of tibolone in breast-cancer patients with vasomotor symptoms: a double-blind, randomized, non-inferiority trial. *Lancet Oncol* 2009; 10(2): 135–146. doi: 10.1016/S1470-2045(08)70341-3.
54. Chlebowski RT, Kuller LH, Prentice RL et al. Breast cancer after use of estrogen plus progestin in postmenopausal women. *N Engl J Med* 2009; 360(6): 573–587. doi: 10.1056/NEJMoa0807684.
55. Rebbeck TR, Friebe T, Wagner T et al. Effect of short-term hormone replacement therapy on breast cancer risk reduction after bilateral prophylactic oophorectomy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: the PROSE Study Group. *J Clin Oncol* 2005; 23(31): 7804–7810.
56. Medeiros F, Muto MG, Lee Y et al. The tubal fimbria is a preferred site for early adenocarcinoma in women with familial ovarian cancer syndrome. *Am J Surg Pathol* 2006; 30(2): 230–236.
57. Quinn GP, Vadapampil ST, Bower B et al. Decisions and ethical issues among BRCA carriers and the use of preimplantation genetic diagnosis. *Minerva Med* 2009; 100(5): 371–383.
58. Hüttelova R, Kleibl Z, Rezatova J et al. Prerequisites for preimplantation genetic diagnosis (PGD) in carriers of mutations responsible for hereditary cancers. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl): S69–S74.
59. Delvigne A, Rozenberg S. Epidemiology and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSs): a review. *Hum Reprod Update* 2002; 8(6): 559–577.
60. McArthur SJ, Leigh D, Marshall JT et al. Pregnancies and live births after trophoctoderm biopsy and preimplantation genetic testing of human blastocysts. *Fertil Steril* 2005; 84(6): 1628–1636.

PALB2 jako další kandidátní gen pro genetické testování u pacientů s hereditárním karcinomem prsu v České republice

PALB2 as Another Candidate Gene for Genetic Testing in Patients with Hereditary Breast Cancer in Czech Republic

Janatová M.¹, Borecká M.¹, Soukupová J.¹, Kleiblová P.¹, Stříbrná J.¹, Vočka M.², Zemánková P.¹, Panczak A.³, Veselá K.³, Souček P.⁴, Foretová L.⁵, Kleibl Z.¹

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

² Onkologická klinika 1. LF UK a VFN v Praze

³ Ústav biologie a lékařské genetiky, 1. LF UK a VFN v Praze

⁴ Oddělení toxikogenomiky, Státní zdravotní ústav, Praha

⁵ Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů, Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn

Východiska: Gen *PALB2* (*FANCN*) kóduje DNA reparační protein, který byl objeven jako součást endogenního multiproteinového komplexu BRCA2. Společně s proteiny BRCA1 a BRCA2 se *PALB2* funkčně podílí na opravách dvouřetězcových zlomů DNA. Dědičné mutace v genu *PALB2* jsou u heterozygotních nositelů spojeny se zvýšeným rizikem vzniku karcinomu prsu a pankreatu. Riziko vzniku karcinomu prsu u nositelek mutací *PALB2* genu se odhaduje na 33–58 % v závislosti na počtu příbuzných s tímto onemocněním. Riziko vzniku karcinomu pankreatu u nositelů mutací je doposud nejasné. **Metody a výsledky:** Z výsledků studie mutací v genu *PALB2* u vysoce rizikových pacientů s karcinomem prsu a/nebo ovaria bez přítomnosti *BRCA1/2* mutací v České republice vyplývá, že frekvence dědičných mutací genu *PALB2* v naší populaci je u těchto pacientů poměrně vysoká. Necelých 20 % patogenních variant představují rozsáhlé intragenové přestavby *PALB2*. Nejvyšší podíl mutací (srovnatelný s četností mutací v genu *BRCA2*) byl zaznamenán v podskupině pacientek s vícečetným výskytem karcinomu prsu (5,5 %). Frekvence patogenních mutací v nezávislém souboru vyšetřených neselektovaných pacientů s karcinomem pankreatu se v naší populaci pohybuje okolo 1,3 %. **Závěr:** Vzhledem k četnosti výskytu mutací *PALB2* v naší populaci, fenotypové podobnosti s *BRCA2* a k stanovenému riziku vzniku karcinomu prsu je vhodné indikovat testování genu *PALB2*, včetně analýz velkých genomových přestaveb, především u pacientek z podskupiny s hereditárním karcinomem prsu. Nositele patogenních mutací lze zařadit do dalšího klinického sledování, obdobného jako u nositelů mutací v *BRCA2*, umožňujícího časnou diagnostiku onemocnění, prevenci a popřípadě cílenou terapii. V případě vysoké rodinné zátěže a současné segregace patogenní mutace s nádorovým fenotypem lze na *PALB2* mutace nahlížet jako na vysoce penetrantní alterace indikující provedení preventivních chirurgických výkonů u jejich nositelů. Další analýzy v různých populacích a zvětšení studovaných souborů budou potom nezbytné pro přesný odhad penetrance genu *PALB2* a k upřesnění rizika vzniku karcinomu pankreatu.

Klíčová slova

hereditární karcinom prsu a ovaria – karcinom pankreatu – gen *PALB2* – nádorová predispozice – genetické testování

Práce byla realizována za podpory grantů: IGA MZ ČR – NT 14006-3/2013 a NT13343-4/2012, a Karlovy Univerzity v Praze – PRVOUK-P27/LF1/1 a SVV-UK 260148/2015.

This study was supported by grants IGA MH CZ NT14006-3/2013 and NT13343-4/2012, and Charles university in Prague – PRVOUK-P27/LF1/1 a SVV-UK 260148/2015.

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 recommendation for biomedical papers.



RNDr. Markéta Janatová, Ph.D.

Ústav biochemie
a experimentální onkologie

1. LF UK v Praze

U Nemocnice 5

128 53 Praha 2

e-mail: Marketa.Janatova2@vfn.cz

Obdrženo/Submitted: 6. 8. 2015

Přijato/Accepted: 14. 8. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2016531>

Summary

Background: The *PALB2* (*FANCN*) gene was identified as a component of endogenous *BRCA2* complex that encodes a DNA repair protein participating along with *BRCA1* and *BRCA2* proteins in DNA double-strand break repair. Hereditary *PALB2* mutations are associated with an increased risk of breast and pancreatic cancers in heterozygotes. Breast cancer risk for *PALB2* mutation carriers has recently been estimated at 33–58% depending on family history of breast cancer; pancreatic cancer risk in carriers of *PALB2* mutations has not been precisely quantified, yet. **Materials and Results:** Results of a study identifying *PALB2* mutations in high-risk, *BRCA1/2*-negative, breast and/or ovarian cancer patients in the Czech Republic indicate that the frequency of hereditary *PALB2* mutations in our population is quite high. Interestingly, almost 20% of all recognized mutations comprised large genomic rearrangements. The highest proportion of *PALB2* mutations (comparable with the number of mutations reported for *BRCA2*) was found in a subgroup of hereditary breast cancer patients (5.5%). Frequency of mutations in an independent group of Czech unselected pancreatic cancer patients was approximately 1.3%. **Conclusion:** Considering the frequency of pathogenic, hereditary *PALB2* mutations in our population, their phenotypic similarity to *BRCA2*, and expected risk of breast cancer associated with *PALB2* mutations, its screening (including large genomic rearrangements) should be encouraged in patients from hereditary breast cancer families. The follow-up of pathogenic *PALB2* mutation carriers should be similar to that in *BRCA2* mutation carriers, enabling early diagnosis, prevention, and possible targeted therapy. Preventive surgical interventions for the carriers could be considered in case of strong family cancer history and evident segregation of a pathogenic mutation with a tumor phenotype. Additional analysis of various cancer patient populations and further meta-analyses will be necessary for accurate assessment of *PALB2* gene penetrance and its significance for the risk of pancreatic and other cancers.

Key words

hereditary breast and ovarian cancer syndrom – pancreatic neoplasms – *PALB2* gene – genetic predisposition – genetic testing

Úvod

Hereditární forma nádorů prsu tvoří 5–10 % případů karcinomu prsu. Vznikají především na podkladě přítomnosti dominantně zděděné mutace v některém z predispozičních genů. Mutace ve dvou hlavních predispozičních genech *BRCA1* a *BRCA2* reprezentují nejdůležitější genetický rizikový faktor u pacientek s hereditárním karcinodem prsu (hereditary breast cancer – HBC). Hereditární mutace v těchto dvou genech ovšem společně vysvětlují pouze asi jednu čtvrtinu dědičných případů karcinomu prsu [1]. Postupně byly charakterizovány další geny zvyšující riziko karcinomu prsu (*ATM*, *CHEK2*, *TP53* a *NBN*), jejichž alterace jsou mnohem méně časté, společně odpovídají zhruba za další 3–4 % hereditárních karcinomů prsu [2–5].

Struktura, funkce a význam *PALB2*

Protein *PALB2* byl objeven v roce 2006 jako součást rozsáhlého endogenního multiproteinového komplexu, který obsahuje *BRCA2* a podílí se na DNA reparačních pochodech [6]. Dále interaguje s proteinem *BRCA1* a zprostředkovává tak fyzické a funkční spojení obou proteinů, z čehož vyplývá jeho zásadní funkce v opravě dvouřetězcových zlomů DNA cestou homologní rekombinace [7]. Poškození této signální dráhy pak vede k akumulaci alterací DNA, po-

škození dalších genů, nestabilitě genomu a k nádorové transformaci [8].

Gen *PALB2* byl lokalizován na krátkém raménku chromozomu 16. Skládá se ze 13 exonů a kóduje protein o 1 186 aminokyselinách. Patří do skupiny genů, jejichž homozygotní vrozené patologické mutace způsobují vzácné onemocnění – Fanconiho anémii (FA). *PALB2* je označován jako *FANCN*, jehož bialelické mutace jsou příčinou vzniku FA subtypu N, který je fenotypově podobný subtypu FA-D1 způsobenému bialelickými mutacemi genu *BRCA2* [9].

Vrozené mutace *PALB2* predisponují ke vzniku karcinomu prsu a pankreatu

Heterozygotní vrozené mutace jsou spojeny se zvýšeným rizikem vzniku karcinomu prsu a pankreatu, podobně jako mutace v genu *BRCA2* [10]. Frekvence hereditárních patologických mutací genu *PALB2* se v různých populacích pohybuje mezi 1 a 3,4 % (shrnutí v [11]). Absolutní riziko vzniku karcinomu prsu u nositelek patologických mutací v genu *PALB2* je významně ovlivněno přítomností dalších karcinomů prsu v rodině. Původně bylo odhadnuto, že *PALB2* mutace jsou spojeny s 2,3krát zvýšeným rizikem vzniku karcinomu prsu [12]. V poslední studii zahrnující 175 rodin ale bylo toto riziko u nositelek bez přítomnosti karcinomu prsu v rodině vyčísleno na 33 % (95% CI

25–44), u nositelek mutace se dvěma či více karcinomy prsu v rodině bylo stanoveno na 58 % (95% CI 50–66) [13].

Analýza genu *PALB2* u karcinomu prsu v ČR a ve světě

Mutační analýza provedená v ČR u 409 vysoce rizikových pacientek s karcinodem prsu nebo ovaria negativně testovaných na přítomnost mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2* prokázala přítomnost 10 různých patologických mutací způsobujících zkrácení proteinového produktu genu *PALB2* u 16 nepříbuzných pacientek (16/409; 3,9 %) (tab. 1). Mutační analýza kompletní kódující sekvence byla provedena pomocí Sangerova sekvenování a MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) analýzy pro odhalení velkých genomových přestaveb. Nalezené mutace byly genotypovány u souboru 1 226 kontrolních vzorků DNA pomocí HRM (high resolution melting) analýzy. Pouze jedna mutace byla nalezena v kontrolním souboru (1/1 226; 0,08 %; $p = 2,6 \times 10^{-9}$). Tři z nalezených patologických alterací představovaly velké genomové přestavby. Body zlomu, které je ohraničují, byly přesně identifikovány. Významným výsledkem je fakt, že 13 mutací bylo nalezeno v podskupině pacientek s hereditárním karcinodem prsu z HBC rodin, kde představují frekvenci 5,5 % (tab. 1). To je dosud nejvyšší frekvence ze všech publikovaných

Tab. 1. Výsledky analýzy genu *PALB2* u vysoce rizikových pacientek s karcinodem prsu a/nebo ovaria v české populaci (podle Janatova et al 2013 [14]).

Skupina	Počet pacientek	Průměrný věk	BRCAPRO	Počet mutací (%)
případy s pozitivní rodinnou anamnézou (n = 330)				
^a HBC rodiny	235	47,2	0,16	13 (5,5)
^b HBOC rodiny	90	47,8	0,35	0
^c HOC rodiny	5	40,2	0,35	0
případy bez rodinné anamnézy (n = 79)				
BC u muže	22	64,7	0,14	1 (4,5)
bilaterální BC, první do 50 let	39	43,7	0,30	1 (2,6)
nádorová duplicita, BC + OC	18	53,7	0,33	1 (5,6)
celkem	409			16 (3,9)
kontroly	1 226			1 (0,08)

^aHBC – hereditární karcinom prsu; ^bHBOC – hereditární karcinom prsu a ovaria;^cHOC – hereditární karcinom ovaria, BC – karcinom prsu, OC – karcinom ovaria

studií a blíží se četnosti mutací v genu *BRCA2* v naší populaci [14].

Průměrný věk diagnózy karcinomu prsu u pacientek z HBC podskupiny byl nižší u 13 nositelek mutací (44,3 roku) než u 222 nenositelů (47,4), ale tento rozdíl není statisticky významný ($p = 0,12$). Mírně snížený věk diagnózy u nositelek oproti nenositelkám je popisován ve většině dosavadních prací [12]. Mezi nádory spojenými s *PALB2* mutacemi převažoval invazivní duktální karcinom, pouze jeden nádor byl medulárního histologického typu. Histologické nálezy v nádorové tkáni byly dostupné u sedmi nositelek mutace v *PALB2*, ale nevykazovaly asociaci s expresí estrogenních, progesteronových nebo HER2/neu receptorů. Stejně tak z dosavadní literatury nevyplývá spojení mezi *PALB2* asociovanými tumory a konkrétním morfologickým či histologickým nádorovým typem. U pěti *PALB2* pozitivních pacientek byla provedena segregační analýza patogenní mutace s nádorovým fenotypem v DNA od dalších rodinných příslušníků. Segregace byla prokázána u čtyř z pěti rodin. Doposud bylo zveřejněno více než 50 prací sledujících výskyt mutací *PALB2* u pacientek s karcinodem prsu v různých geografických populacích; další práce referují o mutacích

v *PALB2* u vysoce rizikových osob analyzovaných v rámci panelového sekvenování nové generace (next-generation sequencing – NGS) [15]. Přesto doposud nebyla provedena rozsáhlejší metaanalýza, která by umožňovala zpřesnění rizika vzniku karcinomu prsu a odhadu jeho míry u dalších podskupin pacientů. V rodinách nositelek patogenních mutací *PALB2* se vyskytovaly i další nádory, nejčastěji tlustého střeva (pět případů), méně pankreatu (dva případy). Asociace s karcinodem ovaria nebyla v rodinách z našeho souboru potvrzena, pouze jedna nositelka vykazovala nádorovou duplicitu (karcinom prsu a ovaria). V literatuře jsou dědičné patogenní mutace v genu *PALB2* asociovány nejčastěji právě s karcinodem pankreatu, méně často ovaria a prostaty (shrnuje v [11]). Pro odhadnutí rizika těchto nádorových onemocnění u nositelů budou potřeba další práce.

Analýza genu *PALB2* u karcinomu pankreatu v ČR a ve světě

Podobně jako u genu *BRCA2* jsou defekty v *PALB2* spojovány s predispozicí ke vzniku karcinomu pankreatu [16]. V souvislosti s tímto onemocněním bylo zatím provedeno celkem 16 studií, které popisují frekvence *PALB2* mutací u 0–1,3 %

případů karcinomu pankreatu, přitom výskyt mutací u neselektovaných případů karcinomu pankreatu je přibližně poloviční ve srovnání s případy dědičné formy onemocnění. Mutace v *PALB2* jsou, po dědičných mutacích v genu *BRCA2* nacházených až v 7 % případů [17], druhou nejčastější genetickou příčinou vzniku hereditární formy karcinomu pankreatu. V naší populaci jsme dosud provedli mutační analýzu genu *PALB2* u 152 neselektovaných pacientů s karcinodem pankreatu, u kterých jsme překvapivě našli tři patogenní mutace (2,0 %). Pro účely případného genetického testování *PALB2* i u pacientů s karcinodem pankreatu bude nejprve nezbytné provést analýzu *PALB2* na rozšířených souborech pacientů.

Genetické testování *PALB2* v ČR a návrh preventivní péče o nositele mutací

Z výsledků analýz genu *PALB2* v ČR vyplývá, že v naší populaci je v porovnání s ostatními populacemi poměrně vysoká frekvence patogenních mutací v tomto genu u *BRCA1/2* negativních vysoce rizikových pacientek s karcinodem prsu z rodin s familiárním výskytem karcinomu prsu (HBC rodiny; 5,5 %). Analýzu mutací *PALB2* je tedy zvláště vhodné zařadit do genetického testování v takovýchto případech nebo případně při současném výskytu karcinomu prsu a pankreatu u příbuzných. Díky rozvoji technik panelového NGS, které umožňují paralelní analýzu mnoha genů u více pacientů a jsou postupně zařazovány do běžné klinicko-genetické praxe, bude pravděpodobně gen *PALB2* testován postupně u všech rizikových pacientů s karcinodem prsu. Přítomnost velkých genomových přestaveb, která byla identifikována u rizikových pacientek i v naší populaci, by měla být testována, např. pomocí MLPA analýzy.

S ohledem na funkční blízkost *PALB2* s *BRCA2*, podobné spektrum nádorové predispozice u nositelů mutací v těchto genech a pravděpodobně významné zvýšení celoživotního rizika vzniku karcinomu prsu by nositelky patogenních alterací v genu *PALB2* měly být zařazeny do sledovacích programů podobných jako pro nositelky mutací v genu

BRCA2. Ač jsou *PALB2* mutace individuálně vzácné, pro nositelky těchto mutací a jejich příbuzné jako potenciální nositele je znalost jejich přítomnosti vzhledem k navrženému riziku vzniku karcinomu prsu spojeného s těmito mutacemi klinicky významná. Nositelé patogenních mutací *PALB2* by měli být informováni o optimálním klinickém sledování odpovídajícímu spojenému riziku a možné léčbě, podobně jako nositelé mutací v genu *BRCA2*; v případě vysoké rodinné zátěže, kdy patogenní mutace segreguje s nádorovým fenotypem, i včetně preventivních chirurgických zákroků.

Závěr

Třebaže dosavadní výsledky klinických studií ukazují, že charakterizace mutací v genu *PALB2* má klinický význam zejména u nemocných s familiárním výskytem karcinomu prsu, další analýzy v různých populacích a zvětšení studovaných souborů budou nezbytné pro přesný odhad penetrance genu *PALB2* (v současnosti lze na patogenní mutace nahlížet jako na varianty na pomezí středního a vysokého rizika vzniku karcinomu prsu) a dále k upřesnění rizika vzniku karcinomu pankreatu nebo případně dalších nádorů. Tím bude možné zlep-

šit klinickou péči u nositelů těchto mutací a jejich příbuzných. Dále pomohou odhalit, zda genetické testování genu *PALB2* v budoucnu doporučit i u dalších rizikových skupin (např. karcinom prsu u mužů), popřípadě u pacientů s jinými nádorovými onemocněními (pankreatu, ovaria, tlustého střeva). Ve stadiu klinických studií je rovněž použití cílené léčby PARP inhibitory u nositelů mutací genu *PALB2* s karcinodem prsu nebo pankreatu [18].

Literatura

1. Pohlreich P, Zikan M, Stribrna J et al. High proportion of recurrent germline mutations in the *BRCA1* gene in breast and ovarian cancer patients from the Prague area. *Breast Cancer Res* 2005; 7(5): R728–R736.
2. 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.
3. Kleibl Z, Novotny J, Bezdickova 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.
4. Ticha I, Stribrna J, Soukupova J et al. Mutations in *CHEK2* and *TP53* genes in high-risk hereditary breast and ovarian cancer patients in the Czech Republic. *Eur J Cancer Suppl* 2011; 47 (Suppl 1): S132–S132.
5. 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. doi: 10.1007/s10549-012-2049-x.
6. 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.
7. Zhang F, Ma J, Wu J et al. *PALB2* links *BRCA1* and *BRCA2* in the DNA-damage response. *Curr Biol* 2009; 19(6): 524–529. doi: 10.1016/j.cub.2009.02.018.
8. Bartek J, Bartkova J, Lukas J. DNA damage signalling guards against activated oncogenes and tumour progression. *Oncogene* 2007; 26(56): 7773–7779.
9. Reid S, Schindler D, Hanenberg H et al. Biallelic mutations in *PALB2* cause Fanconi anemia subtype FA-N and predispose to childhood cancer. *Nat Genet* 2007; 39(2): 162–164.
10. Tischkowitz M, Xia B. *PALB2/FANCN*: recombining cancer and Fanconi anemia. *Cancer Res* 2010; 70(19): 7353–7359. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1012.
11. Southey MC, Teo ZL, Winship I. *PALB2* and breast cancer: ready for clinical translation! *Appl Clin Genet* 2013; 19(6): 43–52. doi: 10.2147/TACG.S34116.
12. 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.
13. Antoniou AC, Casadei S, Heikinen T et al. Breast-cancer risk in families with mutations in *PALB2*. *N Engl J Med* 2014; 371(6): 497–506. doi: 10.1056/NEJMoa1400382.
14. Janatova M, Kleibl Z, Stribrna J et al. The *PALB2* gene is a strong candidate for clinical testing in *BRCA1*- and *BRCA2*-negative hereditary breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013; 22(12): 2323–2332. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-13-0745-T.
15. Couch FJ, Hart SN, Sharma P et al. Inherited mutations in 17 breast cancer susceptibility genes among a large triple-negative breast cancer cohort unselected for family history of breast cancer. *J Clin Oncol* 2015; 33(4): 304–311. doi: 10.1200/JCO.2014.57.1414.
16. Jones S, Hruban RH, Kamiyama M et al. Exomic sequencing identifies *PALB2* as a pancreatic cancer susceptibility gene. *Science* 2009; 324(5924): 217. doi: 10.1126/science.1171202.
17. Becker AE, Hernandez YG, Frucht H et al. Pancreatic ductal adenocarcinoma: risk factors, screening, and early detection. *World J Gastroenterol* 2014; 20(32): 11182–11198. doi: 10.3748/wjg.v20.i32.11182.
18. Bhalla A, Saif MW. PARP-inhibitors in *BRCA*-associated pancreatic cancer. *JOP* 2014; 15(4): 340–343. doi: 10.6092/1590-8577/2690.

Retrospektivní NGS studie u vysoce rizikových pacientů s hereditární predispozicí k nádorovému onemocnění v Masarykově onkologickém ústavu

Retrospective NGS Study in High-risk Hereditary Cancer Patients at Masaryk Memorial Cancer Institute

Macháčková E., Házová J., Šťahlavá Hrabincová E., Vašíčková P., Navrátilová M., Svoboda M., Foretová L.

Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů, Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn

Východiska: V současné době bylo popsáno již více než 200 nádorových syndromů. Ve většině populací jsou však dostupné pouze informace o mutačním spektru ve vysoce rizikových genech limitované počtem vyšetřených jedinců. **Metody:** V rámci retrospektivní NGS studie v Masarykově onkologickém ústavu bylo provedeno vyšetření TruSight Cancer panelem zahrnujícím 94 genů u 50 vysoce rizikových jedinců se závažnou osobní i rodinnou anamnézou onkologického onemocnění bez detekované kauzální mutace v genech *BRCA1*, *BRCA2*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *TP53* nebo *APC* dle indikace. Všechny patogenní nebo pravděpodobně patogenní mutace detekované pomocí NGS technologie byly potvrzeny Sangerovým sekvenováním. **Výsledky:** Ztrátové (frame-shift, nonsense) mutace byly detekovány v genech *ATM*, *BAP1*, *FANCC*, *FANCI*, *PMS2*, *SBDS*, *ERCC2*, *RECQL4*. Několik patogenních nebo pravděpodobně patogenních mutací (missense, predikované sestřihové mutace, in-frame delece/inzerce) bylo zachyceno v genech *ATM*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *ERCC2*, *ERCC3*, *ERCC4*, *FANCA*, *MC1R*, *MEN1*, *MRE11A*, *MUTYH*, *PALB2*, *RAD51C*, *RET*, *SDHB*, *STK11*. Nacházejí se ve vysoce konzervovaných funkčních doménách proteinů a některé z nich již byly prokázány jako patogenní mutace pomocí funkčních testů nebo u závažných autozomálně recesivních syndromů (Ataxia telangiectasia, Fanconiho anémie). Většina z detekovaných missense variant v řadě dalších genů je nejasného klinického významu a determinace jejich významnosti zůstává otevřená do budoucna. **Závěr:** Detekce variant se střední nebo nízkou penetrancí má pouze limitovanou klinickou využitelnost. Panelové testování u vysoce rizikových osob s nádorovým onemocněním může poskytnout důležitou informaci o příčině nádorové predispozice a může pomoci s výběrem optimální léčby a v preventivní personalizované onkologii.

Klíčová slova

hereditární nádorové syndromy – hereditární nádor prsu a ovária – hereditární nepolypózní kolorektální karcinom – sekvenování nové generace – TruSight cancer panel – MiSeq

Práce byla podpořena MZ ČR – RVO (MOÚ, 00209805) a Evropským fondem pro regionální rozvoj a státním rozpočtem České republiky (OP VaVpl – RECAMO CZ.1.05/2.1.00/03.0101).

This work was supported by MH CZ – DRO (MMCI, 00209805) and by the State budget project of CR (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 recommendation for biomedical papers.



RNDr. Eva Macháčková, Ph.D.

Oddělení epidemiologie

a genetiky nádorů

Masarykův onkologický ústav

Žlutý kopec 7

656 53 Brno

e-mail: emachack@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 20. 8. 2015

Přijato/Accepted: 22. 9. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2016S35>

Summary

Background: Currently, more than 200 hereditary cancer syndromes have been described, yet, in most countries genetic testing is restricted to a narrow spectrum of genes within a limited group of people tested. **Methods:** For this retrospective study we used the TruSight cancer panel (Illumina) – NGS panel targeting 94 cancer predisposition genes in order to analyze 50 high-risk cancer patients with significant personal and family history of cancer who did not carry mutations in *BRCA1*, *BRCA2*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *TP53* or *APC* genes. All pathogenic and potentially pathogenic mutations detected by NGS technology have been confirmed by Sanger sequencing. **Results:** There were several deleterious (frame-shift/nonsense) mutations detected in *ATM*, *BAP1*, *FANCC*, *FANCI*, *PMS2*, *SBDS*, *ERCC2*, *RECQL4* genes. Various pathogenic or potentially pathogenic (missense, predicted splice site, in-frame insertion/deletion) mutations were detected in *ATM*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *ERCC2*, *ERCC3*, *ERCC4*, *FANCA*, *MC1R*, *MEN1*, *MRE11A*, *MUTYH*, *PALB2*, *RAD51C*, *RET*, *SDHB*, *STK11*. These mutations affect highly conserved protein domains and affect their function as proved by the available functional assays. They were confirmed to be pathogenic as an „Parent No2“ in serious recessive diseases such as Ataxia telangiectasia or Fanconi anemia. The clinical significance of the majority of detected missense variants still remains to be identified. **Conclusion:** Moderate or low penetrance variants are of limited clinical importance. Panel genetic testing in high-risk individuals with cancer provides important information concerning the cause of the investigated cancer, and may assist in the risk assessment and optimal management of the cancer, as well as in further preventive care.

Key words

hereditary cancer syndromes – hereditary breast and ovarian cancer syndrome – hereditary nonpolyposis colorectal cancer – high-throughput DNA sequencing – TruSight cancer panel – MiSeq

Úvod

Během posledních 20 let došlo k výraznému rozvoji v oblasti vyšetření genetické predispozice k nádorovým onemocněním. Na základě genetických vyšetření byla do klinické praxe zavedena léčebná a preventivní doporučení (guidelines) vedoucí ke snížení rizika a časnému zachytu onkologického onemocnění u osob s výraznou genetickou predispozicí s detekovanou mutací ve vysoce penetrantním genu: např. Li-Fraumeni syndrom (mutace v genu *TP53*), Lynchův syndrom (mutace v některém z „mismatch“ reparačních genů – *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* – u dědičného nepolypózního kolorektálního karcinomu), dědičná forma nádoru prsu a ovaria (mutace v genech *BRCA1*, *BRCA2*).

V současné době již bylo popsáno více než 200 různých nádorových syndromů (OMIM databáze), ale molekulárně genetické vyšetření bylo do současné doby dostupné pouze pro nejznámější vysoce rizikové geny.

Pokroky v sekvenční technologii – tzv. sekvenování nové generace (next-generation sequencing – NGS) – umožnily masivní testování sekvence desítek až stovek genů současně, což umožňuje testování známých i potenciálně rizikových genů, které jsou součástí signálních a reparačních drah významných pro nádorovou predispozici. Výrazné rozšíření spektra analyzovaných genů vede nejen k identifikaci kauzálních mutací ve vysoce rizikových genech, ale také k de-

tekci celé řady mutací s dosud nedeterminovanou mírou rizika nebo k detekci středně rizikových variant, které ovšem mohou ve vzájemných kombinacích výrazně navyšovat relativní riziko nádorové predispozice v postižených rodinách.

V současné době jsou nabízeny k vyšetření různé multigenové komerční panely cílené na predikci rizika ke vzniku nádorového onemocnění. K těm rozsáhlejším patří TruSight Cancer Target Genes panel (Illumina), který je jedním z nejčastěji používaných komerčních panelů v laboratořích západní Evropy. TruSight Cancer panel byl vyvinut ve spolupráci Illuminy s týmem profesorky Nazneen Rahman (Institute of Cancer Research ICR, London) v roce 2012 (http://www.illumina.com/products/trusight_cancer.html). Panel je cílen na sekvence 94 genů a 284 SNPs (single nucleotide polymorphisms), které byly v předchozích letech asociovány s hereditární predispozicí k nádorovému onemocnění.

Součástí TruSight Cancer panelu (http://www.illumina.com/products/trusight_cancer.html) jsou proby pro analýzu těchto genů: *AIP*, *ALK*, *APC*, *ATM*, *BAP1*, *BLM*, *BMP1A*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *BUB1B*, *CDC73*, *CDH1*, *CDK4*, *CDKN1C*, *CDKN2A*, *CEBPA*, *CEP57*, *CHEK2*, *CYLD*, *DDB2*, *DICER1*, *DIS3L2*, *EGFR*, *EPCAM*, *ERCC2*, *ERCC3*, *ERCC4*, *ERCC5*, *EXT1*, *EXT2*, *EZH2*, *FANCA*, *FANCB*, *FANCC*, *FANCD2*, *FANCE*, *FANCF*, *FANCG*, *FANCI*, *FANCL*, *FANCM*, *FH*, *FLCN*, *GATA2*, *GPC3*, *HNF1A*, *HRAS*, *KIT*, *MAX*, *MEN1*, *MET*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *MUTYH*, *NBN*, *NF1*, *NF2*, *NSD1*, *PALB2*, *PHOX2B*, *PMS1*, *PMS2*, *PRF1*,

PRKAR1A, *PTCH1*, *PTEN*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RB1*, *RECQL4*, *RET*, *RHBDF2*, *RUNX1*, *SBDS*, *SDHAF2*, *SDHB*, *SDHC*, *SDHD*, *SLX4*, *SMAD4*, *SMARCB1*, *STK11*, *SUFU*, *TMEM127*, *TP53*, *TSC1*, *TSC2*, *VHL*, *WRN*, *WT1*, *XPA*, *XPC*.

V naší retrospektivní studii jsme se zaměřili na otestování komerčně dostupného TruSight Cancer panelu a možnost jeho využití pro odhalení příčiny nádorové predispozice u dříve neobjasněných retrospektivních případů.

Soubor pacientů

Pilotní retrospektivní studie byla provedena u 50 vzorků genomové DNA izolované z periferní krve. DNA byla získána od pacientů s vysoce rizikovou osobní a rodinnou anamnézou výskytu onkologického onemocnění s různými druhy onkologických diagnóz, u kterých nebyla nalezena riziková mutace v rutinně analyzovaných vysoce rizikových genech. Většina z těchto vybraných pacientů byla již dříve vyšetřena na přítomnost mutací v genech *BRCA1*, *BRCA2* (hereditární syndrom nádoru prsu a ovaria – 28 pacientů), *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* nebo *APC* (hereditární syndrom nepolypózního nebo polypózního kolorektálního karcinomu – 10 pacientů) nebo *TP53* (Li-Fraumeni syndrom), případně na jiné vzácné, s vysokou pravděpodobností hereditární nádorové syndromy bez odhalené příčiny nádorové predispozice (nádory ledvin, mozkové nádory, maligní melanom atd.).

Všichni pacienti zařazení do retrospektivní studie souhlasili s vyšetřením genů,

které mohou způsobit predispozici k onkologickému onemocnění, podepsali informovaný souhlas s vyšetřením a souhlasili také s anonymním využitím DNA k lékařskému výzkumu.

Metody

Vyšetření bylo provedeno pomocí TruSight Cancer Target Genes panelu. Principem postupu je enzymatická fragmentace (tagmentace) 50 ng genomové DNA → indexování a pool knihovny → enrichment/hybridizační (TruSight Rapid Capture protocol) postup s ≈ 4 000 prób cílených na → 1 700 exonů 94 nádorově predispozičních genů (255 Kb cílových sekvencí). Sekvenační běh připravené knihovny (s MiSeq Reagent kit V2) na MiSeq systému (Illumina) → analýza pomocí MiSeq reporter software → anotace VCF souborů pomocí Illumina VariantStudio (www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/datasheet_trusight_cancer.pdf).

Výběr patogenních a potenciálně patogenních variant (predikce významnosti dle Align-GVGD, PolyPhen-2, SIFT programů u missense variant; predikce ovlivnění sestřihu dle GeneSplicer, NNSPLICE; BDGP Splice Site Prediction) → kontrola správnosti HGVS nomenklatury (www.hgvs.org) u in/del variant → kontrola a případně převedení nálezu na referenční sekvenci doporučenou v příslušných mezinárodních mutačních databázích (HGMD, LOVD, IARC atd.).

Navolení primerů k analýze sledovaných variant pomocí LightScanner Primer Design Software (Idaho Technology Inc.), optimalizace PCR (polymerase chain reaction) podmínek a PCR amplifikace sledované oblasti. Potvrzení přítomnosti významných (patogenních a potenciálně patogenních vhodných k segregační analýze) nálezů pomocí Sangerova sekvenování na 3130 Genetic Analyser (Applied Biosystems) a jeho ověření u nezávisle izolovaného vzorku DNA.

Segregační analýza u rodin zatížených patogenní nebo potenciálně patogenní variantou.

V případě potvrzování nálezů u genů s přítomností pseudogenů byla provedena dvoukolová „nested“ PCR vycházející z publikovaných primerů, kde autoři deklarovali amplifikaci specifických produktů bez přítomnosti pseudogenů. Pro analýzu genu *PMS2* byly použity primery pro Long-Range PCR (s použitím Expand Long Template PCR system, Roche) a vnitřní primery dle Vaughna et al [1]. Pro analýzu exonu 2. genu *SBDS* byly použity vnější primery dle Kawakamiho et al [2] a vnitřní primery byly navoleny softwarem LightScanner Primer Design (Idaho Technology Inc.).

Výsledky a vybrané kazuistiky

Téměř u poloviny z vyšetřených vzorků DNA byly detekovány patogenní nebo možné/pravděpodobně patogenní (IARC klasifikace UV-4: „likely pathogenic“) mutace v některém z 94 analyzovaných genů.

Ve skupině 28 pacientů s podezřením na dědičnou predispozici nádoru prsu a/nebo ovaria (dříve indikováni k analýze v genech *BRCA1*, *BRCA2* nebo v některých případech také k analýze genu *TP53* bez detekované kauzální mutace) byly nejčastěji detekovány mutace v dráhách reparace dvouřetězcových zlomů (geny *ATM*, *CHEK2*) a ICL (interstrand cross-links) reparace křížových vazeb v DNA (Fanconi anémie geny – *FANCA* geny) spřažené s homologní rekombinací (geny *BRIP1*, *RAD51C*, *PALB2*). Další dráhou s opakovanými záchyty pravděpodobně významných nálezů byla dráha nukleotidové excizní reparace (NER – geny *ERCC2*, *ERCC3*) a geny z rodiny RecQ helikáz (*RECQL4*, *WRN*), které se účastní DNA reparačních procesů. Souhrnné výsledky nálezů u skupiny s podezřením na dědičnou predispozici nádoru prsu a/nebo ovaria jsou uvedeny v tab. 1. Ztrátové (nonsense, frame-shift) mutace byly u této skupiny vyšetřených detekovány v genech: *ATM*, *FANCI*, *FANCC*, *RECQL4* a *SBDS*.

Patogenní missense mutace byly detekovány v genech *FANCA*, *BRIP1* a dále bylo zachyceno několik středně rizikových (≈ 2násobné zvýšení rizika) missense mutací v *CHEK2* genu a *MC1R* receptoru.

Nově detekovaným nálezem je missense mutace v genu *BRIP1* (synonymum *FANCI*, *BACH1*) p.Cys350Tyr u ženy s karcinomem prsu (kazuistika 1). *BRIP1* missense mutace p.Cys350Tyr je

Tab. 1. Nálezy u skupiny vyšetřených s převážně nádory prsu, ovaria, dělohy, štítné žlázy a nádory prostaty (28 vyšetřených jedinců).

Mutovaná dráha	Gen/RefSeq.	Patogenní mutace	Možná riziková (?) varianta: 4-IARC	Interpretace
ATM závislá DNA reparační dráha (dsDNA zlomy)	ATM NM_000051.3	c.1564G>T/ /p.Glu522*		PI3K ztrátová nonsense mutace
ATM závislá DNA reparační dráha (dsDNA zlomy)	ATM NM_000051.3	c.3849delA/ /p.Thr1284Glnfs*9		ztrátová frame-shift mutace
ATM závislá DNA reparační dráha (dsDNA zlomy)	ATM NM_000051.3	c.3848T>C/ /p.Leu1283Pro		mutace popsána jako kauzální (jedna ze dvou rodičovských alel) u dítěte s Ataxia telangiectasia
ATM/CHEK2 reparační dráha	CHEK2 NM_007194.3	c.470T>C/ /p.Ile157Thr		středně riziková alela (3krát detekováno)
ATM/CHEK2 reparační dráha	CHEK2 NM_007194.3		c.176C>A/ /p.Thr59Lys	vysoce konzervovaná SQ/TQ doména (PolyPhen2: 0,999; Align-GVGD: C65)

Tab. 1 – pokračování. Nález u skupiny vyšetřených s převážně nádory prsu, ovaria, dělohy, štítné žlázy a nádory prostaty (28 vyšetřených jedinců).

Mutovaná dráha	Gen/RefSeq.	Patogenní mutace	Možná riziková (?) varianta: 4-IARC	Interpretace
Fanconiho anémie: reparace křížových vazeb	FANCA NM_000135.2	c.1549C>T/ /p.Arg517Trp		mutace popsána jako kauzální (jedna ze dvou rodičovských alel) u ženy s pozdním projevem Fanconiho anémie a nádorem prsu [9]
Fanconiho anémie: reparace křížových vazeb	FANCA NM_000135.2		c.2939C>T/ /p.Ala980Val	nereportovaná, vysoce konzervovaná AA predikce patogenní (PolyPhen2: 1,00; Align-GVGD: C65)
Fanconiho anémie: reparace křížových vazeb	FANCA NM_000135.2		c.1874G>C/ /p.Cys625Ser	vysoce konzervovaná AA predikce patogenní (PolyPhen2: 0,99; Align-GVGD: C65) (2krát detekováno)
Fanconiho anémie: reparace křížových vazeb	FANCA NM_000135.2		c.3263C>T/ /p.Ser1088Phe	vysoce konzervovaná AA, predikce patogenní (PolyPhen2: 0,93; Align-GVGD: C65) – reportována konfliktní data – (6krát detekována)
Fanconiho anémie: reparace křížových vazeb	FANCI NM_001113378.1	c.3853C>T/ /p.Arg1285*		ztrátová mutace
Fanconiho anémie: reparace křížových vazeb	FANCC NM_001243743.1	c.455dupA/ /p.Asn152Lysfs*9		ztrátová mutace (OA: triplicita: nádor prsu, CRC nádor, melanom)
DNA reparace: dsDNA zlomy, reparace křížových vazeb, homologní rekombinace	BRIP1 NM_032043.2	c.1049G>A/ /p.Cys350Tyr		vysoce konzervovaná doména, jeden z vazebných cysteinů Fe-S domény; patogenní mutace [3]
DNA reparace: dsDNA zlomy, reparace křížových vazeb, homologní rekombinace	PALB2 NM_024675.3		c.2993G>A/ /p.Gly998Glu	konzervovaná AA, predikce patogenní (PolyPhen2: 1,0; Align-GVGD: C0) – reportována konfliktní data (2krát detekováno)
DNA reparace: homologní rekombinace	RAD51C NM_058216.1		c.859A>G/ /c.Thr287Ala	popsán defekt DNA reparace [5] – reportována konfliktní data
DNA reparace: homologní rekombinace	RAD51C NM_058216.1		c.335G>C/ /p.Gly112Ala	vysoce konzervovaná doména, predikce patogenní (PolyPhen2: 1,00; Align-GVGD: C55)
NER – nukleotidová excizní reparace	ERCC2 NM_000400.3	c.1703_1704delTT/ /p.Phe568Tyrfs*2		ztrátová mutace (2krát detekováno)
NER – nukleotidová excizní reparace	ERCC3 NM_000122.1		c.2087T>G/ /p.Met696Arg	vysoce konzervovaná doména, predikce: Align-GVGD: C65; PolyPhen2: 0,157
sukcinát dehydrogenázový komplex	SDHB NM_003000.2		c.487T>C/ /p.Ser163Pro	záměna popsána jako příčina „Cowden like“ syndromu [23] – reportována konfliktní data
RNA metabolismus	SBDS	c.184A>T/ /p.Lys62*		ztrátová nonsense mutace
melanocortin-1 receptor	MC1R NM_002386.3	c.451C>T/ /p.Arg151Cys		středně riziková alela (4krát detekováno)
RecQ helikáza (DNA reparace, rekombinace)	RECQL4 NM_004260.3	c.3008_3009delTTG/ /p.Val1003Alafs*29		ztrátová mutace
RecQ helikáza (DNA reparace, rekombinace)	RECQL4 NM_004260.3		c.212A>G/ /p.Glu71Gly	predikován aberantní sestřih (~55 % pro nativní místo sestřihu)
RecQ helikáza (DNA reparace, rekombinace)	WRN NM_000553.4		c.2059T>G/ /p.Leu687Val	predikován vznik kryptického místa sestřihu
RecQ helikáza (DNA reparace, rekombinace)	WRN NM_000553.4		c.2273G>A/ /p.Ser758Asn	predikován aberantní sestřih (~20 % pro nativní místo sestřihu)

AA – aminokyselina

lokalizována v jednom ze čtyř vazebných cysteinů Fe-S domény a je naprosto ztrátová pro helikázovou funkci *BRIP1* [3]. *BRIP1* helikáza interaguje s komplexem *BRCA1/BRCA2/RAD51/PALB2* a je nezbytná pro reparaci dsDNA zlomů a homologní rekombinaci. *BRIP1* mutace p.Cys350Tyr zatím nebyla popsána germinálně, ale ztrátové mutace v genu *BRIP1* jsou asociovány s predispozicí k nádorům prsu [4].

U některých jedinců bylo nalezeno několik patogenních a potenciálně patogenních variant, zatímco u jiných byly přítomny pouze běžné (nízkerizikové) nálezy.

U pacientky (ročník 1977) s nádorem ovaria ve 29 letech a pozdější diagnózou nádoru štítné žlázy byla detekována ztrátová mutace v genu *ATM* c.3849delA, přičemž nádory vaječníků nepatří do typického spektra nádorů u ztrátových *ATM* mutací. U této pacientky však byla zároveň zachycena missense mutace v genu *RAD51C* p.Thr287Ala, která byla popsána jako riziková mutace na základě funkčního testu [5,6]. *RAD51C* je protein funkční v procesech homologní rekombinace a DNA reparace spřažené s homologní rekombinací. Patogenní mutace v genu *RAD51C/FANCO* jsou popisovány především v souvislosti s HBOC fenotypem v postižených rodinách a v případě homozygotní nebo bialelické mutace s projevy recesivního syndromu Fanconio anémie (FA) [7]. A právě mutace v genu *RAD51C* jsou častěji přítomny u ovariálních nádorů a mohlo by se v tomto případě jednat o významný modifikační faktor. Analýza probandek s karcinomem ovaria z HOC a HBOC rodin v ČR prokázala přítomnost patogenních mutací v genech *RAD51C* a *RAD51D* u 3 % vyšetřovaných [8].

Jiným příkladem vícečetných nálezů je žena (ročník 1970) s nádorem prsu v 32 letech s missense mutací ve vysoce konzervované doméně genu *ATM* p.Leu1283Pro, která byla již dříve zachycena jako jedna z rodičovských alel u dítěte s recesivním syndromem Ataxia Telangiectasia (Ataxia-Telangiectasia databáze). Jako další riziková mutace byla u této ženy missense mutace v genu *FANCA* p.Arg517Trp, která se opět nachází ve vysoce konzervované doméně a byla zachycena germinálně jako druhá

Kazuistika 1. Kazuistika pacientky s *BRIP1* mutací.

Osobní anamnéza: Pacientka MP nar. 1961, zemřela 2007. Ve 44 letech byla dg. karcinomem prsu l. sin, inv. ductální G3, vysoká proliferace, triple negativní, T1, SNB pozitivní, M0. Parciální mastektomie. Po roce recidiva tumoru v oblasti nadklíčku, krku i prsu. CHT bez efektu. Karcinomatóza mening.

Rodinná anamnéza: Matka a její rodina bez onkol. onemocnění. Otec zemřel na IM, sestra otce zemřela v 55 letech na nádor prsu, matka otce zemřela v 63 letech na nádor malé pánve, otec otce zemřel v 70 letech na karcinom slinivky, nekuřák.

Sestra JH nar. 1962, v době testování v roce 2007 zdravá, v roce 2014 v 51 letech karcinom prsu l. sin, invazivní NST s apokrinní diferenciací, střední proliferativní aktivita, triple negativní, T2 N1 M0. Její syn zemřel na neuroblastom ve dvou letech.

Historie genetického testování v rodině: Testování *BRCA1/2* genů v roce 2007 u pacientky MP – negativní; v roce 2014 testování u sestry JH na *TP53* a *CHEK2* – negativní. JH zařazena do testování pomocí TruSight Cancer Panel (Illumina): výsledky testování NGS u pacientky JH: *BRIP1*/c.1049G>A/p.Cys350Tyr, patogenní mutace. Záměna se nachází ve vysoce konzervované Fe-S doméně *BRIP1* proteinu, která je nezbytná pro helikázovou funkci proteinu.

Segregační analýza: Další testování v rodině: mutace segreguje s onemocněním v rodině, *BRIP1* přenašečka je i sestra PM s ca prsu v 44 letech, mutaci zdědila od svého otce (matka mutaci nenese), jehož sestra zemřela na ca prsu v 55 letech a jehož matka zemřela na nádor malé pánve v 63 letech.

Zhodnocení: *BRIP1(BACH1/FANC-J)* mutace je velmi pravděpodobně příčinou dědičné dispozice k nádorům prsu v rodině. Není jasné, zda mutace v genu *BRIP1* mohla souviset s onemocněním neuroblastomem u syna JH.

Odhad rizika: Gen *BRIP1* je genem středně zvýšeného rizika nádorů prsu (2–5krát), je uváděno vysoké riziko nádorů vaječníků (až 8krát), možné je i riziko jiných nádorů.

Doporučení: Nejsou známa preventivní doporučení u nosičství mutace v genu *BRIP1*. Prediktivní testování v rodině je vhodné.

Kazuistika 2. Kazuistika pacientky s *FANCI* mutací.

Osobní anamnéza: Pacientka BM, nar. 1992, v 17 letech 2009 trombóza PDK, plicní embolie, byla v té době nemocná, ležela, užívala HAK. Zjištěna Leidenská mutace, heterozygot. Warfarin asi rok. Náhlé bolesti břicha, zvracení, zhubla asi 2 kg, UZ. Zjištěn nádor hlavy pankreatu. Operace ve FN Brno 3/14, resekce hlavy pankreatu, histologicky pseudopapilární neoplazie, prekanceróza. Bez další léčby. Dříve potíže se slinivkou a trávením neměla. Vyšetření na endokrinologii, UZ štítnice a příštítných tělísek bpn, CT břicha, nadledviny v pořádku. Prolaps mitrální chlopně zjištěn ve 13 letech, jen sledování.

Rodinná anamnéza: Matka zdravá, její rodina bez onkol. onemocnění. Otec zdravý, matka otce nádor prsu v 47 letech, karcinom slinivky v 67 letech, kuřák, zemřela, její sestra nádor prsu asi mezi 40 a 50 lety. Její bratr nádor prostaty, její otec nádor kolorekta v 76 letech. Otec otce nádor plic, kuřák, jeho bratr nádor slinivky, kuřák.

Historie genetického testování v rodině: U probandky testování *BRCA1/2* genů – nalezena missense varianta v genu *BRCA2* c.8851G>A/p.Ala2951Thr, která je klasifikována jako varianta nejasného klinického významu, na základě pravděpodobnostního proteinového modelu pravděpodobně neutrální.

Výsledky testování NGS u probandky: TruSight Cancer panel, Illumina: heterozygotní mutace v genu *FANCI* c.3853C>T/p.Arg1285*, inaktivující patogenní mutace.

Zhodnocení: U probandky **nebyla zjištěna jednoznačná příčina** nádoru slinivky, dědičný nádorový syndrom. Gen *FANCI* je považován za gen mírného rizika nádorových onemocnění. Jeho vztah k nádoru u probandky není jasný. Prediktivní testování je sporné. Preventivní sledování je možné dle rizika rodinné anamnézy.

Tab. 2. Nález u skupiny vyšetřených s převážně kolorektálními nádory polypózními i nepolypózními a nádory GIT (10 vyšetřených jedinců).

Mutovaná dráha	Gen/RefSeq.	Patogenní mutace	Možná riziková (?) varianta: 4-IARC	Interpretace
ATM závislá DNA reparační dráha (dsDNA zlomy)	ATM NM_000051.3		c.6067G>A/ /p.Gly2023Arg	nepopsaná, vysoce konzervovaná doména, predikce patogenní (PolyPhen2: 1,0; Align-GVGD: C25)
ATM/CHEK2 reparační dráha	CHEK2 NM_007194.3	c.470T>C/ /p.Ile157Thr		středně riziková alela (2krát detekováno)
BER – bázeová excizní reparační	MUTYH NM_001128425.1	c.536A>G/ /p.Tyr179Cys		častá patogenní mutace evropské populace
Fanconiho anémie: reparační křížových vazeb	FANCA NM_000135.2		c.2151G>T/ /p.Met717Ile	predikován aberantní sestřih (–55,7 % pro nativní místo sestřihu)
Fanconiho anémie: reparační křížových vazeb	FANCA NM_000135.2		c.3263C>T/ /p.Ser1088Phe	vysoce konzervovaná AA, predikce patogenní (PolyPhen2: 0,93; Align-GVGD: C65) – reportována konfliktní data
MEN1 dráha	MEN1 NM_000244.3	c.809_817del/ /p.Trp270_Leu-272del		„in-frame“ delece ve vysoce konzervované doméně, popsána u pacientů s MEN1 syndromem
sukcinát dehydrogenázový komplex	SDHB NM_003000.2		c.487T>C/ /p.Ser163Pro	záměna popsána jako příčina „Cowden like“ syndromu [23] – reportována konfliktní data
DNA reparační: homologní rekombinace	PALB2 NM_024675.3		c.2816T>G/ /p.Leu939Trp	částečně narušuje PALB2-RAD51C-BRCA2 komplex [24] – reportována konfliktní data
DNA reparační: homologní rekombinace	PALB2 NM_024675.3		c.2993G>A/ /p.Gly998Glu	vysoce konzervovaná AA, predikce patogenní (PolyPhen2: 1,0; Align-GVGD: C0) – reportována konfliktní data
„mismatch“ reparační chybného párování bází	MSH6 NM_00179.2		c.2932C>A/ /p.Gln978Lys	nepopsaná, vysoce konzervovaná AA, predikce patogenní (PolyPhen2: 1,0; Align-GVGD: C55)
„mismatch“ reparační chybného párování bází	PMS2 NM_000535.5	c.2T>A/p.Met1?		translační iniciační kodon – ztrátová mutace (dítě s CRC ve 14)
„mismatch“ reparační chybného párování bází	PMS2 NM_000535.5	c.2521delT/ /p.Trp841Glyfs*10		ztrátová mutace ve vysoce konzervované C-terminální doméně (dítě s CRC ve 14)
STK11 (LKB1; serin treonin kináza 11) signální dráha	STK11 NM_000455.4		c.740_743delinsTACAC/ /p.Asn247_Ile-248delinsIleThr	nepopsaná, 2 missense varianty ve vysoce konzervované katalytické doméně (Align-GVGD: C65/C65; Polyphen2: 0,94/0,624); OA: triplicita: nádor prsu, CRC nádor, melanom
TSC2 signální dráha	TSC2 NM_000548.3		c.1820C>T/ /p.Ala607Val	predikce aktivace kryptického místa sestřihu (?)

AA – aminokyselina

alelická mutace v německé populaci u ženy s relativně pozdními projevy FA (AML po 40. roce věku) a s nádorem prsu ve 37 letech [9].

U pacientky s nádorem slinivky (ročník 1992) s rodinnou anamnézou karcinomu prsu a karcinomu slinivky byla zachycena nonsense mutace v genu

FANCI p.Arg1285* (kazuistika 2). Autozomálně recesivní syndrom FA je způsoben bi-alelickými mutacemi v FA genech. Relativní riziko u heterozygotních nosičů mutace v některém z *FANC* genů je značně variabilní [10]. Mutace v genu *FANCI* jsou celosvětově velmi vzácné, riziko solidních nádorů u heterozygotních

nosičů ve *FANCI* genu není známo (LOVD Fanconi anemia database [11]).

Pacienti s podezřením na HNPCC nebo FAP

Ve skupině 10 pacientů s podezřením na dědičnou predispozici nádoru k nádoru kolorekta bez detekované kauzální mu-

tace v genech *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* (nepolypózní kolorektální karcinom) nebo *APC* (familiární polypózní syndrom) byly detekovány patogenní mutace v reparační dráze báze excizní reparace BER (gen *MUTYH* způsobující autozomálně recesivní formu polypózy), středně rizikové mutace v genu *CHEK2* a „in-frame“ delece v genu *MEN1* c.809_817del, která již byla popsána u jedinců s *MEN1* syndromem [12] a v naší studii byla zachycena u mladého muže (ročník 1986) s rodinnou anamnézou nádoru kolorekta, gastrinomu a nádoru žaludku. Souhrnné výsledky nálezů u skupiny s podezřením na dědičnou predispozici k nádorům GIT jsou uvedeny v tab. 2. Je zde zařazena také žena (ročník 1946) s triplicitou: duplicitní nádor prsu (52, 62 let) s adenokarcinomem tlustého střeva a maligním melanomem, která byla jako jediná zařazena v obou výše zmíněných skupinách. U pacientky byla detekována frame-shift mutace v genu *FANCC* c.455dupA (tab. 1) spolu s pravděpodobně patogenní in/del mutací v genu *STK11* (synonymum *LKB1*) c.740_743delinsTCAC/p.Asn247_Ile248delinsIle-Thr nacházející se ve vysoce konzervované katalytické doméně STK11 kinázy (tab. 2). V tomto případě můžeme spekulovat, že *FANCC* mutace je pravděpodobným rizikovým faktorem predispozice k nádoru prsu a *STK11* mutace ke vzniku adenokarcinomu.

U dítěte (chlapec, ročník 1999) diagnostikovaného s kolorektálním karcinomem ve 14 letech byly detekovány dvě patogenní mutace v genu *PMS2* (kazuistika 3). Inaktivující *PMS2* mutace c.2T>A v iniciačním kodonu pro metio-

Kazuistika 3. Kazuistika pacienta s biialelickou *PMS2* mutací.

Osobní anamnéza: Pacient BD, nar. 1999, byl diagnostikován nádorem sestupného tračníku ve 14 letech, nádor bifokální, adenokarcinom G2, pT2 pN1a M0, stadium IIIA. Provedena levostranná hemikolektomie, přeléčen chemoterapií FOLFOX.

Rodinná anamnéza: Mladší bratr zdravý. Otec zdravý, jeho sestra zdravá. Matka 1980 zdravá, bratr jejího otce zemřel na karcinom v 56 letech, dg. není známá.

Historie testování: Při standardním testování *MLH1*, *MSH2* a *MSH6* zjištěna varianta nejasného významu v *MSH6* genu/c.3217C>T/p.Pro1073Ser. Je klasifikována jako varianta class 3 v databázi InSIGHT.

Výsledky testování NGS u probanda: TruSight Cancer panel, Illumina: zjištěna biialelická mutace v genu *PMS2*: *PMS2*/c.2521delT, frame shift mutace p.Trp841Glyfs*10; a inaktivující *PMS2* mutace c.2T>A v iniciačním kodonu pro methionin: p.Met1?, která je patogenní mutací znemožňující syntézu proteinu.

Zhodnocení: U probanda byl potvrzen dědičný syndrom konstitučního deficitu mismatch opravného systému (CMMR-D), který je způsoben biialelickou mutací v genu *PMS2*. Tento syndrom je spojený s vysokým rizikem hematologických malignit, atypických nádorů mozku a časnými nádory kolorekta. Mohou být kožní příznaky ve formě café-au-lait.

Doporučení: Je nutná úprava dalšího preventivního onkologického sledování u probanda. Dále je nutné prediktivní testování bratra, obou rodičů i vzdálených příbuzných k predikci HNPCC (hereditary nonpolyposis colorectal cancer – dědičná forma nepolypózního karcinomu tlustého střeva).

nin p.Met1? je patogenní mutací znemožňující syntézu proteinu. Druhou detekovanou *PMS2* mutací je c.2521delT, která způsobuje posun čtecího rámce (frame-shift) a předčasnou terminaci translace v C-terminální dimerizační doméně *PMS2* proteinu, která je klíčová pro vazbu s *MLH1* proteinem [13]. Biialelické mutace v *PMS2* genu způsobují závažnou MMR deficienci s manifestací intestinálních nádorů v dětském věku [14].

Pacienti se sarkomy nebo nádory mozku

V tab. 3 je uveden souhrn nálezů u skupiny pěti pacientů s diagnózami sar-

komu nebo nádory mozku bez detekované mutace v genu *TP53*. Bezpochyby významným nálezem je missense mutace v genu *ATM* p.Asn2875Ser, kde Asn2875 je katalytickou aminokyselinou v aktivním místě PI3K domény, a bylo experimentálně prokázáno, že substituce za jinou aminokyselinu (Asn > Lys, Asn > Ser) inaktivuje kinázovou aktivitu *ATM* [15,16]. *ATM* mutace p.Asn2875Ser zatím nebyla germinálně popsána (kazuistika 4).

Pacienti s různými typy nádorů

V tab. 4 jsou uvedeny souhrnné výsledky u osmi pacientů s různými druhy nádorů

Tab. 3. Nálezy u skupiny vyšetřených s převážně sarkomy nebo nádory mozku (5 vyšetřených jedinců).

Mutovaná dráha	Gen/RefSeq.	Patogenní mutace	Možná riziková (?) varianta: 4-IARC	Interpretace
ATM závislá DNA reparační dráha (dsDNA zlomy)	ATM NM_000051.3	c.8624A>G/ p.Asn2875Ser		PI3K inaktivující mutace [15]
Fanconiho anémie: reparační křížových vazeb	FANCA NM_000135.2		c.3263C>T/ p.Ser1088Phe	vysoce konzervovaná AA, predikce patogenní (PolyPhen2: 0,93; Align-GVGD: C65) – reportována konfliktní data
cyclin dependentní kinázy 4/6	CDK4 NM_000075.3		c.625C>T p.Arg209Cys	vysoce konzervovaná katalytická doména (PolyPhen2: 0,26; Align-GVGD: C65)

AA – aminokyselina

Kazuistika 4. Kazuistika pacienta s *ATM* mutací.

Osobní anamnéza: Pacient CD, nar. 1975, v 7 letech léčen pro rhabdomyosarkom pánve, operace, CHT a RT ve Francii, recidiva a reoperace s endoprotézou kyčle, ve 31 letech 2006 světlobuněčný karcinom ledviny l. dx, Furman nuclear grade 1, T1 bN0 M0. Nefrektomie radikální l. dx v MOÚ. V roce 2014 v 39 letech světlobuněčný karcinom l. sin, parciální nefrektomie. Dále zjištěny opakovaně polypy tlustého střeva, tubulární adenom, smíšený polyp, opakovaně polypektomie laparoskopicky.

Rodinná anamnéza: Rodina ve Francii: otec Grawitz ve 46 letech, bratr otce nádor ledviny v 46 letech, polymorfní (clear cell tubulopapillary) a leukemie, zemřel v 50 letech, další bratr otce karcinom tlustého střeva v 55 letech, sestra otce karcinom slivky. Rodiče otce bez onkol. onemocnění.

Historie genetického testování v rodině: Testování u otce a jeho rodiny ve Francii: VHL, Birt-Hogg-Dube syndrom, HNPCC – negativní.

Výsledky testování NGS u probanda: TruSight Cancer panel, Illumina: heterozygotní mutace v genu *ATM* c.8624A>G/p.Asn2875Ser, inaktivující PI3K doménu, patogenní mutace; heterozygotní missense varianta v genu *FANCA* c.3263C>T/p.Ser1088Phe, varianta nejasného významu s predikovaným patogenním efektem.

Segregační analýza: Výsledky testování předány rodině ve Francii.

Zhodnocení: Heterozygotní mutace v genu *ATM* patří mezi středně rizikové, heterozygotní mutace v genu *FANCA* řazeny k alelám nízkého rizika vzhledem k nádorové predispozici. Nelze jednoznačně říci, zda jsou příčinou nádorových onemocnění, je vhodná segregační analýza ve Francii.

Odhad rizika: U heterozygotů *ATM* mutace bylo popsáno vyšší riziko vzniku nádorů prsu u žen 2–3krát, pro ženy do 50 let až 5krát, zvýšené riziko může být i pro jiné typy nádorů. Některé studie popisují možné vyšší riziko nádorů jícnu, kolorekta a žaludku. U žen je uváděno riziko pro jiné typy nádorů asi dvojnásobné, u mužů asi 1,3násobné.

Doporučení: Prevence u příbuzných vhodná dle rodinné anamnézy.

s pravděpodobnou genetickou predispozicí, kteří již byli dříve vyšetřeni na mutace v různých genech (dle diagnózy *TP53*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *FLCN*, *VHL*, *RB1*) bez nálezu kauzální patogenní mutace.

U mladé ženy s rodinnou anamnézou maligního mezoteliomu a uveálního melanomu byla detekována frame-shift mutace v genu *BAP1*: c.217delG (kazuistika 5). Gen *BAP1* kóduje ubikvitin-karboxyterminální hydrolázu, která se nachází v komplexu s *BRCA1* proteinem a účastní se DNA reparačních procesů, regulace transkripce a buněčné proliferace. Mutace v genu *BAP1* byly popsány u autozomálně dominantního nádorového syndromu, který je asociován především s výskytem maligního mezoteliomu a uveálního melanomu [17].

U pacienta s karcinomem ledviny v 51 letech byla detekována patogenní missense mutace v genu *SDHB* p.Arg242His, která se nachází ve vysoce konzervované Fe-S doméně

SDHB proteinu. Jedná se o již dříve popsanou mutaci u pacientů s diagnózou feochromocytomu, paragangliomu a GIT stromálních tumorů (LOVD databáze, [18]).

Při analýze 94 genů je u každého jedince detekováno také velké množství variant nejasného významu (IARC klasifikace UV-3, nejasného významu – neklasifikované [19]) a frekvenčně častých nízkorizikových polymorfních variant. Tyto varianty však mají minimální klinickou využitelnost [20] a v tomto stručném sdělení nebudou rozebírány.

Diskuze

Technologie NGS v současné době přechází z výzkumu do diagnostické praxe. Rutinní klinické využití vyžaduje vysokou senzitivitu, vysokou specifitu, pokud možno jednoduchost přípravy sekvenačních knihoven, cenovou přijatelnost a uživatelsky zvládnutelnou analýzu dat.

Genetické testy by měly být hodnoceny na základě analytické validity, klinické validity a klinické využitelnosti [20].

Analytická validita vyjadřuje stupeň citlivosti a specifity testu, zda správně vyhodnotí přítomnost nebo nepřítomnost mutace (varianty) ve vyšetřovaném genu. Nezbytné je dostatečné pokrytí (min. 50krát v případě germinálních mutací) kódujících oblastí analyzovaných genů včetně sesterských míst v intro-nech (min. ± 20 bp). S klesajícím pokrytím narůstá množství falešně pozitivních záchytů.

Při detekci patogenní germinální mutace v případě, že tyto výsledky mají být použity ke klinickým účelům, je nezbytný průkaz její přítomnosti Sangerovým sekvenováním a potvrzení z nezávisle izolovaného vzorku DNA (nejlépe z nového odběru). To zahrnuje navolení primerů specifických pro analyzovanou oblast, optimalizaci podmínek amplifikace a sekvenování „klasickou“ Sangerovou metodou. Tyto primery jsou pak dále využity pro segregační analýzu v postižené rodině.

V případě detekce missense variant s „pouze“ predikovaným patogenním efektem jsou zapotřebí další analýzy, jako je segregační analýza, funkční testy zaměřené na funkční domény s přítomností detekované varianty, analýza sestřihu na mRNA úrovni u predikovaných sestřihových mutací.

U GC bohatých oblastí často dochází k chybnému alignmentu (mapování na referenční sekvenci) až k úplnému výpadku analyzovaných sekvencí (V TruSight Cancer panelu je to markantní např. u genů *PHOX2B* nebo *CDKN1C*). Je proto nezbytné kontrolovat nejen detekované varianty, ale je třeba brát v úvahu také nepokryté úseky analyzovaných genů a v případě indikace vyšetření těchto genů, doplnit vyšetření chybějících oblastí alternativní metodou.

Z našich zkušeností jsou NGS technologie méně citlivé na rozsáhlejší delece/duplikace přesahující cca 10 párů bází. Obecně ale nelze definovat pouze rozsah, protože záleží na sekvenci analyzovaného úseku a lokalizaci delece/inzerce vzhledem k pozici oligonukleotidů hybridizujících na cílené sekvence (u enrichment/hybridizačního postupu).

Tab. 4. Nález u skupiny vyšetřených s různými druhy nádorů s pravděpodobnou dědičnou predispozicí (8 vyšetřených jedinců).

Mutovaná dráha	Gen/RefSeq.	Patogenní mutace	Riziková (?) varianta: 4-IARC	Interpretace	Osobní (OA)/rodinná (RA) anamnéza
BRCA1 regulovaná ubiquitin-signalní dráha	BAP1 NM_004656.2	c.217delG/ /p.Asp73Metfs*5		ztrátová mutace v BAP1 ubiquitin hydroláze	RA: maligní mezoteliom (Dg. 45), uveální melanom (Dg. 22), nádor hlavy (Dg. 40)
E-cadherine dráha	CDH1 NM_004360.3		c.1034T>C/ /p.Val345Ala	nepopsaná, konzervovaná AA predikce patogenní (PolyPhen2: 0,87, Align-GVGD: C65)	OA: enchodrom (Dg. 8), glioblastom (Dg. 28), karcinom jater (Dg. 32)
sukcinat dehydrogenázový komplex	SDHB NM_003000.2	c.725G>A/ /p.Arg242His		postihuje vysoce konzervovanou Fe-S doménu, patogenní mutace	OA: nádor ledvin (Dg. 51)
NER – nukleotidová excizní reparace	XPC NM_004628.4		c.1780C>T/ /p.Arg594Cys	vysoce konzervovaná AA, predikce patogenní	OA: Ewingův nádor ledvin (Dg. 33)
NER – nukleotidová excizní reparace	ERCC4 NM_005236.2		c.1135C>T/ /p.Pro379Ser	vysoce konzervovaná AA, predikce patogenní (PolyPhen2: 1,0; Align-GVGD: C65)	OA: glioblastom (Dg. 49); RA: CRC (Dg. 50, 58, 82)
„mismatch“ reparace chybného párování bází	MSH6 NM_00179.2		c.1999G>C/ /p.Asp667His	vysoce konzervovaná AA, predikce patogenní (PolyPhen2: 1,0; Align-GVGD: C65)	OA: glioblastom (Dg. 49); RA: CRC (Dg. 50, 58, 82)
cyclin dependentní kinázy 4/6	CDK4 NM_000075.3		c.629G>A/ /p.Arg210Gln	vysoce konzervovaná katalytická doména (PolyPhen2: 0,58; Align-GVGD: C0)	OA: nádor ledvin (Dg. 35)
RET signální dráha	RET NM_020975.4	c.2556C>G/ /p.Ile852Met		ATA – class A mutace [25]	OA: retinoblastom (Dg. 6); RA: nádor ledvin

AA – aminokyselina

Kazuistika 5. Kazuistika pacientky s BAP1 mutací.**Osobní anamnéza:** Pacientka LŠ, nar. 1985, hypertenze léčená od 27 let, hypercholesterolemie. Odstraňována kožní znaménka.**Rodinná anamnéza:** Matka zemřela ve 45 letech na plicní embolii, maligní mezoteliom pleury v 44 letech, nekuřák, bez kontaktu s azbestem. Bratr matky zemřel v 45 letech, maligní mezoteliom peritonea, kuřák. Matka matky melanoblastom oka v 22 letech, její matka zemřela na nádor hlavy asi ve 40 letech.**Historie genetického testování v rodině:** Testování u probandky (nikdo z nemocných nežije) na *TP53* a *CDKN2A* mutace negativní.**Výsledky testování NGS u probandky:** TruSight Cancer panel, Illumina: mutace v genu *BAP1* c.217delG/p.Asp73Metfs*5. Jedná se o vysoce rizikovou mutaci, která je příčinou dědičného nádorového syndromu *BAP1*.**Segregační analýza:** Nikdo z nemocných příbuzných nežije. U tety a sestry bylo provedeno prediktivní testování *BAP1* mutace, výsledek byl negativní.**Zhodnocení:** *BAP1* nádorový syndrom je autozomálně dominantně dědičný syndrom s vysokým rizikem vzniku maligního mezoteliomu, uveálního melanomu, kožního melanomu (včetně MIBIT – melanocytic BAP1-mutated atypical intradermal tumor), nádorů ledvin, ale i jiných nádorů, jako jsou nádory prsu, vaječníků, prostaty, slinivky, meningeomy.**Dispenzarizace v MOÚ:** UZ prsou po půl roce střídavě s MRI prsou/nebo celotělovým MRI (včetně MRI mozku). Specializované kožní, oční kontroly včetně očního pozadí po půl roce, gynekologické kontroly včetně UZ, od 45 let kolonoskopie po pěti letech. V roce 2014 v rámci dispenzarizace v 29 letech dg. maligní melanom zad, Clark III/Breslow 1, bez ulcerace T1 N0 M0. Klinické stadium IA. Excise mimo MOÚ, reexcise v MOÚ, SNB axily vlevo.**Závěr:** Testováním u zdravé příbuzné potvrzen vzácný dědičný nádorový syndrom *BAP1*. Díky dispenzarizaci časně diagnostikován maligní melanom, bez nutné další léčby. Nikdo další v rodině není přenašečem patogenní *BAP1* mutace.

Se zvyšujícím se rozsahem delece/duplikace klesá podíl zastoupení alely s delecí v celkovém pokrytí. Enrichment/hybridizační postup je výrazně specifitější než amplifikační příprava knihovny a omezuje zanášení chyb v průběhu amplifikace [21].

Další problematickou oblastí jsou geny s pseudogeny. V analyzovaném souboru jsme řešili průkaz detekované přítomnosti mutace v genech *PMS2* a *SBDS*. V těchto případech není možná přímá amplifikace analyzovaných úseků z důvodů vysoké homologie mezi genem a jeho pseudogeny. V případě genu *PMS2* jsme při potvrzení obou mutací mohli vyjít z publikovaného zdroje a optimalizovat „nested“ PCR s publikovanými primery [1]. V případě nonsense mutace v genu *SBDS* c.184A>T/p.Lys62* byla situace složitější. Homologie mezi *SBDS* genem a pseudogenem *SBDSP1* je 97 % a navíc v pozici 184 pseudogenu je T jako standardní nukleotid (*SBDSP1*: NR_024110.1: n.647T; g.72301327T). Již při prvotní přímé amplifikaci exonu 2 bylo ze srovnání vzorku pacientky a několika kontrolních vzorků patrné, že zastoupení c.184A>T odpovídá 50 % u kontrolních vzorků a cca 75 % u vzorku pacientky a zároveň byly ve všech vzorcích přítomny čtyři další varianty odpovídající sekvenci *SBDSP1* pseudogenu. Ke specifické amplifikaci exonu 2 jsme použili publikované vnější primery [2] a vnitřní primery pro „nested“ PCR již byly navoleny softwarem LightScanner Primer Design (Idaho Technology Inc.). Tímto způsobem bylo možné získat produkt specifický pouze pro exon 2 *SBDS* genu bez sekvence pseudogenu.

Klinická validita zahrnuje hodnocení významnosti detekované varianty a odhad míry rizika pro nosiče této varianty. Odhad míry rizika genetických nálezů je klíčový pro klinickou využitelnost panelového testování, které by mělo vést k individuálnímu doporučení pro plán preventivního sledování, cílené medikaci nebo chirurgickým profylaktickým zákrokům, které mohou riziko nádorového onemocnění snížit.

Abychom mohli stanovit klinickou validitu, musíme znát odpověď na tyto základní otázky [20]:

- Jsou mutace v konkrétním genu asociovány s nádorovou predispozicí?
- Které varianty nebo skupiny variant jsou rizikové mutace a pro které typy nádorů?
- Jaká je výše nádorové predispozice vzhledem k incidenci onemocnění?

V oblasti klinického hodnocení je nutné vycházet z výsledků biologického hodnocení nalezené varianty, ze segregčních studií a z dosavadních klinických znalostí o uvedeném genu. U nosičů vysoce rizikových patogenních mutací v genech velkého účinku (vyšší než čtyřnásobné riziko vzhledem k běžné populaci: např. mutace v genech *TP53*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CDH1*, *MLH1*, *PTEN*, *APC* atd.) lze navrhnout dispenzarizaci nosičů dle platných doporučení. V případě neznámé klinické validity není vhodné nabízet prediktivní testování zdravých příbuzných, ale odhadnout riziko a navrhnout prevenci dle rodinné anamnézy.

Pro řadu genů z TruSight panelu ale zatím nebyla doporučení stanovena a míra relativního rizika pro heterozygotní nosiče mutací je nejasná.

Dispenzarizace u středně rizikových genů většinou zatím nebyla navržena ani publikována. Incidence středního rizika je uváděna jako cca 2–4násobná v porovnání s rizikem průměrné populace [22]. Kumulací získaných dat (v rámci multicentrických studií) o středně rizikových genech je možné postupně odhalit předpokládanou výši a spektrum nádorových rizik a navrhnout rozsah preventivní péče. Zatím je možné se opírat o publikované informace jednotlivých studií, a především o empirická rizika v testované rodině.

Odhad rizika založený na analýzách v přísně selektované vysoce rizikové skupině rodinných případů nemusí vždy odrážet správnou hodnotu průměrného rizika u nosičů v běžné populaci [20]. V současné době chybí pro naši populaci srovnávací výsledky analýz v dostatečně velké kontrolní skupině – zdravé věkové starší populaci bez nádorové predispozice v osobní nebo rodinné anamnéze.

Detekce nízkorizikových mutací a častých polymorfních variant, u kterých je uváděna spíše modifikace rizika, nemají z klinického hlediska uplatnění. Na vel-

kých genových panelech jsou jich detekovány desítky a jsou s podobnou frekvencí detekovány také u kontrolních vzorků.

U nosičů patogenních mutací v genech pro známé recesivní syndromy (FA, AT, XP, aj.) je vhodné zvážit podání informace o mutaci z důvodů možného výskytu tohoto syndromu v dalších generacích. Frekvence nosičství mutací v těchto genech je však velmi vzácná a pravděpodobnost autozomálně recesivního syndromu v dalších generacích je nízká. Proto dosud není jasný přístup k této problematice a je vhodné postupovat individuálně.

Závěr

Téměř u poloviny z vyšetřených jedinců byly detekovány patogenní nebo pravděpodobně patogenní (IARC-4) mutace v některém z analyzovaných genů. Ztrátové (nonsense, frame-shift) mutace byly detekovány v genech: *ATM*, *BAP1*, *FANCI*, *FANCC*, *PMS2*, *RECQL4*, *SBDS*. Dále bylo nalezeno několik s vysokou pravděpodobností patogenních missense variant nebo „in-frame inzercí/delecí“ v genech: *ATM*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *ERCC2*, *ERCC3*, *ERCC4*, *FANCA*, *MC1R*, *MEN1*, *MRE11A*, *MUTYH*, *PALB2*, *RAD51C*, *RET*, *SDHB*, *STK11*, které se nacházejí ve vysoce konzervovaných funkčních doménách proteinu a některé z nich již byly prokázány jako patogenní mutace pomocí funkčních testů nebo u závažných autozomálně recesivních syndromů (Ataxia telangiectasia, FA).

Pro klinické využití je nezbytné stanovení relativního rizika, což je v řadě případů ve fázi výzkumných studií. Detekce variant s nízkou penetrancí má pouze limitovanou klinickou využitelnost. Rozšíření spektra analyzovaných genů představuje výzvu pro zajištění odpovídajícího preventivního sledování a léčebných postupů u osob v riziku. Je zapotřebí úzká spolupráce onkologů, klinických genetiků, molekulárních biologů a bioinformatiků, aby bylo možné plně využít potenciál NGS technologií v běžné diagnostické praxi a preventivní personalizované onkologii.

V oblasti klinického hodnocení je nutné vycházet z výsledků biologického hodnocení nalezené varianty, ze segregčních studií a z dosavadních klinických

znalostí o uvedeném genu. V případě neznámé klinické validity není vhodné nabízet prediktivní testování zdravých příbuzných, ale odhadnout riziko a navrhnout prevenci dle rodinné anamnézy.

Využití NGS technologie a vyšetření panelů mnoha desítek genů pro hereditární nádorová onemocnění je významným posunem nejen v možnostech prevence nádorových onemocnění u vysoce rizikových osob.

Literatura

1. Vaughn CP, Robles J, Swensen JJ et al. Clinical analysis of PMS2: mutation detection and avoidance of pseudogenes. *Hum Mutat* 2010; 31(5): 588–593. doi: 10.1002/humu.21230.
2. Kawakami T, Mitsui T, Kanai M et al. Genetic analysis of Shwachman-diamond syndrome: phenotypic heterogeneity in patients carrying identical SBD5 mutations. *Tohoku J Exp Med* 2005; 206(3): 253–259.
3. Wu Y, Brosh RM. DNA helicase and helicase-nuclease enzymes with a conserved iron-sulfur cluster. *Nucleic Acids Res* 2012; 40(10): 4247–4260. doi: 10.1093/nar/gks039.
4. De Nicolo A, Tancredi M, Lombardi G et al. A novel breast cancer – associated BRIP1 (FANCF/BACH1) germ-line mutation impairs protein stability and function. *Clin Cancer Res* 2008; 14(14): 4672–4680. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0087.
5. Vaz F, Hanenberg H, Schuster B et al. Mutation of the RAD51C gene in a Fanconi anemia-like disorder. *Nat Genet* 2010; 42(5): 406–409.
6. Meindl A, Hellebrand H, Wiek C et al. Germline mutations in breast and ovarian cancer pedigrees establish RAD51C as a human cancer susceptibility gene. *Nat Genet* 2010; 42(5): 410–414. doi: 10.1038/ng.569.
7. Clague J, Wilhoite G, Adamson A et al. RAD51C germ-line mutations in breast and ovarian cancer cases from high-risk families. *PLoS One* 2011; 6(9): e25632. doi: 10.1371/journal.pone.0025632.
8. Janatova M, Soukupova J, Stribrna J et al. Mutation analysis of the RAD51C and RAD51D genes in high-risk ovarian cancer patients and families from the Czech Republic. *PLoS One* 2015; 10(6): e0127711. doi: 10.1371/journal.pone.0127711.
9. Huck K, Hanenberg H, Gudowius S et al. Delayed diagnosis and complications of Fanconi anaemia at advanced age – a paradigm. *Br J Haematol* 2006; 133(2): 188–197.
10. Berwick M, Satagopan JM, Ben-Porat L et al. Genetic heterogeneity among Fanconi anemia heterozygotes and risk of cancer. *Cancer Res* 2007; 67(19): 9591–9596.
11. Kennedy RD, D'Andrea AD. DNA repair pathways in clinical practice: lessons from pediatric cancer susceptibility syndromes. *J Clin Oncol* 2006; 24(23): 3799–3808.
12. Lemos MC, Thakker RV. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1): analysis of 1336 mutations reported in the first decade following identification of the gene. *Hum Mutat* 2008; 29(1): 22–32.
13. Wu X, Platt JL, Cascalho M. Dimerization of MLH1 and PMS2 limits nuclear localization of MutLalpha. *Mol Cell Biol* 2003; 23(9): 3320–3328.
14. Herkert J, Niessen R, Olderde-Berends M et al. Paediatric intestinal cancer and polyposis due to bi-allelic PMS2 mutations: case series, review and follow-up guidelines. *Eur J Cancer* 2011; 47: 965–982. doi: 10.1016/j.ejca.2011.01.013.
15. Rahal EA, Henricksen LA, Li Y et al. ATM regulates Mre11-dependent DNA end-degradation and microhomology – mediated end joining. *Cell Cycle* 2010; 9(14): 2866–2877.
16. Edvadsen H, Tefre T, Jansen L et al. Linkage disequilibrium pattern of the ATM gene in breast cancer patients and controls; association of SNPs and haplotypes to radio-sensitivity and post-lumpectomy local recurrence. *Radiat Oncol* 2007; 2: 25–33.
17. Testa JR, Cheung M, Pei J et al. Germline BAP1 mutations predispose to malignant mesothelioma. *Nat Genet* 2011; 43(10): 1022–1025. doi: 10.1038/ng.912.
18. Janeway KA, Kim SY, Lodish M et al. Defects in succinate dehydrogenase in gastrointestinal stromal tumors lacking KIT and PDGFRA mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108(1): 314–318. doi: 10.1073/pnas.1009199108.
19. Plon SE, Eccles D, Easton D et al. Sequence variant classification and reporting: recommendations for improving the interpretation of cancer susceptibility genetic test results. *Hum Mutat* 2008; 29(11): 1282–1291. doi: 10.1002/humu.20880.
20. Easton DF, Pharoah PD, Antoniou AC et al. Gene-Panel sequencing and the prediction of breast cancer risk. *N Engl J Med* 2015; 372: 2243–2257. doi: 10.1056/NEJMSr1501341.
21. Desai AN, Jere A. Next-generation sequencing: ready for the clinics? *Clin Gene* 2012; 81(6): 503–510. doi: 10.1111/j.1399-0004.2012.01865.x.
22. Hollestelle A, Wasielewski M, Martens JW et al. Discovering moderate-risk breast cancer susceptibility genes. *Curr Opin Genet Dev* 2010; 20(3): 268–276. doi: 10.1016/j.gde.2010.02.009.
23. Ni Y, Zbuk KM, Sadler T et al. Germline mutations and variants in the succinate dehydrogenase genes in Cowden and Cowden-like syndromes. *Am J Hum Genet* 2008; 83(2): 261–268. doi: 10.1016/j.ajhg.2008.07.011.
24. Park JY, Singh TR, Nassar N et al. Breast cancer-associated missense mutants of the PALB2 WD40 domain, which directly binds RAD51C, RAD51 and BRCA2, disrupt DNA repair. *Oncogene* 2014; 33(40): 4803–4812. doi: 10.1038/ncr.2013.421.
25. Machens A, Spitschak A, Lorenz K et al. Germline RET sequence variation I852M and occult medullary thyroid cancer: harmless polymorphism or causative mutation? *Clin Endocrinol* 2011; 75(6): 801–805. doi: 10.1111/j.1365-2265.2011.04158.x.

CZECANCA: CZEch CAncer paNel for Clinical Application – návrh a příprava cíleného sekvenačního panelu pro identifikaci nádorové predispozice u rizikových osob v České republice

CZECANCA: CZEch CAncer paNel for Clinical Application – Design and Optimization of the Targeted Sequencing Panel for the Identification of Cancer Susceptibility in High-risk Individuals from the Czech Republic

Soukupová J.¹, Zemánková P.¹, Kleiblová P.^{1,2}, Janatová M.¹, Kleibl Z.¹

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

² Ústav biologie a lékařské genetiky, 1. LF UK a VFN v Praze

Souhrn

Dědičná nádorová onemocnění tvoří malou, ale klinicky významnou část onkologických onemocnění, v České republice se jedná ročně o několik tisíc osob. Identifikace kauzální mutace v nádorových predispozičních genech má u těchto nemocných zásadní prognostický a v některých případech i prediktivní význam. Mimo to je podmínkou cílené preventivní péče o asymptomatické nosiče mutací v rodinách se zvýšeným rizikem vzniku nádorového onemocnění. Do současné doby bylo charakterizováno více než 150 nádorových predispozičních genů. Mutace většiny z nich se vyskytují vzácně, s výraznou populační specifičností a jejich klinická interpretace je často obtížná. Diagnostiku raritních variant technicky zjednodušují postupy využívající sekvenování nové generace, které umožňují vyšetření rozsáhlých sad genů. Za účelem racionalizace diagnostiky hereditárních nádorových syndromů v České republice jsme navrhli sekvenační panel „CZECANCA“, který cílí na vyšetření 219 genů asociovaných s dědičnými nádorovými onemocněními. Panel obsahuje přes 50 klinicky významných genů vysokého a středního rizika, zbývající geny tvoří málo prozkoumané a kandidátní predispoziční geny, jejichž vrozené mutace mají nejasnou klinickou interpretaci. Společně s návrhem panelu byl optimalizován postup vlastního sekvenování a bioinformatického zpracování sekvenačních dat pro tvorbu jednotné databáze genotypů analyzovaných vzorků. Cílem projektu je nabídnout použití sekvenačního panelu včetně optimalizovaného postupu sekvenování nové generace diagnostickým laboratorům v České republice a zajistit sdílení genotypů a klinických údajů o vyšetřovaných pacientech ve společné databázi za účelem zlepšení možnosti klinické interpretace vzácných mutací u vysoce rizikových osob.

Klíčová slova

analýza genetické predispozice – dědičné nádorové syndromy – masivní paralelní sekvenování – databáze genetických informací – panelové sekvenování – cílené sekvenování – sekvenování nové generace (NGS)

Práce byla realizována za podpory Interní grantové agentury MZ ČR (IGA MZ ČR) pod grantovým číslem NT14054, Agentury pro zdravotnický výzkum ČR (AZV ČR) pod čísly NV15-28830A a NV15-27695A a Ligy proti rakovině Praha.

This work was supported by Czech Ministry of Health grants No. NT14054, NV15-28830A, NV15-27695A and The League Against Cancer Prague.

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 recommendation for biomedical papers.



doc. MUDr. Zdeněk Kleibl, Ph.D.

Ústav biochemie a experimentální onkologie

1. LF UK v Praze

U Nemocnice 5

128 53 Praha 2

e-mail: zdekleje@lf1.cuni.cz

Obdrženo/Submitted: 2. 10. 2015

Přijato/Accepted: 13. 10. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2016S46>

Summary

Individuals with hereditary cancer syndromes form a minor but clinically important subgroup of oncology patients, comprising several thousand cases in the Czech Republic annually. In these patients, the identification of pathogenic mutations in cancer susceptibility genes has an important predictive and, in some cases, prognostic value. It also enables rational preventive strategies in asymptomatic carriers from affected families. More than 150 cancer susceptibility genes have been described so far; however, mutations in most of them are very rare, occurring with substantial population variability, and hence their clinical interpretation is very complicated. Diagnostics of mutations in cancer susceptibility genes have benefited from the broad availability of next-generation sequencing analyses using targeted gene panels. In order to rationalize the diagnostics of hereditary cancer syndromes in the Czech Republic, we have prepared the sequence capture panel "CZECANCA", targeting 219 cancer susceptibility genes. Besides more than 50 clinically important high- and moderate-penetrance susceptibility genes, the panel also targets less common candidate genes with uncertain clinical relevance. Alongside the panel design, we have optimized the analytical and bioinformatics pipeline, which will facilitate establishing a collective nationwide database of genotypes and clinical data from the analyzed individuals. The key objective of this project is to provide diagnostic laboratories in the Czech Republic with a reliable procedure and collective database improving the clinical utility of next-generation sequencing analyses in high-risk patients, which would help improve the interpretation of rare or population-specific variants in cancer susceptibility genes.

Key words

genetic predisposition testing – hereditary cancer syndromes – high-throughput nucleotide sequencing – genetic information databases – panel sequencing – sequence capture – next-generation sequencing (NGS)

Úvod

Nemocní s dědičnými nádorovými onemocněními zaujímají malou (obvykle mezi 5 a 10 % všech případů), ale klinicky významnou část onkologických pacientů. S ohledem na celkovou incidenci onkologických onemocnění v ČR se tak jedná o několik tisíc vysoce rizikových pacientů ročně. Plošné testování na přítomnost nádorových predispozičních variant u všech onkologicky nemocných je v současnosti ekonomicky neúnosné, proto je vyšetření nádorové predispozice omezeno na vybrané skupiny pacientů na základě charakteristických znaků, které jsou rozvedeny u jednotlivých diagnóz v tomto supplementu. Hlavním rysem dědičných nádorových onemocnění je zvýšené (a často velmi vysoké) riziko vzniku nádorového onemocnění u nosičů patogenních mutací v postižených rodinách. Z tohoto důvodu je identifikace příčinných mutací v nádorových predispozičních genech u rizikových osob předpokladem účinné strategie léčebné péče, která může zahrnovat širokou škálu terapeutických a preventivních modalit snižujících výskyt či zlepšujících prognózu nádorových onemocnění.

Diagnostika dědičných nádorových onemocnění je jedním ze základních cílů současné onkogenetiky a jejích výstupů do klinické praxe. Nejprostudovanější jsou geny, jejichž mutace způsobují hereditární nádorové syndromy s vysokým rizikem vzniku onkologic-

kého onemocnění (např. *TP53* u Li-Fraumeni syndromu, *BRCA1* a *BRCA2* u syndromu hereditárního karcinomu prsu a ovarií či *APC* u familiární adenomatózní polypózy). Jejich genetickým podkladem jsou převážně monoalelické patogenní mutace ve vysoce penetrantních genech. Mutace v těchto genech však objasňují malou část geneticky podmíněných častých nádorových onemocnění [1]. Zbytek případů připadá na mutace v desítkách až stovkách dalších genů, z nichž jen některé jsou dnes dobře charakterizovány, a případy hereditárního onemocnění na předpokládaném podkladě polygenní dědičnosti [2]. V porovnání s mutacemi v hlavních predispozičních genech se patogenní varianty v těchto dalších predispozičních genech vyznačují nižší penetrancí [3,4], nádorový tropismus u postižení konkrétního genu je méně vyhraněný [5], vyskytují se s významně nižší populační frekvencí a tato frekvence je mnohdy významně proměnlivá v jednotlivých populacích a etnikách [6]. Identifikace nosičů patogenních variant mimo oblast „klasických“, vysoce penetrantních genů je tak tradičními genetickými postupy analyzujícími jednotlivé geny velmi nákladná a zdoluhavá.

Nástup moderních a výkonných molekulárně biologických technologií posledních let vede k významnému zrychlení identifikace nových predispozičních genů a genetických variant. V současné době jsou známy stovky genů, jejichž

dědičné mutace prokazatelně či pravděpodobně zvyšují riziko vzniku nádorových onemocnění. Skutečnou revoluci do preklinického výzkumu, ale i klinické diagnostiky, přinesl nástup sekvenování nové generace (next-generation sequencing – NGS). Flexibilita této metody spočívá v masivním sekvenacním paralelizmu, kde v rámci jednoho sekvenacního běhu je možné analyzovat statisíce až miliony templátových molekul DNA. V rámci konkrétních genetických aplikací je možné tento paralelizmus využít pro sekvenování unikátních DNA templátů, v rámci např. celého genomu, nebo sekvenování vybraných úseků DNA u mnoha různých probandů, jako je tomu u panelového NGS. Pomocí NGS je možné v poměrně krátké době najednou identifikovat genetické varianty ve stovkách genů u desítek probandů s ekonomickými náklady nesrovnatelně nižšími, než by tomu bylo při analýze jednotlivých genů klasickými postupy molekulární biologie zahrnujícími prescreening mutací (DGGE/HA/DHPLC/HRMA/RFLP/PTT) s následnou charakterizací patogenní varianty Sangerovým sekvenováním [7]. Ve srovnání s klasickými analýzami však NGS vyžaduje specifické přístrojové vybavení a laboratorní přístupy, významné zvýšení nároků na bioanalytické zpracování a vysoké nároky na klinické hodnocení identifikovaných genetických variant.

V rámci předchozí studie zahrnující NGS a cílené na panel 581 genů jsme

v souboru 325 *BRCA1/BRCA2/PALB2* negativních pacientek s karcinomem prsu našli 127 variant způsobujících zkrácení proteinového produktu v některém ze 73 genů u téměř třetiny vyšetřovaných pacientek [8]. Tato analýza, stejně jako další publikované výstupy NGS, prokázala vysoký výkon, spolehlivost a robustnost cíleného NGS [9]. Proto jsme se rozhodli připravit panel genů – CZECANCA (CZEch CAncer paNel for Clinical Application), který by umožnil komplexní, rentabilní a rychlou analýzu germinálních mutací v hlavních predispozičních genech, ale i kandidátních genech asociovaných se zvýšeným rizikem vzniku nejčastějších solidních nádorů v populaci vysoce rizikových pacientů v ČR.

Koncepce projektu CZECANCA

Sekvenační projekt CZECANCA předpokládá použití panelu CZECANCA pro cílené obohacení (sequence capture) sekvenovaných oblastí DNA zahrnujících především kódující exony a intron-exonové přechody genů, jejichž hereditární varianty byly asociovány se zvýšeným rizikem vzniku nádorových onemocnění u jejich nosičů. Protože se s výjimkou vysoce penetrantních genů jedná obvykle o velmi málo frekventní varianty s předpokládanou výraznou populačně-specifickou variabilitou, je jejich správné klinické zhodnocení a klinická interpretace často velmi obtížná [10]. Zapojení řady klinických pracovišť využívajících jednotný technologický přístup založený na využití panelu CZECANCA umožní získání reprezentativního počtu genotypů u vysoce rizikových osob s různými nádorovými syndromy. Z důvodů minimalizace variability (a tím vznikajících technických chyb ve společné databázi) budou hrubá sekvenační data analyzována na našem pracovišti jednotnou bioinformatickou procedurou (pipeline). Tato data spolu se základními charakteristikami (fenotypem) sekvenovaných osob budou ukládána do jednotné databáze přístupné všem zúčastněným laboratorím. Sdílená databáze nebude obsahovat žádné údaje o vyšetřovaných osobách umožňující jejich identifikaci.

Projekt CZECANCA tak není omezen pouze na sekvenační panel, ale reprezentuje komplexní řešení analýzy ná-

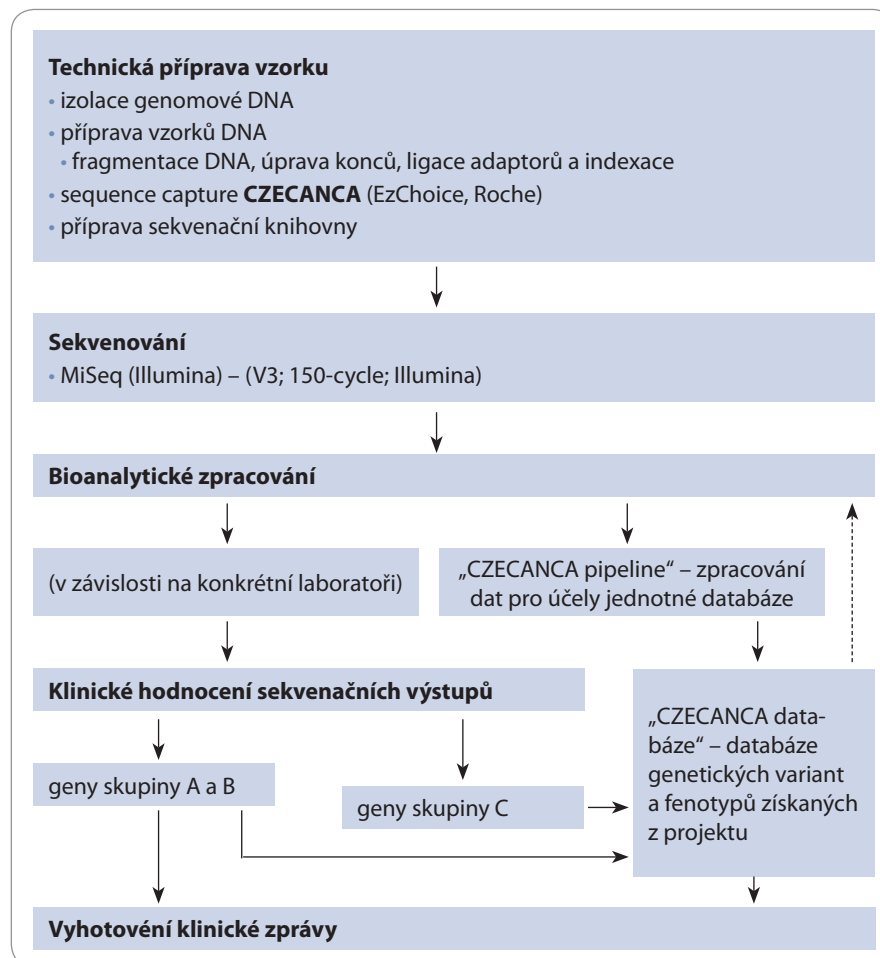


Schéma 1. Schematické znázornění postupů sekvenování a hodnocení sekvenačních výstupů v projektu CZECANCA (bližší vysvětlení v textu).

dorové predispozice za účelem zvýšení efektivity klinické interpretace variant nejasného významu a variant genů s nejasným rizikem (schéma 1). O výstupech z projektu CZECANCA bude pravidelně informována odborná veřejnost tak, aby složení sekvenačního panelu i postupy vyšetření odpovídaly aktuálnímu stavu vědeckých poznatků onkogenomiky, NGS a klinických požadavků. Aktuální informace budou dostupné na stránce www.czecanca.cz.

Poznámka k výpočtu sekvenačního výstupu: Při velikosti cílové sekvence panelu CZECANCA (~ 600 kb), cílovém sekvenačním pokrytí 200krát, je pro analýzu jednoho vzorku DNA unikátního pacienta zapotřebí kapacity 120 Mb. S uvažovanou (dolní) mezí sekvenační kapacity chemie V3 (150-cycles), která činí ~ 4 Gb, lze teoreticky analyzovat vzorky 33 unikátních pacientů.

Charakterizace panelu CZECANCA

Sekvenační panel CZECANCA je konstruován na bázi technologie SeqCap EZ choice (Nimblegen/Roche). Výběr genů zohledňoval četnost různých onkologických diagnóz v ČR, aktuální stav informací o genetické podstatě hereditárních nádorových syndromů, předpoklady pro identifikaci dalších kandidátních genů, ale i technické možnosti pro účinný a spolehlivý způsob cíleného obohacení pro účely panelového NGS. Z technických důvodů, které směřovaly k omezení oblastí genomu s výskytem neunikátních sekvencí (pseudogenů a repetitivních sekvencí), byly z návrhu stávající verze panelu CZECANCA vědomě vynechány některé známé predispoziční geny (např. *DIS3L2*, *DMBT1*, *PMS2*, *SBDS*, *SDHA*, *SDHC*, *SDHD*) nebo jejich neunikátní části (*CHEK2*, *NF1*). V současné podobě (verze 1.0) obsahuje panel

CZECANCA sondy cílí na kódující sekvenční 219 genů (628 169 b).

Cílené geny jsou, z hlediska klinické významnosti pro účely diagnostiky nádorových predispozičních genů, rozděleny do tří skupin:

Geny skupiny A

- **Prokázána jasná (nezpochybnitelná) asociace s nádorovou hereditou.**
- **Hlavní predispoziční geny.**
- **Znamé a významně zvýšené relativní riziko pro nosiče ($RR > 5$).**
- Klinicky relevantní alterace genů se referují v plném rozsahu klinickému genetickému (tzn. patogenní mutace a VUS třídy 3–5 dle IARC).
- Konsenzuální klinická doporučení pro sledování nosičů mutací jsou jasně definována.
- Vyšetření příbuzných nosičů mutací se provádí z důvodu predikce.

Geny skupiny B

- **Prokázána jasná asociace s nádorovou hereditou (evidentní na základě několika publikovaných studií).**
- **Geny/alely s (předpokládanou) střední penetrancí.**
- **Předpokládané významně zvýšené relativní riziko pro nosiče ($RR 2–5$).**
- **Asociace s nádorovou hereditou je evidentní, ale RR není přesně stanoveno (asociace s nádorovými hereditami je zjevná, ale není dostatek studií/nosičů mutací pro korektní stanovení RR).**
- Klinicky relevantní alterace genů se referují v plném rozsahu klinickému genetickému (tzn. patogenní mutace a VUS třídy 4 nebo 5 dle IARC).
- Klinická doporučení pro sledování nosičů mutací nejsou jasně definována.
- Nosiči mutací jsou požádáni o spolupráci při vyšetření příbuzných pro stanovení segregace.
- V rodinách je provedena segregační analýza identifikované varianty.
- Interpretace výsledků prediktivního testování (pokud je prováděno) je následující:
 - a) Pozitivně prediktivně testované jedince lze zařadit do preventivních sledovacích programů definovaných pro daný hereditární syndrom (pokud takový program existuje;

je nutno vést v patnosti případné modifikace těchto sledovacích programů). Preventivní chirurgické zákroky nejsou pouze na základě nosičství patogenní mutace v těchto genech indikovány, ale jsou ke zvážení při indikativní rodinné anamnéze.

- b) Negativně prediktivně testované jedince dále sledovat, zatím jen dle empirického rizika plynoucího z osobní a rodinné anamnézy.

Geny skupiny C

- **Nejasná, avšak předpokládaná asociace s nádorovými hereditami. Informace o nádorové predispozici přinášejí pouze ojedinělé studie nebo preklinická data.**
- **Informace o klinickém významu genu pro nádorovou predispozici není známa, avšak produkt genu je zapojen v signální dráze, ve které poruchy v jiných genech (kódujících kooperujících proteiny) prokazatelně souvisejí s nádorovou predispozicí.**
- **Klinická doporučení pro sledování nosičů mutací neexistují.**
- Alterace genů se nereferují a slouží pro vyhodnocení podílu variant sledovaných genů na vzniku nádorové predispozice u nemocných v ČR.
- Po vyhodnocení kolektovaných údajů mohou být nosiči kandidátních patogenních mutací požádáni o spolupráci při vyšetření příbuzných pro stanovení segregace v případě, že u probanda s indikativní rodinnou anamnézou nebyly nalezeny pravděpodobné patogenní mutace ve skupině A a B.

V tab. 1 jsou uvedeny základní charakteristiky genů ze skupiny A a B, které tvoří geny, jejichž patogenní mutace se prokazatelně podílejí na zvýšeném riziku vzniku nádorů u nosičů. Skupiny A a B odlišuje především existence klinických doporučení pro péči o nosiče mutací (ve skupině A).

Kromě genů ze skupiny A a B obsahuje panel CZECANCA i skupinu C, která zahrnuje geny, jejichž asociace s nádorovými onemocněními je mnohem méně známá (geny jsou vedeny v abecedním pořadí): *AIP, ALK, APEX1, ATMIN, ATR, ATRIP, AURKA, AXIN1, BABAM1, BRAP,*

BRCC3, BRE, BUB1B, C11ORF30, C19ORF40, CASP8, CCND1, CDC73, CDKN1B, CDKN1C, CEBPA, CEP57, CLSPN, CSNK1D, CSNK1E, CWF19L2, CYLD, DCLRE1C, DDB2, DHFR, DICER1, DMC1, DNAJC21, DPYD, EGFR, EPHX1, ERCC1, ERCC4, ERCC5, ERCC6, ESR1, ESR2, EXO1, EXT1, EXT2, EYA2, EZH2, FAM175A, FAM175B, FAN1, FANCA, FANCB, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FBXW7, GADD45A, GATA2, GPC3, GRB7, HELQ, HNF1A, HOXB13, HRAS, HUS1, CHEK1, KAT5, KCNJ5, LIG1, LIG3, LIG4, LMO1, LRIG1, MAX, MCPH1, MDC1, MDM2, MDM4, MGMT, MMP8, MPL, MRE11A, MSH3, MSH5, MSR1, MUS81, NAT1, NCAM1, NLF1B, NFKB1, NHEJ1, NSD1, OGG1, PARP1, PCNA, PHB, PHOX2B, PIK3CG, PLA2G2A, PMS1, POLB, PPM1D, PREX2, PRF1, PRKDC, PTTG2, RAD1, RAD17, RAD18, RAD23B, RAD50, RAD51, RAD51AP1, RAD51B, RAD52, RAD54B, RAD54L, RAD9A, RBBP8, RECQL5, RFC1, RFC2, RFC4, RHBDF2, RNF146, RNF168, RNF8, RPA1, RUNX1, SDHAF2, SETBP1, SETX, SHPRH, SMARCA4, SMARCE1, TCL1A, TELO2, TERF2, TERT, TLR2, TLR4, TMEM127, TOPBP1, TP53BP1, TSHR, UBE2A, UBE2B, UBE2I, UBE2V2, UBE4B, UIMC1, XPA, XPC, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XRCC4, XRCC5, XRCC6, ZNF350, ZNF365. Vyšetření genů ze skupiny C je nezbytné pro získání informace, zda jejich patogenní mutace mohou vysvětlovat zvýšenou četnost vzniku nádorových onemocnění u jejich nosičů v ČR. Tento význam bude analyzován při dosažení dostatečného počtu vyšetřených osob v databázi projektu.

Sekvenování s panelem CZECANCA

Primární optimalizace sekvenování s panelem CZECANCA probíhala za využití sekvenátoru MiSeq (Illumina), avšak principiálně lze obohatenou knihovnu pravděpodobně použít na libovolné sekvenční platformě současné generace. Použití v současnosti nejrozšířenějšího přístroje firmy Illumina zjednodušuje následné bioinformatické analýzy a snižuje variabilitu výskytu technických sekvenčních artefaktů.

Vstupním materiálem pro přípravu knihovny obohacené o cílové úseky genomové DNA z panelu CZECANCA je fragmentovaná DNA. Fragmentaci lze

Tab. 1. Přehled základních charakteristik 54 genů zařazených do skupiny A nebo B s charakterizací funkcí kódovaných proteinů a asociací nádorových onemocnění v příslušných lokalizacích spojených s nosičstvím dědičných patogenních variant.

Sku- pina	Gen	OMIM	Oficiální název	Základní funkce proteinu	Prs	Ovarium	Děloha	Kolon a rektum	Žaludek	Slinivka	Mozek	Kůže (a névy)	Ledvina	Prostata	Endokrinní tkáň	Sarkomy	Leukemie/lymfomy
A	APC	611731	adenomatous polyposis coli	IC signalizace: Wnt				ŽM			ŽM		ŽM		ŽM		
B	ATM	607585	ataxia-telangiectasia mutated gene	reparace DNA	Ž			ŽM		ŽM							ŽM
A	BAP1	603089	BRCA1 associated protein-1	reparace DNA	Ž?							ŽM	ŽM				
B	BARD1	601593	BRCA1 associated RING domain 1	reparace DNA	Ž												
B	BLM	604610	Bloom syndrome; RECQL3	reparace DNA	Ž			ŽM									ŽM
A	BMPR1A	601299	bone morphogenetic protein receptor, type IA	IC signalizace: TGF-β				ŽM	ŽM								
A	BRCA1	113705	breast cancer 1	reparace DNA	ŽM	Ž	Ž			ŽM				M			
A	BRCA2	600185	breast cancer 2	reparace DNA	ŽM	Ž	Ž			ŽM	ŽM	ŽM	ŽM	M			ŽM
B	BRIP1	605882	BRCA1 interacting protein C-terminal helicase 1	reparace DNA	Ž	Ž											
A	CDH1	192090	cadherin 1, type 1, E-cadherin (epithelial)	IC signalizace: Wnt	Ž		Ž	ŽM						M			
A	CDK4	123829	cyclin-dependent kinase 4	runěčný cyklus								ŽM					
A	CDKN2A	600160	cyclin-dependent kinase inhibitor 2A; p16(INK4A)	runěčný cyklus						ŽM		ŽM					
A	EPCAM	185535	epithelial cellular adhesion molecule	mezibuněčná signalizace				ŽM									
B	ERCC2	126340	excision repair cross-complementation group 1	reparace DNA								ŽM					
B	ERCC3	133510	excision repair cross-complementation group 3	reparace DNA								ŽM					
B	FANCC	613899	Fanconi anemia, complementation group C	reparace DNA	Ž												ŽM
B	FANCM	609644	Fanconi anemia, complementation group M; (FAAP250)	reparace DNA	Ž												
A	FH	136850	fumarate hydratase	metabolizmus živin									ŽM				
A	FLCN	607273	folliculin	IC signalizace: ?									ŽM				

Tab. 1 – pokračování. Přehled základních charakteristik 54 genů zařazených do skupiny A nebo B s charakterizací funkcí kódovaných proteinů a asociací nádorových onemocnění v příslušných lokalizacích spojených s nosičstvím dědičných patogenních variant.

Sku- pina	Gen	OMIM	Oficiální název	Základní funkce proteinu	Prs	Ovarium	Děloha	Kolon a rektum	Žaludek	Slinivka	Mozek	Kůže (a névy)	Ledvina	Prostata	Endokrinní tkáně	Sarkomy	Leukemie/lymfomy
B	<i>CHEK2*</i>	604373	checkpoint kinase 2	reparace DNA	ŽM	Ž	Ž	ŽM		ŽM				M	ŽM		
A	<i>KIT</i>	164920	v-KIT viral oncogene homolog	IC signalizace: RTK				ŽM	ŽM								ŽM
A	<i>MEN1</i>	613733	multiple endocrine neoplasia type I	reparace DNA/ regulace GE						ŽM					ŽM		
A	<i>MET</i>	164860	MET protooncogene	IC signalizace: RTK									ŽM				
A	<i>MLH1</i>	120436	mutL homolog 1	reparace DNA	Ž	Ž	Ž	ŽM									
A	<i>MLH3</i>	604395	mutL homolog 3	reparace DNA			Ž	ŽM									
A	<i>MSH2</i>	609309	mutS homolog 2	reparace DNA		Ž	Ž	ŽM									
A	<i>MSH6</i>	600678	mutS homolog 6	reparace DNA			Ž	ŽM									
A	<i>MUTYH</i>	604933	mutY homolog	reparace DNA				ŽM									
B	<i>NBN</i>	602667	nibrin	reparace DNA	Ž							ŽM					ŽM
A	<i>NF1*</i>	613113	neurofibromin 1	IC signalizace: Ras							ŽM				ŽM	ŽM	
A	<i>NF2</i>	607379	neurofibromin 2	cytoskelet							ŽM						
B	<i>PALB2</i>	610355	partner and localizer of BRCA2; <i>FANCD</i>	reparace DNA	Ž					ŽM							ŽM
B	<i>POLD1</i>	174761	polymerase (DNA directed), β	reparace DNA				ŽM									
B	<i>POLE</i>	174762	polymerase (DNA directed), ε	reparace DNA				ŽM									
B	<i>PRKAR1A</i>	188830	protein kinase, cAMP-dependent, regulatory, type Ia	IC signalizace: GPCR											ŽM		
A	<i>PTEN</i>	602954	phosphatase and tensin homolog	IC signalizace: Akt	Ž		Ž	ŽM			ŽM	ŽM	ŽM		ŽM		
A	<i>PTCH1</i>	601309	patched, drosophila, homolog of, 1	IC signalizace: Hedgehog								ŽM					
B	<i>RAD51C</i>	602774	RAD51 paralog C; <i>FANCO</i>	reparace DNA	Ž	Ž											
B	<i>RAD51D</i>	602954	RAD51 paralog D; <i>RAD51L3</i>	reparace DNA	Ž	Ž											
A	<i>RB1</i>	614041	retinoblastoma 1	buněčný cyklus							ŽM						
B	<i>RECQL</i>	600537	RecQ helicase-like	reparace DNA	Ž												
B	<i>RECQL4</i>	603780	RecQ helicase-like 4	reparace DNA	Ž												
A	<i>RET</i>	164761	rearranged during transfection protooncogene	IC signalizace: RTK											ŽM		

Tab. 1 – pokračování. Přehled základních charakteristik 54 genů zařazených do skupiny A nebo B s charakterizací funkcí kódovaných proteinů a asociací nádorových onemocnění v příslušných lokalizacích spojených s nosičstvím dědičných patogenních variant.

Skupina	Gen	OMIM	Oficiální název	Základní funkce proteinu	Prs	Ovarium	Děloha	Kolon a rektum	Žaludek	Slinivka	Mozek	Kůže (a névy)	Ledvina	Prostata	Endokrinní tkáně	Sarkomy	Leukemie/lymfomy
A	<i>SDHB</i>	185470	succinate dehydrogenase complex, subunit b	metabolismus živin					ŽM				ŽM		ŽM	ŽM	
B	<i>SLX4</i>	613278	<i>S. cerevisiae</i> , homolog of <i>SLX4</i> (<i>FANCP</i>)	reparace DNA	Ž												
A	<i>SMAD4</i>	600993	SMA- and MAD-related protein 4	IC signalizace: TGF-β/TF				ŽM									
A	<i>SMARCB1</i>	601607	SWI/SNF-related, matrix-associated, actin-dependent regulator of chromatin, subfamily b, member 1	regulace GE								ŽM					
A	<i>STK11</i>	602216	serine/threonine kinase 11	IC signalizace: metabolismus/ růst buněk	Ž	Ž	Ž	ŽM	ŽM	ŽM							
B	<i>SUFU</i>	607035	suppressor of fused, drosophila, homolog of	IC signalizace: Hedgehog								ŽM	ŽM				
A	<i>TP53</i>	191170	tumor protein p53	reparace DNA	Ž							ŽM	ŽM		ŽM	ŽM	
A	<i>TSC1</i>	191100	tuberous sclerosis-1	IC signalizace: Akt								ŽM	ŽM			ŽM	
A	<i>TSC2</i>	191092	tuberous sclerosis-2	IC signalizace: Akt								ŽM	ŽM			ŽM	
A	<i>VHL</i>	608537	von Hippel-Lindau	IC signalizace: hypoxie							ŽM				ŽM		
B	<i>WRN</i>	604611	Werner syndrome, RecQ helicase-like	reparace DNA								ŽM				ŽM	
A	<i>WT1</i>	607102	Wilms tumor, type 1	IC signalizace: regulace GE									ŽM				

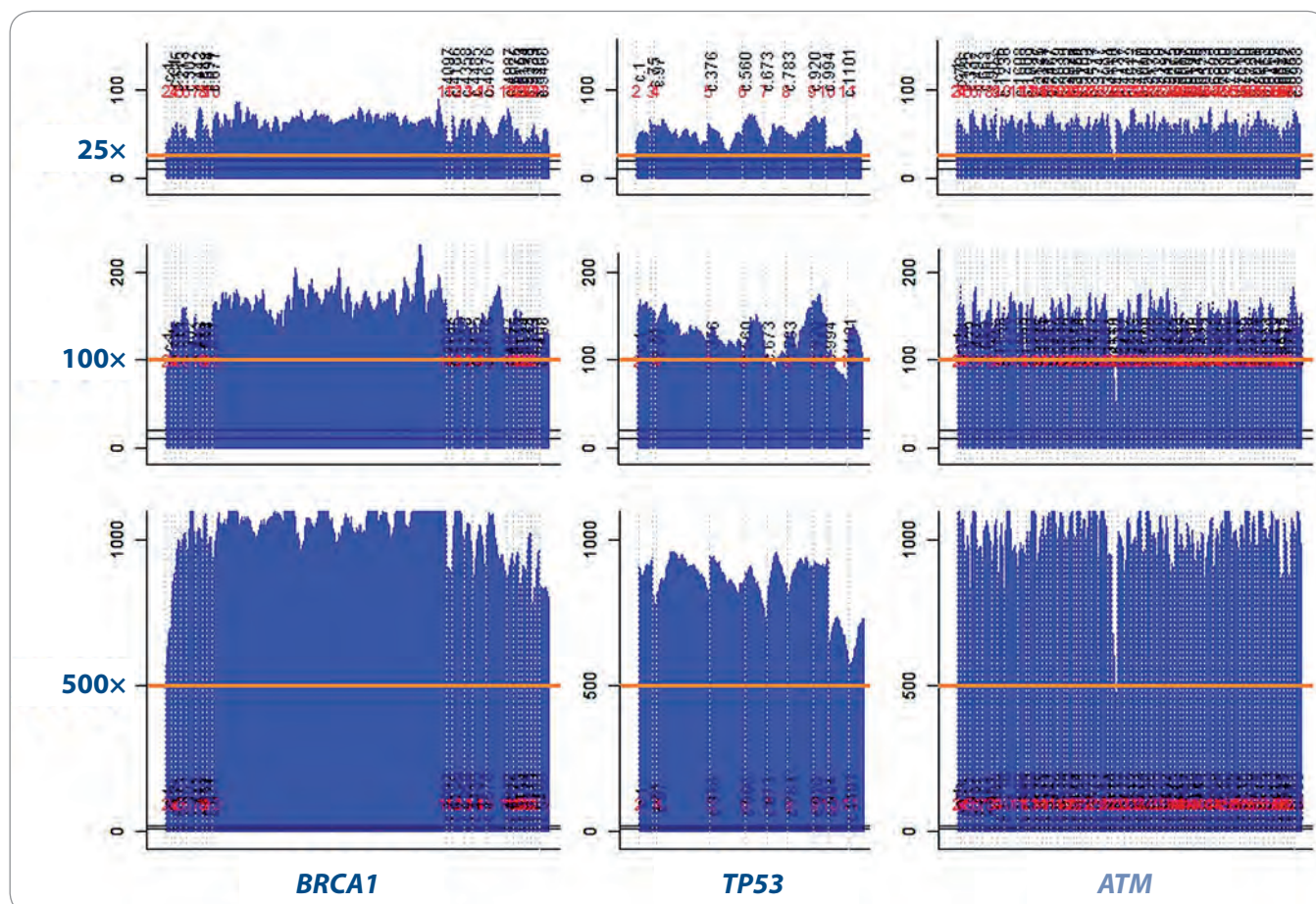
Některé z exonů genů označených * byly z návrhu panelu vynechány z důvodu vysokého výskytu pseudogenů.

Ž – ženy, M – muži, IC – intracelulární, RTK – receptorová tyrozinkináza, TF – transkripční faktor, GE – genová exprese

provádět ultrazvukem (např. systém Covaris) nebo enzymaticky (např. KAPA HyperPlus, Roche) s DNA o doporučeném vstupním množství 0,3–1 µg. Po úpravě fragmentů DNA (end-repair, A-tailing, ligace adaptorů) provádíme selekci fragmentů o vhodné délce, které pak značíme v průběhu LM-PCR (ligation-mediated PCR) indexy specifickými pro

každý vzorek individuální DNA. Takto označené vzorky pak můžeme proporcionalně spojit. Počet spojených vzorků (= společně analyzovaných pacientů) závisí na velikosti panelu, požadovaném pokrytí (= počet čtení každého nukleotidu) a kapacitě sekvenátoru. Za použití panelu CZECANCA lze při cíleném sekvenačním pokrytí 200krát vyšetřit

na systému MiSeq (Illumina) bezpečně 30 pacientů v jednom sekvenačním běhu. Fragmenty DNA všech analyzovaných vzorků jsou následně společně hybridizovány se sondami panelu CZECANCA – probíhá obohacování knihovny. Po ukončení hybridizace jsou biotinylované sondy s navázanými fragmenty DNA vychytány magnetic-



Obr. 1. Homogenita pokrytí u třech vybraných genů z CZECANCA panelu (*BRCA1*, *TP53* a *ATM*) při různé cílené hloubce sekvenačního pokrytí (coverage: 25x, 100x, 500x; oranžová linka).

V grafech jsou pomocí skriptu Boudalyzer znázorněny pokrytí všech jednotlivých bází v oblasti všech kódujících exonů zobrazených genů.

kými kuličkami na základě vazby biotin-streptavidin. Vychytané fragmenty DNA jsou následně amplifikovány a po přečištění je obohacená knihovna připravena k sekvenování. Pro sekvenování na MiSeq používáme sekvenační chemii V3 (150-cycle, Illumina).

Zásadní důraz byl kladen na homogenní sekvenační pokrytí (počet čtení jednotlivých nukleotidů sekvenovaného úseku DNA) jednotlivých genů a robustní reprodukovatelnost umožňující minimalizovat sekvenační chyby mezi jednotlivými analýzami a mezi laboratořemi (obr. 1). Otázka sekvenačního pokrytí je dlouhodobě významně diskutované téma. V současné době je za hodnověrné považováno pokrytí 35–50krát pro jednonukleotidové záměny a malé delece/inzerce napříč genomem [11].

Bioinformatické zpracování pro účely jednotné databáze (CZECANCA pipeline)

Bioinformatické zpracování sekvenačních dat je založeno na protokolu vypracovaném pracovníky Ústavu dědičných a metabolických poruch (Mgr. Viktor Stránecký, Ph.D. a doc. Ing. Stanislav Kmoch, CSc.) upraveném v Ústavu biochemie a experimentální onkologie (Mgr. Petra Zemánková) 1. LF UK v Praze.

Bioinformatické zpracování pro účely jednotné databáze předpokládá sdílení sekvenačních dat cestou BaseSpace (<https://basespace.illumina.com>). Soubory jednotlivých vyšetřovaných osob jsou kódovány pracovníkem sdílicím sekvenační data, které jako jediný subjekt má přístup k identifikaci svého konkrétního vzorku. Čtení v podobě fastq souboru jsou namapována pomocí alig-

novacího softwaru na lidský genom, zároveň vzniká SAM (Sequence Alignment Map) soubor. Pomocí aplikace Picard tools je převeden na BAM soubor, což je binární verze předchozího SAM. K tomuto kroku patří také odstranění duplikátů pomocí stejné aplikace. V této části se také provádí tzv. realignment, který nám umožňuje GATK (The Genome Analysis Toolkit, <https://www.broadinstitute.org/gatk/>). Soubory BAM slouží pro zobrazení čtení v příslušném prohlížeči, např. Integrative Genomics Viewer (IGV). Dalším důležitým krokem v procesu zpracování dat je převod na VCF (Variant Call File), k čemuž slouží GATK. V tomto souboru se nacházejí varianty nalezené u příslušného pacienta. Tento výstup je zpracován pomocí anotačního softwaru, např. ANNOVAR (<http://annovar.openbioinformatics.org/en/latest/>),

kde se každé variantě přiřadí její biologická funkce a záznamy, jako je přítomnost varianty v databázích ClinVar (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) a HGMD (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>), frekvence varianty v mezinárodních sekvenačních projektech 1 000 genomů (<http://www.1000genomes.org/>) nebo ESP6500 (<https://esp.gs.washington.edu/drupal/>) nebo EXAC (<http://exac.broadinstitute.org/>).

Implementace projektu CZECANCA

Projekt CZECANCA je připraven po technické stránce a v posledním období bylo na základě optimalizovaného protokolu na našem pracovišti analyzováno přes 200 indikovaných osob. V současné době je finalizována podoba společné databáze genotypů a fenotypových charakteristik sekvenovaných pacientů. Údaje o pacientech by měly zahrnovat data, která se vztahují k onkologické diagnóze (věk diagnózy, histologii, imunohistochemická vyšetření, stupeň diferenciacie a rozsah onemocnění), osobní anamnéze (věk, pohlaví) a onkologické rodinné anamnéze (reprezentované ideálně rodokmenem).

Vytvoření společné databáze předpokládá rovněž získání genotypů zdravé populace z vyšetření reprezentativního počtu vzorků kontrolního souboru osob bez onkologické diagnózy. Tento důležitý požadavek pro identifikaci popu-

lačně specifických genetických variant bez souvislosti s nádorovými onemocněními bude nezbytné řešit formou specifických grantových projektů.

Pro správnou interpretaci získaných sekvenačních dat, zejména v případě nově identifikovaných či kandidátních predispozičních genů, a tím následně pro správnou péči o vyšetřované jedince, je nezbytná úzká spolupráce mezi vyšetřujícími laboratoři, ambulantním genetikem a ošetřujícím onkologem/gynekologem. Neexistence této funkční spolupráce vede ke ztrátě řady cenných informací a ve svém důsledku může vést k poškození testovaného probanda, resp. dalších členů jeho rodiny. Na svém významu tak ještě více nabývá kvalitně odebraná rodinná anamnéza včetně informací o zdravých příbuzných a zejména pak její pravidelná aktualizace ošetřujícím lékařem.

Domníváme se, že společné úsilí zainteresovaných pracovišť je racionální cestou k dosažení cíle, kterým je zlepšení klinické diagnostiky dědičných nádorových onemocnění, které by mělo přinést zlepšení péče o nosiče mutací v nádorových predispozičních genech.

Poděkování

Zásadní podíl na provedených bioinformatických analýzách a navržených postupech pro jednotné zpracování dat má Mgr. Viktor Stránecký, Ph.D. a jeho kolegové z Ústavu dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN v Praze, kterým velmi děkujeme za jejich pomoc a podporu. Za přípravu a kritické poznámky k této práci

a složení CZECANCA panelu děkujeme především doc. MUDr. Lence Foretové, Ph.D. a RNDr. Evě Macháčkové, Ph.D. z Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů, MOÚ v Brně a řadě dalších kolegů za přínosné poznámky a doporučení.

Literatura

1. Foretova L, Petrakova K, Palacova M et al. Genetic testing and prevention of hereditary cancer at the MMCI – over 10 years of experience. *Klin Onkol* 2010; 23(6): 388–400.
2. Rahman N. Realizing the promise of cancer predisposition genes. *Nature* 2014; 505(7483): 302–308. doi: 10.1038/nature12981.
3. Stratton MR, Campbell PJ, Futreal PA. The cancer genome. *Nature* 2009; 458(7239): 719–724. doi: 10.1038/nature07943.
4. Stratton MR, Rahman N. The emerging landscape of breast cancer susceptibility. *Nat Genet* 2008; 40(1): 17–22.
5. Saam J, Arnell C, Theisen A et al. Patients tested at a laboratory for hereditary cancer syndromes show an overlap for multiple syndromes in their personal and familial cancer histories. *Oncology* 2015; 89(5): 288–293. doi: 10.1159/000437307.
6. Kleibl Z, Novotný J, Bezďickova 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.
7. Schroeder C, Faust U, Sturm M et al. HBOC multi-gene panel testing: comparison of two sequencing centers. *Breast Cancer Res Treat* 2015; 152(1): 129–136. doi: 10.1007/s10549-015-3429-9.
8. Lhota F, Stranecky V, Boudova P et al. Targeted next-gen sequencing in high-risk BRCA1- and BRCA2-negative breast cancer patients. *Curr Oncol* 2014; 21(2): e376.
9. Kluska A, Balabas A, Paziewska A et al. New recurrent BRCA1/2 mutations in Polish patients with familial breast/ovarian cancer detected by next generation sequencing. *BMC Med Genomics* 2015; 8: 19. doi: 10.1186/s12920-015-0092-2.
10. Cybulski C, Lubiński J, Wokolorczyk D et al. Mutations predisposing to breast cancer in 12 candidate genes in breast cancer patients from Poland. *Clin Genet* 2014; 88(4): 366–370. doi: 10.1111/cge.12524.
11. Sims D, Sudbery I, Iltott NE et al. Sequencing depth and coverage: key considerations in genomic analyses. *Nat Rev Genet* 2014; 15(2): 121–132. doi: 10.1038/nrg3642.

Genetika tumorigenézy nádorov kolorekta (možnosti testovania a screeningovej predikcie dedičnej formy ochorenia – Lynchovho syndrómu)

Genetics of Colorectal Tumorigenesis (Possibilities of Testing and Screening Prediction of Hereditary Form of Colorectal Cancer – Lynch Syndrome)

Mlkvá I.

Oddelenie klinickej genetiky, Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UN Bratislava, Slovenská republika

Súhrn

Kolorektálny karcinóm je v súčasnosti jedným z najčastejších nádorových ochorení vyskytujúcich sa v rozvinutých krajinách. Pochopenie molekulárnych princípov jeho vzniku patrí opäťovne v poslednom čase medzi priority v oblasti onkogenetického výskumu. Kolorektálny karcinóm je zároveň aj vhodným modelom pre štúdium kancerogenézy z dôvodu dobrej dostupnosti prekancerózných lézií a tiež z dôvodu existencie viacerých jasne popísaných hereditárnych foriem ako familiárna adenomatózna polypóza a Lynchov syndróm. Klasický model kolorektálnej tumorigenézy, popísaný Fearonom a Vogelsteinom, predstavuje tradičnú cestu vývoja kolorektálneho karcinómu zo sekvencie adenóm-karcinóm. Tento model bol postavený na dôkladnej analýze mutácií v jednotlivých morfológických štádiách kancerogenézy, ktorých progresívna akumulácia vedie k malígnej transformácii kolonického epitelu. V posledných rokoch bol však prijatý aj alternatívny model vývoja kolorektálneho karcinómu zo seratovaných prekursorov. Táto cesta vývoja, nazývaná aj seratovaná cesta, priniesla nový pohľad na kolorektálnu tumorigenézu. V súčasnosti sa predpokladajú minimálne tri molekulárne cesty kolorektálnej tumorigenézy: 1. cesta chromozómovej instability reprezentovaná dedičnou formou familiárnej adenomatóznej polypózy; 2. mutátorová cesta s mismach repair fenotypom reprezentovaná dedičnou formou Lynchovho syndrómu, ale aj častou sporadických kolorektálnych karcinomov; a 3. hypermetylačná seratovaná cesta charakterizovaná vysokou frekvenciou hypermetylácie CpG ostrovčekov promótorových oblastí určitých génov (CIMP+).

Kľúčové slová

kolorektálny karcinóm – kolorektálna tumorigenéza – Lynchov syndróm – mikrosatelitová instabilita – hypermetylačný fenotyp

Autorka deklaruje, že v súvislosti s predmetom studie nemá žádné komerční zájmy.

The author declares she has 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 recommendation for biomedical papers.



MUDr. Iveta Mlkvá

Oddelenie klinickej genetiky
Ústav lekárskej biológie, genetiky
a klinickej genetiky
LF UK a UN Bratislava
Americké nám. 3
811 08 Bratislava
Slovenská republika
e-mail: iveta.mlkva@gmail.com

Obdržané/Submitted: 14. 7. 2016

Prijaté/Accepted: 8. 9. 2016

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2016555>

Summary

Colorectal cancer is currently one of the most frequent cancers in developed countries. Understanding the molecular principles of its pathogenesis has recently come into focus of many oncogenetic studies. Colorectal cancer also represents an ideal model for the study of molecular basis of cancerogenesis owing to the wide availability of its precursor lesions and the existence of several notorious genetic predispositions such as familial adenomatous polyposis and Lynch syndrome. The classical model of colorectal tumorigenesis, described by Fearon and Vogelstein, suggested the idea of a conventional progression from adenoma to carcinoma. It was based on a careful analysis of mutations occurring within particular stages of carcinogenesis with regards to their stepwise accumulations leading to neoplastic transformation of the colonic epithelium. Recently, new evidence has pointed to an alternative model of colorectal tumorigenesis introducing the concept of serrated precursors. This alternative pathway, known as the serrated pathway, has provided a new perspective on colorectal cancer development. Nowadays, three molecular pathways leading to colorectal tumorigenesis are recognized: 1. the chromosomal instability pathway typified by familial adenomatous polyposis; 2. the mutator pathway characterized by inactivation of DNA mismatch repair genes such as in Lynch syndrome or a number of sporadic colorectal cancers; 3. the hypermethylation serrated neoplasia pathway characterized by excessive methylation of some CpG islands in the promoter region of certain genes (positive CpG islands methylator phenotype) (CIMP+).

Key words

colorectal cancer – colorectal tumorigenesis – Lynch syndrome – microsatellite instability – hypermethylation phenotype

Úvod

Kolorektálny karcinóm (colorectal carcinoma – CRC) je jedným z najčastejších sa vyskytujúcich onkologických ochorení so stále vysokou mortalitou. Incidencia tohto ochorenia má vzostupný charakter predovšetkým v rozvinutých krajinách, pričom krajiny strednej Európy sa už tradične držia na špici [1]. Mortalita na CRC sa vďaka včasnej diagnostike a zlepšujúcej sa liečbe znižuje, stále však dosahuje 8 % zo všetkých úmrtí na nádorové ochorenia. V oblasti rektosigmy sa vyskytuje 43 % diagnostikovaných CRC, zvyšok (57 %) v oblasti vyšších častí hrubého čreva [2]. Známe rizikové faktory pre vznik CRC sú jednak environmentálne a jednak genetické. Z pohľadu ich vzájomného zastúpenia rozlišujeme tri formy výskytu nádorov kolorekta:

- *Sporadická forma*, pri ktorej nezaznamenávame familiárny výskyt, predstavuje 70 % všetkých CRC. Najčastejšie sa vyskytuje vo veku nad 50 rokov a predovšetkým stravovacie zvyklosti a environmentálne faktory zohrávajú úlohu v etiológii ochorenia.
- *Hereditárna forma*, predstavuje 5–7 % CRC s jednoznačnou genetickou predispozíciou ako etiologickým faktorom. Táto skupina sa ďalej rozlišuje na formy polypózne a nepolypózne podľa toho, či polypy kolorekta sú alebo nie sú základným prejavom ochorenia. U väčšiny hereditárnych foriem (hereditárnych syndrémov) dnes poznáme kauzálnu mutáciu zodpovedných génov a vieme ich rutínne testovať.

• *Familiárna forma*, je treťou a zatiaľ najmenej objasnenou skupinou CRC. Predstavuje asi 25 % všetkých prípadov. V rodinách pacientov s týmto typom CRC zaznamenávame familiárny výskyt, ktorý však nezodpovedá obrazu ani jedného z hereditárnych syndrémov. Členovia takýchto rodín majú zvýšené riziko výskytu CRC, ktoré však nedosahuje riziko pri hereditárnej forme. V multifaktoriálnej etiológii ochorenia sa uvažuje o účasti viacerých zatiaľ menej prebádaných génov menšieho účinku, prípadne menej závažných variantov známych génov.

Vysoká úroveň poznatkov o molekulárnej podstate vzniku CRC sa stala základom aj pre pochopenie tumorigenézy iných solídnych nádorov. Špecifická germinatívna mutácia je zodpovedná za vznik hereditárnej formy CRC, kým akumulácia za sebou idúcich somatických mutácií je predpokladaným základom väčšiny sporadických prípadov ochorenia.

Molekulárna patogenéza CRC

CRC je výsledkom progresívnej akumulácie genetických a epigenetických alterácií, ktoré vedú k transformácii kolonického epitelu na adenokarcinóm. Špecifické genetické zmeny vedúce k tomuto procesu môžu byť jednak vrodené (germinatívne mutácie) alebo častejšie získané (somatické mutácie). Takéto mutácie môžu prinášať selektívne rastové zvýhodnenie určitých buniek, ktoré

vedie k ich preferenčnej proliferácii. Hovoríme o klonálnej evolúcii nádorových buniek. Monoklonálna teória kolorektálnej kancerogenézy, prvýkrát popísaná v roku 1990 Fearonom a Vogelsteinom, je dnes považovaná za základný predpoklad vývoja aj iných solídnych nádorov. Podľa tohto modelu rastové zvýhodnenie, ktoré určitá bunka získava, umožňuje jej klonálnu expanziu voči ostatným susediacim bunkám. Z tejto monoklonálnej populácie buniek musí byť určitá bunka zvýhodnená ďalšou náhodnou mutáciou vedúcou k ďalšej vlne klonálnej expanzie. Takéto progresívne nahromadenie kritického počtu získaných mutácií vedie potom v konečnom dôsledku k bunkovej dezorganizácii a event. aj schopnosti invazívneho rastu a metastázovania. Nádorové tkanivo má teda monoklonálne zloženie buniek, na rozdiel od normálneho kolonického epitelu, ktorý má vždy polyklonálny pôvod.

Kolorektálna tumorigenéza je teda vždy viacstupňovým procesom a má svoje morfológické a aj molekulárne úrovne [3].

Sekvencia adenóm-karcinóm (klasická cesta)

Sliznica kolorekta vďaka svojej dobrej dostupnosti predstavuje ideálne tkanivo na výskum nádorovej patogenézy. Už dlhý čas je známe, že CRC sa u človeka vyvíja z prekancerózneho prekursora, ktorým je vo väčšine prípadov adenóm (adenomatózny polyp). Prolife-

rácia a diferenciácia kolonocytov z kmeňových buniek nastáva výlučne v glandulárnych kryptách kolonického epitelu a je ohraničená na dolnú tretinu krypt. Pri jej dysregulácii proliferácia aktivita migruje smerom nahor, čo vedie spočiatku k tvorbe mikroadenómov a neskôr aj k tvorbe makroskopicky evidentných adenómov. Takto vzniknuté aberantné bunkové línie strácajú schopnosť podriaďovať sa normálnemu procesu dozrievania a apoptózy. To napokon vedie k fokálnemu rastu dysplastického mukózy v ložiskách aberantných krypt a následnému vývoju invazívneho adenokarcinómu. Celý tento proces prechodu normálnej mukózy na adenóm a neskôr karcinóm je postupný a trvá väčšinou približne 5–10 rokov [4].

Sekvencia hyperplasticky seratovaný polyp-karcinóm (alternatívna cesta)

Predpoklad, že takmer všetky CRC sa vyvíjajú z benígnych adenomatóznych prekursorov, bol platný dlhé roky. Avšak nedávne dôkazy čoraz viac podporujú existenciu alternatívnej cesty kolorektálnej kancerogenézy cestou seratovaných polypov. Seratované lézie predstavujú heterogénnu skupinu polypov širokého morfológického spektra od hyperplastických polypov, cez sesilné seratované polypy/adenómy až po tradičné seratované adenómy a zmiešané polypy. Typickým histologickým znakom všetkých z nich je zubkovitá štruktúra hypermaturovaného epitelu kolonických krypt. Dlho sa verilo, že sú to benígne lézie bez výraznejšieho malígneho potenciálu. Avšak koncom 90. rokov 20. storočia bolo na molekulárnej úrovni preukázané, že niektoré z týchto lézií môžu viesť alternatívnou cestou k vývoju CRC, ktorá existuje popri tradičnej ceste adenóm-karcinóm. Tento mechanizmus malígne transformácie bol popísaný u pacienta so seratovanou polypózou (mnohopočetným výskytom seratovaných polypov) a stal sa známy ako alternatívna seratovaná cesta kolorektálnej tumorigenézy.

Molekulárne cesty kolorektálnej tumorigenézy

V súčasnosti sa predpokladá, že existujú prinajmenšom tri molekulárne cesty

vedúce, každá iným mechanizmom, k vzniku CRC: 1. supresorová cesta alebo cesta chromozómovej instability (CIN), 2. mutátorová cesta alebo cesta mikrosatelitovej instability (MSI) a 3. epigenetická hypermetylačná cesta (CIMP+).

1. Supresorová cesta – chromozómová instabilita

Touto cestou sa vyvíja približne 60–85 % CRC z prekursora adenomatózneho polypu. Trvanie kancerogenézy sa odhaduje na 7–10 rokov. Podľa akceptovaného modelu kolorektálnej tumorigenézy postaveného Fearonom a Vogelsteinom korelujú za sebou idúce špecifické genetické zmeny s konkrétnym morfológickým nálezom [3].

Tento lineárny model vývoja sa z pohľadu nových poznatkov stal síce viac komplexný, ale je stále uznávaný. Každý krok morfológickej zmeny od normálnej sliznice smerom k invazívnemu karcinómu zahŕňa špecifické a dobre definované genetické alterácie. Tieto alterácie sa týkajú jednak onkogénov a jednak tumor supresorových génov. Nádorové tkanivo je pri tejto molekulárnej ceste charakteristické prítomnosťou veľkého počtu chromozómových abnormalít (CIN) vrátane delécií, inercií a straty heterozygoty. Podľa charakteru úvodnej genetickej zmeny môžu byť tieto tumory buď hereditárne, ak sa jedná o germinatívnu mutáciu, typickým reprezentantom je familiárna adenomatózna polypóza (FAP), alebo sporadické pri nahromadení somatických mutácií.

Onkogény

Onkogény sú homológy normálnych génov bunky, ktoré sa podieľajú na kontrole jej rastu a na regulácii bunkového cyklu. Mutácie onkogénov vedú k ich aktivácii, výsledkom čoho je nekontrolovaná bunková proliferácia. Medzi onkogény podieľajúce sa na kancerogenéze sporadických CRC patria onkogény *RAS*, *SRC*, *C-MYC* a *C-ERBB-2*. Najdôležitejší z nich je *K-RAS*, mutácia ktorého je prítomná asi u 50 % sporadických CRC a 50 % adenómov väčších ako 1 cm.

K-RAS kóduje rodinu malých proteínov (homológov G proteínov), ktoré sa podieľajú na prenose extracelulárnych rastových signálov smerom do jadra

bunky. Táto genetická alterácia je zaznamenaná počas neskoršej progresie adenómov a zohráva úlohu aj v procese nádorovej invázie a metastázovania. Klinický význam detekcií *RAS* mutácií u CRC má svoje opodstatnenie pri stanovení účinnosti cielenej biologickej liečby a *RAS* je aj jedným z perspektívnych DNA markerov diagnostiky včasného CRC zo stolice pacienta [5].

Tumor supresorové gény

Na rozdiel od onkogénov tumor supresorové gény majú za normálnych podmienok inhibičnú funkciu v regulácii bunkového cyklu. Pri poruche ich funkcie dochádza k narušeniu ich supresorovej a apoptotickej činnosti, čím nastáva strata kontroly replikácie a proliferácie bunky. Na bunkovej úrovni tumor supresorové gény fungujú ako recesívne gény, tzn. strata funkcie proteínu nastáva len pri vyradení oboch kópií génu bodovou mutáciou, deléciou alebo prestavbou. Tento mechanizmus dvojkrokového vyradenia funkcie supresorových génov bol prvýkrát popísaný Knudsonom u *RB1* génu spôsobujúceho detský retinoblastóm. Knudsonova teória objasnila, prečo sa ten istý nádor môže vyskytovať ako vo forme hereditárnej (prvým zásahom je germinatívna mutácia zdedená alebo vzniknutá *de novo*) tak aj vo forme sporadickej (prvým zásahom je somatická mutácia v jedinej bunke), a vysvetlila aj klinické rozdiely medzi uvedenými formami. Prvým dôkazom účasti tumor supresorových génov v kancerogenéze CRC boli štúdie popisujúce stratu heterozygoty (LOH) dlhých alebo krátkych ramien špecifických chromozómov u veľkého počtu tumorov kolorekta. Neskôr boli na takýchto lokusoch identifikované konkrétne gény, a to na lokuse 5q gén *APC*, na lokuse 17p gén *TP53* a na lokuse 18q gény *SMAD4*, *SMAD2* a *DCC*.

Pravdepodobne najkritickejšim génom účinkujúcim už v skorých štádiách kolorektálnej tumorigenézy je *APC* tumor supresorový gén. Somatické mutácie jeho oboch alel sú prítomné u 80 % sporadických CRC a ako samostatná germinatívna mutácia je zodpovedný za FAP, dominantne dedičný hereditárny syndróm vyznačujúci sa tvorbou

stoviek až tisícov kolorektálnych polypov. Strata druhej APC alely, zaznamenaná už u malých adenomatóznych polypov s dysplastickými ložiskami, poukazuje na veľmi včasný zásah v kolorektálnej kancerogenéze. Funkcia proteínového produktu APC génu nie je zatiaľ presne objasnená. Vie sa však, že CRC vykazujúce normálny stav APC génu majú mutácie β -katenínu, čo je proteín zainteresovaný na tej istej signálizačnej kaskáde ako APC proteín, označovanej ako Wnt signálizačná cesta. V súčasnosti sa uvažuje, že práve aktivácia Wnt cesty, ktorá zohráva ontogenetickú úlohu v embryonálnom vývoji a obnove črevného epitelu, môže byť spúšťačom kancerogenézy [6].

Ďalším z tumor supresorových génov, ktorého inaktiváciu nachádzame u 75 % CRC, je gén *TP53*. Ide o najčastejšie mutovaný gén zaznamenaný u ľudských nádorových ochorení. V kolorektálnej kancerogenéze je strata funkcie *TP53* génu relatívne neskorý zásah. Čím je ochorenie v pokročilejšom štádiu, tým je frekvencia zistených mutácií *TP53* vyššia. Supresorový gén *TP53* je nazývaný aj „strážcom genómu“, jeho proteínový produkt kontroluje funkciu najmenej 20 ďalších génov podieľajúcich sa na proliferácii, diferenciácii a procese apoptózy bunky. Germinatívna mutácia tohto génu spôsobuje Li-Fraumeni syndróm, závažnú dominantne dedičnú predispozíciu pre vznik rôznorodých onkologických ochorení, ktoré sa manifestujú už v nezvyčajne mladom veku. Niektoré štúdie poukazujú, že mutácie *p53* zistené u CRC znamenajú jeho celkovo horšiu prognózu [7].

Chromozóm 18q a supresorové gény *DCC*, *SMAD4* a *SMAD2* – strata exprese týchto génov je častým javom hlavne v pokročilejších štádiách adenómov a znamená horšiu prognózu CRC. *SMAD4* gén kóduje proteín, ktorý je súčasťou TGF- β (transforming growth factor- β) signálizačnej cesty kontrolujúcej okrem iného aj rast a diferenciáciu buniek. Germinatívna mutácia *SMAD4* génu je asociovaná s juvenilným polypóznym syndrómom (JPS), hereditárnou predispozíciou k tvorbe mnohopočetných juvenilných polypov a zvýšeným rizikom vývoja CRC.

2. Mutátorová cesta – mikrosatelitová instabilita

Mutátorová cesta, nazývaná tiež MSI cesta, je ďalším molekulárnym mechanizmom vývoja invazívneho CRC z adenomatózneho polypu a pravdepodobne aj zo serotovaného adenómu. Týmto spôsobom sa vyvíja hereditárna forma CRC asociovaná s Lynchovým syndrómom a tiež asi 15 % sporadických CRC. Kľúčovým momentom pri tomto procese kancerogenézy je chybná funkcia DNA mismatch repair (MMR) enzýmu, ktorá je výsledkom vyradenia obidvoch alel jedného z mutátorových génov.

Mutátorové gény

Základnou funkciou mutátorových (MMR) génov je oprava porúch vznikajúcich pri replikácii DNA a tým zaistovanie integrity genetickej informácie bunky. Normálna MMR funkcia si vyžaduje koordinovanú súčinnosť viacerých rôznych génových produktov MMR génov. V súčasnosti je známych už minimálne sedem takýchto génov: *MSH2*, *MLH1*, *PMS1* a *PMS2*, *MSH6*, *MLH3* a *MSH3*. [8]. Funkcia nie všetkých z nich je však plne jasná. Germinatívna mutácia MMR génu je kauzálnou mutáciou zisťovanou u väčšiny rodín s Lynchovým syndrómom. U sporadických foriem CRC s chýbajúcou expresiou MMR génov však nenachádzame mutácie inkriminovaných génov. Namiesto toho vykazujú tieto nádory epigenetické zmeny, ktoré vedú ku génovému silencingu. Dôsledkom chybnej funkcie mutátorových génov je hromadenie mutácií v genóme bunky, biologickým markerom čoho je fenomén MSI. Mikrosatelity sú krátke repetitívne DNA sekvencie opakujúce sa v genóme bunky desiatky až stovkykrát, ktoré pri chybnej MMR funkcii vykazujú zmeny počtu oproti zdravému tkanivu. Ak najmenej 30 % mikrosatelitových lokusov vykazuje zmenu, tumor je hodnotený ako MSI-H, teda má vysoký stupeň MSI [9]. V praxi sa štandardne vyšetruje panel piatich mikrosatelitových lokusov, tumor sa považuje za MSI-H, ak aspoň dva z nich vykazujú instabilitu. V prípade, že MSI je zistená v menej ako dvoch sledovaných markeroch, tumor je označený ako MSI-L (tumor s nízkou MSI) alebo MSS (mikrosatelitovo stabilný) [10].

MSI-H a MSI-L fenotyp CRC

Na rozdiel od MSS CRC, MSI tumory majú svoje charakteristické klinicko-patologické znaky. Vyskytujú sa častejšie v proximálnych úsekoch hrubého čreva, bývajú slabo diferencované, mávajú mucinóznym charakter, medulárny rast a nachádzame u nich lymfocytárnu infiltráciu. Adenómy bývajú makroskopicky väčšie, plochšie a rýchlejšie progredujú do štádia karcinómu (2–3 roky). Napriek týmto zdánlivo nepriaznivým histologickým ukazovateľom ich prognóza je celkovo lepšia. Svedčí to o inom biologickom základe uvedených tumorov. Význam MSI-L fenotypu CRC nie je zatiaľ celkom jasný. Hoci sa tento fenotyp nespája jednoznačne s poruchou MMR funkcie, pravdepodobne ide o nie náhodný úkaz, ktorý má svoju biologickú podstatu. Uvažuje sa o epigenetickom ovplyvnení funkcie *MGMT* génu, zohrávajúceho úlohu pri alternatívnej serotovanej ceste kolorektálnej tumorigenézy [11].

Genetika Lynchovho syndrómu

Lynchov syndróm, nazývaný aj hereditárny nepolypózný kolorektálny karcinóm (hereditary non-polyposis colorectal cancer – HNPCC), je najčastejšie sa vyskytujúcou dedičnou príčinou vzniku nádoru hrubého čreva. Tvorí asi 2–3 % zo všetkých diagnostikovaných prípadov CRC. Ide o autozómovo dedičné ochorenie predisponujúce aj k vzniku iných druhov nádorov, hlavne karcinómu endometria. Genetickým podkladom vzniku Lynchovho syndrómu je germinatívna mutácia niektorého z MMR génov, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, alebo strata exprese *MSH2* v dôsledku delécie *EPCAM* génu. K inaktivácii génu vedie vyradenie aj druhej alely buď somatickou mutáciou, stratou heterozygoty alebo epigenetickým silencingom hypermetyláciou promótora génu. Medzi identifikovanými mutáciami sú u pacientov s Lynchovým syndrómom najčastejšie zastúpené mutácie *MLH1* (32 %) a *MSH2* (39 %), menej často mutácie *MSH6* (15 %) a *PMS2* (14 %) [12]. Základnou funkciou DNA MMR systému je oprava drobných porúch vznikajúcich pri chybnom párovaní báz pri replikácii DNA. Aby mohol tento systém účinne fun-

govať, vyžaduje si koordinovanú činnosť rôznych MMR génových produktov. Známe sú viaceré heterodimérové proteínové komplexy DNA MMR systému: MutS- α (MSH2/MSH6), MutS- β (MSH2/MSH3), MutL- α (MLH1/PMS2), MutL- β (MLH1/PMS1) a MutL- γ (MLH1/MLH3). Porucha ich funkcie vedie k instabilite celého genómu a hromadeniu mutácií, a to aj v génoch priamo zainteresovaných na procese kancerogenézy.

Nález MSI je síce typický pre Lynchov syndróm, avšak nie je špecifický. Uvádza sa, že 15 % sporadických CRC vykazuje tiež vysoký stupeň MSI. Tieto nádory sa vyvíjajú odchylnou epigenetickou cestou hypermetylácie promótoru *MLH1* génu, nazývanou aj CIMP (CpG island methylator phenotype) a sú sprevádzané mutáciami *BRAF* génu. Nádory tohto typu vyvíjajú rovnaký MSI fenotyp, nespájajú sa však s Lynchovým syndrómom a bývajú označované aj ako Lynch-like CRC.

Epigenetický silencing *MSH2* génu môže spôsobovať aj veľká delícia 3' konca susediaceho *EPCAM* génu. Nosiči takejto germinatívnej mutácie majú dedičnú formu hypermetylácie promótoru *MSH2* génu s rôznym fenotypovým dopadom. Ide o samostatnú skupinu Lynchovho syndrómu s rizikom hlavne pre vznik kolorektálnych nádorov [13].

Lynchov syndróm býva často nerozpoznaný, hlavne jeho viac atenuované formy spájajúce sa s mutáciami *MSH6* a *PMS2* génov. Na identifikáciu rizikových jedincov sú s rôznou senzitivitou a špecifitou využívané známe Amsterdamské kritériá, Bethesda kritériá a rôzne predikčné modely zvažujúce jednak familiárny výskyt a jednak individuálne klinické a histologické znaky. Na rozdiel od selektívnych stratégií existujú aj náznaky presadzujúce potrebu zavedenia univerzálneho screeningu všetkých CRC na MSI.

Screening a možnosti reflexného testovania Lynchovho syndrómu

Keďže sekvenčná analýza germinatívnych mutácií MMR génov je pracná a finančne náročná, vyšetrenie sa optimálne začína screeningom nádorového tkaniva.

Mikrosatelitová instabilita

MSI je hlavným molekulárnym markerom Lynchovho syndrómu a jej vyšetrenie je prvým krokom testovania rizikových jedincov. Prítomnosť MSI-H v tumorovom tkanive svedčí o chybnnej funkcii MMR génu. Screening MSI je vysoko senzitívny pre Lynchov syndróm. Viac ako 90 % CRC vykazuje u Lynchovho syndrómu vysokú hladinu MSI. V súčasnosti v laboratóriách štandardne využívané panely zachytávajúce viac dinukleotidové ako mononukleotidové repetície však nemusia v plnej miere zachytiť MSI u poruchy funkcie *MSH6* a *PMS2* génov, ktoré môžu prejavovať aj nižší stupeň MSI [14,15]. MSI-H status však nie je ako samostatný screeningový ukazovateľ dostatočný na detekciu Lynchovho syndrómu. U sporadických CRC s MSI-H ide o hypermetyláciu promótoru *MLH1* génu, ktorá vedie k strate *MLH1* funkcie a následne k MSI. Rozlíšenie sporadických a s Lynchovým syndrómom asociovaných MSI-H tumorov nám umožňuje jednak meranie stavu metylácie *MLH1* génu v nádorovom tkanive alebo jednoduchšou formou je genetická analýza *BRAF* onkogénu. Mutácia *BRAF* génu je veľmi zriedkavá u Lynchovho syndrómu, ale častá (40–87 %) u sporadickej formy. Jej identifikácia u CRC prakticky vylučuje Lynchov syndróm, jej neprítomnosť však nemá dostatočnú špecifitu na jeho potvrdenie. Zistenie prítomnosti hypermetylácie *MLH1* má obdobnú senzitivitu, špecifita je však o niečo vyššia.

Imunohistochemické vyšetrenie

Imunohistochemické vyšetrenie (IHC), realizované najčastejšie na patologickom oddelení, umožňuje detekovať stratu expresie niektorého z DNA reparačných proteínov v jadrách nádorových buniek. IHC génových produktov MMR génov môže byť využívaná v screeningovom protokole samostatne alebo spolu s vyšetrením MSI, ideálna je ich kombinácia vzhľadom na ich rozdielnú výpovednú hodnotu. Keďže MMR systém tvoria heterodiméry, strata expresie hlavného (obligátneho) proteínu (MLH1 alebo MLH2) je sprevádzaná sekundárnou degradáciou druhého proteínu v komplexe (*PMS2* alebo *MSH6*). IHC vyšetrenie pomocou protilátok proti

MMR proteínom umožňuje identifikáciu defektneho proteínu, pričom výsledky IHC analýzy môžu byť využité v mutačnej analýze relevantného génu.

Strata IHC expresie MLH1 a/alebo aj *PMS2* poukazuje na tumor s MSI fenotypom. Na rozlíšenie, či ide o kauzálnu mutáciu *MLH1* alebo častejšiu sporadickú formu CRC, slúži vyšetrenie mutácie V600E *BRAF* génu alebo prítomnosti hypermetylácie *MLH1* promótoru v nádorovom tkanive. V prípade negatívneho výsledku *BRAF* sa pokračuje v testovaní na zárodočnú mutáciu *MLH1*. Pri strate nukleárnej expresie *MSH2* a/alebo aj *MSH6* v nádorových bunkách je Lynchov syndróm vysoko pravdepodobný a odporúča sa pokračovať genetickým testovaním na zárodočné mutácie *MSH2* a ďalej na *MSH6*. Chýbajúca expresia *MSH2* proteínu môže byť spôsobená aj už spomínanou veľkou deléciou *EPCAM* génu. V týchto prípadoch (20–25 %) kauzálnu mutáciu *MSH2* nenachádzame, fenotypovým dopadom je však Lynchov syndróm. Pri izolovanej strate nukleárnej expresie *MSH6* sa testujú zárodočné mutácie génu *MSH6* a v ďalšom slede *MSH2* génu a pri izolovanej strate expresie *PMS2* sa testujú zárodočné mutácie *PMS2* a v ďalšom slede *MLH1* [14,15]. IHC vyšetrenie má práve u génov *MSH6* a *PMS2* svoj význam vzhľadom na možnosť, že MSI sa v screeningu u nich nemusí zachytiť. Screeningové vyšetrenie MSI a IHC je možné aj na adenomatóznych polypoch, pokiaľ nie je k dispozícii tkanivo zo zhubného nádoru. Treba však rátať s ich menšou výťažnosťou. Senzitivita vyšetrení sa zvyšuje u veľkých adenómov (> 1 cm) a adenómov s vysokým stupňom dysplázie.

Na definitívne potvrdenie diagnózy Lynchovho syndrómu je potrebná identifikácia kauzálnej mutácie MMR génu. Testovanie germinatívnych mutácií MMR génov je indikované v týchto prípadoch:

- pacienti s MSI-H nádorom po MSI/IHC screeningu,
- ak nie je možné screeningové testovanie nádorového tkaniva a je silné podozrenie na Lynchov syndróm (závažná rodinná a/alebo osobná anamnéza),
- prediktívne testovanie pokrvných príbuzných nositeľa známej mutácie MMR génu (schéma 1).

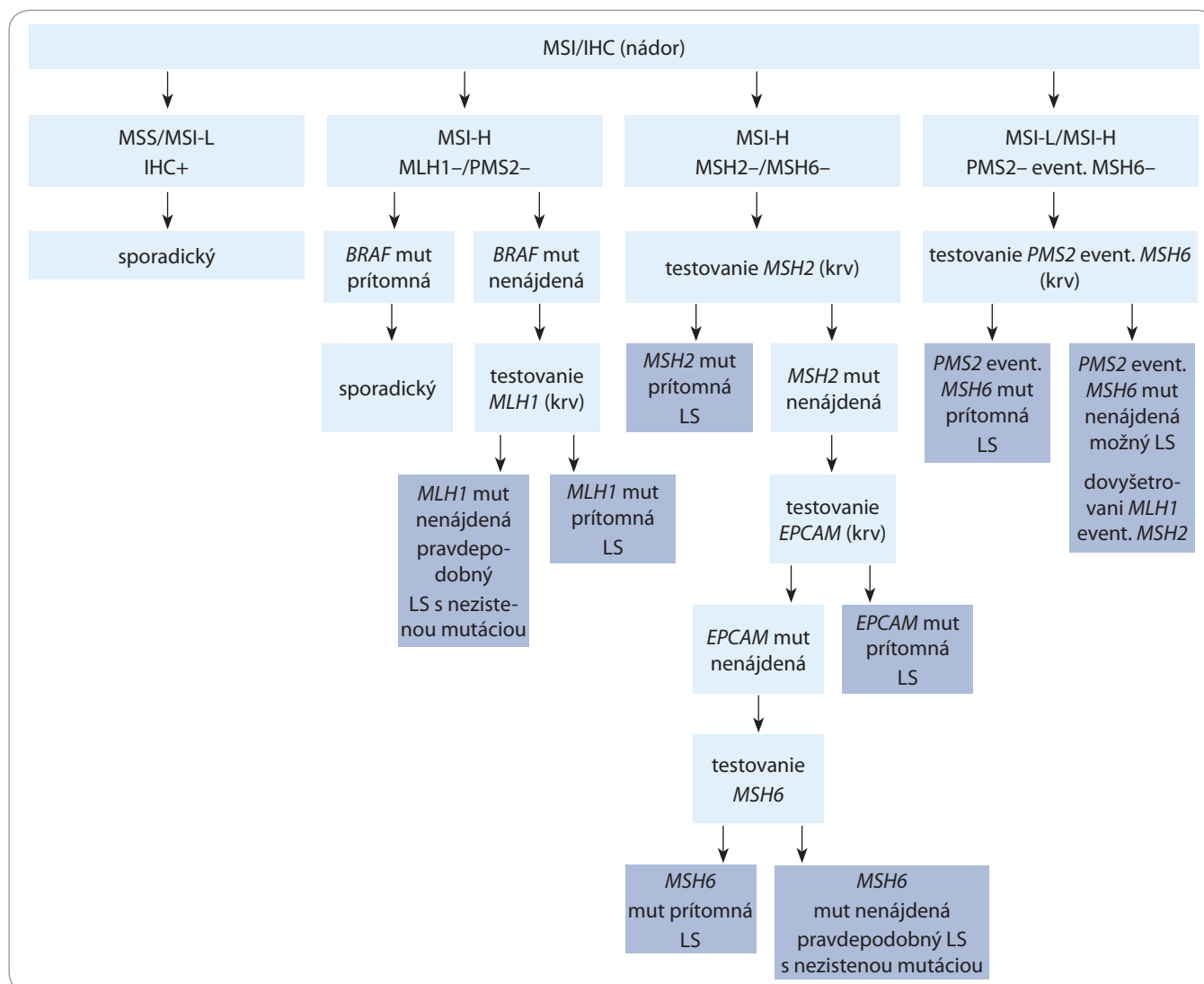


Schéma 1. Algoritmus testovania Lynchovho syndrómu.

LS – Lynchov syndróm, MSS – mikrosatelitová stabilita, MSI – mikrosatelitová instabilita, MSI-L – nízka MSI, MSI-H – vysoká MSI, IHC – imunochemické vyšetrenie, MLH1–, PMS2–, MSH2–, MSH6– – strata exprese nukleárneho proteínu génu, mut – patologická mutácia

3. Hypermetylačný fenotyp (CIMP+) – seratovaná alebo alternatívna cesta

Nové snahy o histologickú klasifikáciu hyperplastických/seratovaných polypov a nedávne objavenie alternatívnej seratovanej cesty kolorektálnej tumorigenézy výrazne zmenili pohľad na tieto lézie a rozbehli výskum v danej oblasti. Donedávna sa predpokladalo, že absolútna väčšina CRC vzniká z konvenčného adenómu tradičnou cestou naštartovanou iniciálnou mutáciou APC génu. Ukazuje sa však, že do 30 % zhubných nádorov kolorekta vzniká alternatívnou cestou. Proces tumorigenézy sa v tomto prípade vyvíja na podklade

epigenetickej alterácie (DNA hypermetylácia promótoru), čo môže viesť k poruche génovej exprese určitých génov. Hypermetylácia postihuje najčastejšie CpG dinukleotidy, nazývané aj CpG ostrovy, promótorovej oblasti určitých citlivých génov. Tento typ tumorov sa označuje ako CIMP+ (CpG island methylator phenotype) a najčastejšie býva sprevádzaný iniciálnou mutáciou *BRAF* onkogénu. Tumory vznikajúce takýmto mechanizmom môžu vykazovať MSI, ak sa epigenetický silencing týka MMR génu (*MLH1* génu) alebo sú bez MSI (napr. u génov *P16*, *MGMT* alebo *IGFBP7*). Najlepšie preskúmaným je silencing *MLH1* génu, ktorý

vedie k sporadickým CRC s MSI-H fenotypom. Iniciálna mutácia *BRAF* onkogénu podnecuje vývoj seratovaných lézií, ktorými sú najčastejšie mikrovesikulárne hyperplastické polypy alebo sesilné seratované polypy. Predovšetkým veľké polypy s pravostrannou lokalizáciou bývajú *BRAF* pozitívne, kým menšie polypy s prevažne s ľavostrannou lokalizáciou môžu byť asociované aj s *K-RAS* mutáciou. CRC vykazujúce CIMP+ majú prítomnosť *BRAF* alebo *K-RAS* mutácie zistenú v 90 % [16].

Seratovaný polypózny syndróm

Seratovaný polypózny syndróm (SPS), známy aj ako hyperplastický polypózny

syndróm, je zriedkavá klinická jednotka charakterizovaná tvorbou mnohopočetných seratovaných polypov a zvýšeným rizikom vzniku CRC. Tak ako FAP slúžila ako model na identifikáciu klasickej cesty kolorektálnej tumorigenézy zo sekvencie adenóm-karcinóm, SPS je vhodným ochorením na výskum klinických, patologických a molekulárnych prejavov alternatívnej cesty vývoja. Klinicky predstavuje heterogénnu skupinu fenotypov, vznikajúcich s najväčšou pravdepodobnosťou na rozdielnom genetickom podklade.

Podľa WHO na diagnózu SPS musí pacient spĺňať niektoré z troch kritérií:

1. viac ako päť seratovaných polypov proximálne od sigmy, z toho min. 2 > 10 mm,
2. akýkoľvek počet seratovaných polypov proximálne od sigmy a príbuzný I. stupne s SPS,
3. viac ako 20 seratovaných polypov akejkoľvek veľkosti v celom kolorekte.

Polypy u SPS bývajú vo väčšine prípadov veľké, ploché, proximálne lokalizované a často zle rozpoznateľné pri kolonoskopickom vyšetrení. Až 90 % pacientov s SPS má okrem seratovaných lézií zistenú prítomnosť aj tradičných adenómov, čo sa považuje za súčasť klinického obrazu. Priemerný vek manifestácie polypózy je 55 rokov, pričom familiárny výskyt je zaznamenaný až do 59 % prípadov [17,18]. U SPS sa uvažuje o monogénovej etiológii, kauzálna mutácia však doteraz zistená nebola. SPS tak ostáva jediným dedičným polypóznym syndrómom bez známej kauzálnej genetickej alterácie. Molekulárne štúdie dokazujú u týchto pacientov vysokú hladinu atypickej hypermetylácie rôznych génov (CIMP+) v kolorektálnych karcinómoch, ale aj polypoch. Vysoký stupeň DNA metylácie bol zistený dokonca aj v zdravej kolorektálnej mukóze mladých pacientov s SPS, čo je za normálnych okolností nález pozorovaný s rastúcim vekom. Vzniká tak predpoklad, že môže ísť o geneticky podmienenú poruchu epigenetickej kontroly a dedičnú predispozíciu k hypermetylácii, čo by sa dalo opísať aj ako geneticky naprogramované predčasné stárnutie kolorektálnej sliznice. Pacienti s klinickým nálezom spĺňajúcim kritériá SPS majú

päťnásobne vyššie riziko vývoja CRC, ako je bežne v populácii, a doporučuje sa u nich každoročná kolonoskopia. Tá sa doporučuje aj u ich I. stupne príbuzných od veku 40 rokov v päťročných intervaloch do objavenia sa polypov.

Frekvencia doporučeného kolonoskopického sledovania pacientov s menším počtom seratovaných lézií sa odvíja od lokalizácie, veľkosti, počtu a histologického typu zistených lézií v intervaloch od jedenkrát ročne do jedenkrát za 10 rokov [19].

Záverčné zhrnutie

CRC predstavuje ideálny model pre štúdium molekulárnej patogenézy solídnych nádorov z dôvodu ľahkého prístupu k biopsii tkaniva a jasnej progresie z normálneho kolonického epitelu do štádia invazívneho karcinómu cez prekursor-polyp. Viackrokový proces špecifických genetických zmien aktivuje transformáciu z normálneho kolonického epitelu na invazívny karcinóm. Jedna špecifická germinatívna mutácia sa môže podieľať na vývoji známych vrodených syndrómov (napr. FAP, Lynchov syndróm), kým sporadický kolorektálny karcinóm je výsledkom akumulácie postupných viacpočetných somatických mutácií. Mutácia APC génu sa vyskytuje najčastejšie ako včasný krok, kým mutácia *TP53* supresorového génu ako jedna z neskorých v tomto procese. Koncept MSI predstavuje ďalšiu z úrovní tohto modelu. MSI-H fenotyp je asociovaný s Lynchovým syndrómom, ale tiež je zistený aj u 10–15 % sporadických CRC. Podľa toho, o aký mechanizmus straty genomickej stability bunky ide, sú v súčasnosti vyšpecifikované tri molekulárne cesty kolorektálnej karcinogenézy: chromozómová instabilita, porucha funkcie MMR génov a CIMP+ (CpG island methylator phenotype). Bez ohľadu na typ molekulárnej cesty konečným výsledkom je vždy adenokarcinóm. Identifikácia špecifických genetických mutácií zodpovedných za kolorektálnu tumorigenézu má význam nielen na vytypovanie pacientov so zvýšeným rizikom vývoja CRC, ale aj ako prognostický marker, potenciálny terapeutický cieľ a vo vývoji sú aj metódy včasného záchytu CRC využitím detekcie iníciačných mutácií tumorigenézy v stolici pacienta.

Literatúra

1. eco.iarc.fr [homepage on the Internet]. WHO, International Agency for Research on Cancer; [updated 2012 Jun 26; cited 2015 Jun 15]. Available from: <http://www.eco.iarc.fr/eucan>.
2. nczi.sk [internetová stránka]. Národné centrum zdravotníckych informácií, Slovenská republika; [aktualizované 31. decembra 2008; citované 15. júna 2015]. Dostupné z: <http://www.nczi.sk>.
3. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colonic tumorigenesis. *Cell* 1990; 61(5): 759–767.
4. Takayama T, Ohi M, Hayashi T et al. Analysis of K-ras, APC, and beta-catenin in aberrant crypt foci in sporadic adenoma, cancer, and familial adenomatous polyposis. *Gastroenterology* 2001; 121(3): 599–611.
5. Zauber AG, Winawer SJ, O'Brien MJ et al. Colonoscopic polypectomy and long term prevention of colorectal cancer deaths. *N Engl J Med* 2012; 366(8): 687–696. doi: 10.1056/NEJMoa1100370.
6. Bienz M, Clevers H. Linking colorectal cancer to Wnt signaling. *Cell* 2000; 103(2): 311–320.
7. Russo A, Bazan V, Iacopetta B et al. The TP53 colorectal cancer international collaborative study on the prognostic and predictive significance of the p53 mutation. *J Clin Oncol* 2005; 23(30): 7518–7528.
8. Morán A, Ortega P, de Juan C et al. Differential colorectal carcinogenesis: molecular basis and clinical relevance. *World J Gastrointest Oncol* 2010; 2(3): 151–158. doi: 10.4251/wjgo.v2.i3.151.
9. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res* 1988; 58(22): 5248–5257.
10. Křepelová A, Pavlíková K, Plevová P. Diagnostika Lynchova syndromu – nové geny a metody. *Klin Onkol* 2006; 19 (Suppl): S76–S81.
11. Whitehall VL, Wals MD, Zoung J et al. Methylation of O-6-methylguanine DNA methyltransferase characterizes a subset of colorectal cancer with low-level DNA microsatellite instability. *Cancer Res* 2001; 61(3): 827–830.
12. Palomaki GE, McClain MR, Melillo S et al. EGAPP supplementary evidence review: DNA testing strategies aimed at reducing morbidity and mortality from Lynch syndrome. *Genet Med* 2009; 11(1): 42–65. doi: 10.1097/GIM.0b013e31818fa2db.
13. Kempers MJ, Kuiper RP, Ockeloen CW et al. Risk of colorectal and endometrial cancer in EPCAM deletion-positive Lynch syndrome: a cohort study. *Lancet Oncol* 2011; 12(1): 49–55. doi: 10.1016/S1470-2045(10)70265-5.
14. Weissman SM, Bellcross C, Bitter CC et al. Genetic counseling considerations in the evaluation of families for Lynch syndrome – a review. *J Genet Couns* 2011; 20(1): 5–19. doi: 10.1007/s10897-010-9325-x.
15. Goodenberg M, Lindor NM. Lynch syndrome and MYH-associated polyposis: review and testing strategy. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45(6): 488–500. doi: 10.1097/MCG.0b013e318206489c.
16. Guarinos C, Sánchez-Fortún C, Rodríguez-Soler M et al. Serrated polyposis syndrome: molecular, pathological and clinical aspects. *World J Gastroenterol* 2012; 18(20): 2452–2461. doi: 10.3748/wjg.v18.i20.2452.
17. Guarinos C, Sánchez-Fortún C, Rodríguez-Soler M et al. Clinical subtypes and molecular characteristics of serrated polyposis syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11(6): 705–711. doi: 10.1016/j.cgh.2012.12.045.
18. Leggett B, Whitehall V. Role of serrated pathway in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology* 2010; 138(6): 2088–2100. doi: 10.1053/j.gastro.2009.12.066.
19. Rex DK, Ahnen DJ, Baron JA et al. Serrated lesions of colorectum: review and recommendations from an expert panel. *Amer J Gastroenterol* 2012; 107(9): 1315–1329. doi: 10.1038/ajg.2012.161.

Syndromy predisponující k nádorům v dětském věku – zkušenosti Kliniky dětské onkologie FN Brno

Syndromes Predisposing to Cancer in Children – the Experience of Pediatric Oncology Department of University Hospital Brno

Bajčiová V.

Klinika dětské onkologie LF MU a FN Brno

Souhrn

V dětské populaci se vyskytuje široké spektrum hereditárních nádorových predispozičních syndromů. Časně genetické testování a diagnóza syndromu může pomoci v dispenzarizaci pacienta a zdravotní péči. Sekundární prevence a časná diagnostika nádoru zlepšuje prognózu pacienta a jeho celkové přežití. Centralizované sledování dětských pacientů s hereditárním predispozičním syndromem na pracovišti dětské onkologie nabízí pacientovi a jeho rodině komplexní multidisciplinární péči.

Klíčová slova

hereditární nádorové predispoziční syndromy – dysmorfie – dětské typy nádorů – genetické testování

Summary

There is a broad spectrum of hereditary cancer predisposition syndromes affecting pediatric population. Early genetic testing establishing the diagnosis may assist in patient dispensarisation and management. Secondary prevention and prompt diagnosis of cancer improves the prognosis and overall survival. A centralised dispensarisation of pediatric patients with hereditary cancer predisposition syndromes on pediatric oncology department offers complex multidisciplinary care to the patient and his family.

Key words

hereditary cancer predisposition syndromes – dysmorphology – pediatric cancer – genetic testing

Autorka deklaruje, že v souvislosti s předmětem studie nemá žádné komerční zájmy.

The author declares she has 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 recommendation for biomedical papers.



MUDr. Viera Bajčiová, CSc.

Klinika dětské onkologie

LF MU a FN Brno

Černopolní 9

625 00 Brno

e-mail: vbajciova@fnbrno.cz

Obdrženo/Submitted: 14. 7. 2015

Přijato/Accepted: 18. 8. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2016S62>

Úvod

V posledních letech prudce stoupají informace o příčinách a mechanismu vzniku nádorových onemocnění. Byly definovány molekulární základy mnoha hereditárních nemocí, které vedly k pochopení mechanismu hereditární predispozice ke vzniku nádoru.

Spektrum a typy nádorů u dětí a mladé generace dospívajících do 20 let věku se zásadně liší od nádorů dospělé a starší populace. Vyvolávající příčiny, stavy a změny vedoucí ke vzniku nádoru mohou být rozdílné od příčin známých z dospělé onkologie, ale molekulárně genetické mechanismy postupně proměny zdravé buňky v nádorovou jsou stejné v každém věku. Dětské typy nádorů mají jiné predispoziční syndromy a stavy asociované se vznikem nádoru ve srovnání s dospělou onkologií.

Správná a včasná diagnóza a poznání hereditární zátěže má význam nejen pro samotné dítě, ale i jeho rodinu. Genetické vyšetření a potvrzení hereditární zátěže u dítěte nese s sebou často celou řadu psychosociálních problémů v rodině – hněv, strach, karcinofobii, deprese, pocit hanby a méněcennosti, pocit ztráty kontroly, izolace a nezřídka pocit viny a obviňování rodičů vzájemně. Severoamerická Společnost klinické onkologie (ASCO) doporučuje genetické testování a vyšetření u dětí pod 15 let pouze v případech, kdy součástí hereditární zátěže jsou nádory vyskytující se v dětském věku a jsou doloženy strategie a postupy snižující riziko rozvoje tohoto nádoru při včasné odhalení genetického rizika. Pokud je syndrom spojen s nádorovým onemocněním projevujícím se až v dospělém a starším věku, je doporučeno genetické testování po 15. roku dítěte [1,2].

Příčiny vzniku nádorů u dětí

Nádory u dětí patří mezi vzácné nemoci, z celkového počtu zhoubných onemocnění v populaci tvoří pouze 1 %. V ČR je ročně diagnostikováno téměř 85 000 zhoubných onemocnění, ale z nich je pouze 350–380 dětí pod 15 let věku a přibližně stejný počet dospívajících do 20 let věku. Moderní dětská onkologie dnes dokáže vyléčit více než 85 % onkologicky nemocných dětí,

přesto jsou zhoubná onemocnění 2. nejčastější příčinou úmrtí u mladé generace do 20 let věku.

Nádorové onemocnění je komplexní, multifaktoriální a víceúrovňový proces. V dětské onkologii nemají faktory zevního prostředí zásadní význam. Na vzniku nádoru, především u malého dítěte do pěti let věku, se podílejí pouze nepřímo (životní styl rodičů, kouření v rodině, stravovací návyky rodičů, hygienický standard rodiny, stres, pracovní zátěž).

Výskyt dětských typů nádorů je většinou **sporadický (80 %)**, nádory se vyskytnou náhodně bez známé příčiny či identifikace rizikového faktoru. Častější výskyt nádorů u dětí je pozorován u různých vrozených vývojových vad (kardiovaskulárních, urogenitálních, skeletálních). Kumulativní riziko vzniku nádoru roste s věkem. Děti s vrozenou non-chromozomální vývojovou vadou mají až dvojnásobně vyšší riziko vzniku nádoru před dosažením 15 let věku. Největší riziko vzniku nádoru je u vrozených vad urogenitálního systému, mikrocefalií a parciálního, tzv. overgrowth syndromu (hemihypertrofie). U těchto dětí je vyšší riziko tzv. embryonálních typů nádorů (hepatoblastom, nefroblastom, neuroblastom). Biologicky tyto nádory mohou představovat konečnou změnu v poruše naprogramovaného procesu organogeneze v průběhu embryonálního života [3,4].

Hereditárně podmíněné nádory tvoří asi 5–10 % nádorů dospělého věku. U dětí lze předpokládat, že hereditární zátěž je vyšší a může být příčinou 15–29 % zhoubných nádorů dětského věku [5].

Podezření na hereditárně podmíněný nádor lze vyslovit na základě vyšetření:

a) *individuálního pacienta* (vícečetné primární nádory, bilaterální nádory v párových orgánech, výskyt vzácného (dospělého) typu nádoru v dětském věku, výskyt velmi vzácného typu nádoru, výskyt nádoru s projevy typickými pro určitý syndrom, výskyt nádoru asociovaného s jinou vzácnou nemocí, nádor asociovaný s vrozenou vývojovou abnormalitou nebo kongenitálním defektem nebo přítomnost dysmorfie);

b) *rodiny* (stejný typ nádoru u příbuzného 1. linie, dva a více příbuzných 1. linie s nádorem stejné lokalizace, známý familiární nádorový syndrom, dva a více příbuzných 2. linie ve stejné lokalizaci, dva a více příbuzných 1. linie se vzácným typem nádoru).

Na základě objevení predispozičních genů pro různé dědičné nádorové syndromy je možné předcházet vzniku nádorů mnohem účinněji než dříve a začít se specializovanou prevencí již v mladém věku, u mnohých syndromů již od dětství. Identifikace dědičné predispozice k nádorům je důležitou součástí cílené onkologické prevence v populaci [6,7].

Familiární výskyt nádorů je spojen se zvýšeným výskytem maligních onemocnění v rodině, kde genetickým vyšetřením není zjištěna žádná kauzální germinální mutace. Familiární výskyt může být způsoben blíže neurčenou interakcí gen-prostředí, nízké penetrujícími geny nebo kombinací více mechanismů. Je popsán u 10–15 % onkologických pacientů dospělého věku a u méně než 10 % dětských typů nádorů [8,9].

Hereditárních nádorových predispozičních syndromů je dosud popsáno kolem 200. Většinou jsou vzácné, s autozomálně dominantním přenosem. Spektrum dědičných nádorových syndromů vedoucích ke vzniku nádoru v dětském věku je poněkud odlišné než v onkologii dospělého věku. Například syndrom familiární adenomatózní polypózy, který u dospělých vede k časnému rozvoji kolorektálního karcinomu, může být příčinou rozvoje hepatoblastomu již v časném věku do tří let. Riziko karcinomu střeva se zvyšuje v období dospívání [10,11].

Kdy myslet na možnost nádorového predispozičního syndromu

Na možnou účast genetické příčiny onemocnění je nutné myslet prakticky u každého dítěte s maligním nádorem. V běžné praxi mohou lékaři pomoci tzv. varovná znamení, zjištěná rodinnou anamnézou, klinickým vyšetřením a vzezřením dítěte, hodnocením jeho psychomotorického vývoje, případně laboratorním vyšetřením [12].

Tab. 1. Přehled nejčastějších predispozičních nádorových syndromů v dětském věku.

Syndrom	Gen	Prevalence	Klinické znaky	Asociované nádory
NF1	<i>NF1, AD</i>	1 : 3 000	café-au-lait, neurofibromy, Lischovy noduly	gliomy optiku, nádory CNS, sarkomy, NETs, leukemie
TSC	<i>TSC1, TSC2, AD</i>	1 : 5 800	typické kožní změny, hamartomy, angiomyolipomy ledvin, jater	tumory CNS, RCC, HCC
FAP (Gardnerův)	<i>APC, AD</i>	1 : 5–7 000	bolesti břicha, krev a hlen ve stolici, osteomy čelisti	CRC, HBL, desmoidy, sarkomy, papil. karcinom štítné žlázy
Wiedemann-Beckwithův	<i>IGF2</i>	1 : 13 700	makroglosie, nadměrný vzrůst, omfalokéla, visceromegalie	Wilmsův nádor, HBL, NBL
hereditární retinoblastom	<i>RB1</i>	1 : 20 000	nemají specifické klinické znaky	RBL, OS, STS, tumory mozku, MM
Von Hippel-Lindau	<i>VHL, AD</i>	1 : 35–40 000	hemangioblastomy retiny	NETs, RCC, feochromocytom
NF2	<i>NF2, AD</i>	1 : 33–40 000	hamartomy sítnice, neurofibrom, tinnitus, poruchy až ztráta sluchu	benigní a maligní nádory CNS a periferních nervů
Li-Fraumeni	<i>TP53, AD</i>	1 : 50 000	nemají specifické klinické znaky, pozitivní rodinná anamnéza	karcinom prsu, mozku, plic, MM, ACC, CRC, sarkomy, ALL
Nijmegen breakage	<i>NBS1</i>	1 : 70 000	mikrocefalie, typická ptačí tvář, imunodeficit, retardace růstu	leukemie, lymfomy, MBL, neuroblastom
Xeroderma pigmentosum	<i>XPD, XPA, AR</i>	1 : 70 000	hyperpigmentace kůže a spojivek, fotosenzitivita	BCC, SCC, MM, leukemie, sarkomy
Gorlinův	<i>PTCH, AD</i>	1 : 50–100 000	makrocefalie, vysoký vzrůst, malformace žebér, mentální subnorma	BCC, tumory CNS, fibromy srdce, čelistní cysty
WAGR	<i>WT1</i>	1 : 500 000	aniridie, mentální a růstová retardace, anomálie genitálu	Wilmsův tumor
familiární melanom	<i>CDKN2A, CDK4, AD</i>		mnohočetné dysplastické névy bez klinických znaků, pozitivní rodinná anamnéza	MM, nádory pankreatu a prsu
Bloomův	<i>BLM, AR</i>	neznámá, častější u aškenázkých Židů	malý vzrůst, motýlovitá vyrážka, diabetes hypo IgM, fotosenzitivita	ALL, lymfomy, karcinom prsu, plic, kůže

NF1 – neurofibromatóza typ I, NF2 – neurofibromatóza typ II, TSC – komplex tuberózní sklerózy, FAP – familiární adenomatózní polypóza, WAGR – Wilms, aniridie, růstová a psychomotorická retardace, AD – autozomálně dominantní přenos, AR – autozomálně recesivní přenos, ACC – adrenokortikální karcinom, CRC – kolorektální karcinom, RMS – rhabdomyosarkom, MM – maligní melanom, RCC – renální karcinom, HCC – hepatocelulární karcinom, MBL – meduloblastom, BCC – basocelulární karcinom kůže, SCC – spinocelulární karcinom, NETs – neuroendokrinní nádory, OS – osteosarkom, STS – sarkomy měkkých tkání, RBL – retinoblastom, ALL – akutní lymfoblastická leukemie, HBL – hepatoblastom, NBL – neuroblastom

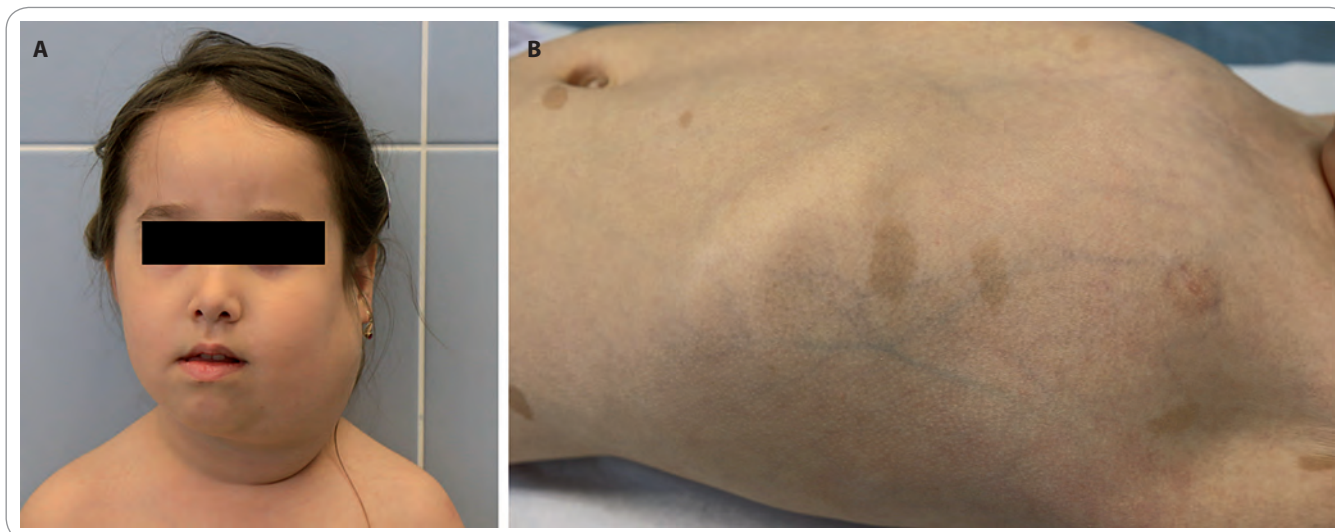
První, kdo detekují příznaky a možné znaky dysmorfizmu, které mohou být projevy a součástí různých genetických syndromů, jsou obvykle pediatrii primárního kontaktu. Hereditárních genetických syndromů je celá řada, ale ne všechny jsou asociovány se zvýšeným výskytem onkologických onemocnění v dětském věku. Ty, které jsou asociovány se zvýšeným výskytem jistých typů nádorů, splňují kritéria genetických nádorových predispozičních syndromů. Jejich rozpoznání může být někdy proble-

matické, protože projevy nemusí být vždy plně vyjádřeny a mohou se v různých obměnách objevit i u jiných členů rodiny [13,14].

Různé **projevy dysmorfizmu** typické pro danou genetickou změnu a specifický predispoziční syndrom jsou u dítěte často jeho jediným klinickým projevem. Při hodnocení dysmorfických znaků (tj. abnormálních tělesných známek) u dětí je nutno hodnotit růst (gigantismus nebo naopak snížený růst, proporcionality těla), obvod hlavy

(mikro- nebo makrocefalie), čelo (prominence, šikmost), oči (vzdálenost a tvar očních štěrbin, epikantus, aniridie), tvar nosu, uši (tvar, pozici, velikost), ústa, skus, patro, krk a trup (tvar, symetrie, zadní vlasová hranice), genitál dle věku, končetiny (kostní abnormality, proporce velikosti vzhledem k trupu), prsty (polydaktylie, syndaktylie), kůži (café-au-lait, pigmentová znaménka, fibromy, změny pigmentace) [12].

Při nálezu dysmorfie a vyjádření podezření na genetický predispoziční syn-



Obr. 1. Neurofibromatóza typ I. A. plexiformní neurofibrom krku; B. café-au-lait na kůži.

drom je odeslán pacient s rodiči na genetické vyšetření, kde proběhne anamnestické pátrání v rodinné anamnéze (nevyhnutelné jsou údaje o nádorových onemocněních v linii obou rodičů nejméně tří generací). Důležitým údajem je rovněž věk při výskytu nádoru a typy nádorů. Na základě všech údajů lze potvrdit pravděpodobnost určitého dědičného nádorového syndromu a genetika indikuje genetické testování predispozičních genů [15,16]. Při potvrzení predispozičního nádorového syndromu by měla být u dětského pacienta zajištěna dispenzarizace na pracovišti dětské onkologie.

Přehled nejčastějších nádorových predispozičních syndromů u dětí

Potvrzení přítomnosti specifické germinální mutace u pacienta, případně rodinných příslušníků je důkazem genetického nádorového predispozičního syndromu. Mutace může být zděděná od jednoho z rodičů, nebo může vzniknout u pacienta *de novo*. Rodina je informována o rizicích rozvoje nádorů vázaných na příslušný syndrom, je navržen plán dispenzárních vyšetření dle míry rizika konkrétních typů nádorů v dětském věku [15].

Seznam nejčastějších genetických predispozičních syndromů s rizikem vzniku nádoru v dětském věku je uveden v tab. 1.

Beckwith-Wiedemannův syndrom

Incidence 1 : 13 700, až 85 % případů je sporadických, pouze 15 % je familiárních. Příčinou jsou různé genetické alterace v oblasti chromozomu 11p15.5. Typickými klinickými projevy je nadměrný vzrůst, makroglosie, organomegalie, umbilikální hernie, novorozenecká hypoglykemie. Vázán je s rizikem vzniku nádoru ledviny (Wilmsův nádor), hepatoblastomu, neuroblastomu, ale i adrenokortikálního karcinomu, rhabdoidního nádoru či rhabdomyosarkomu. Jedná se především o embryonální typy nádorů s vrcholem výskytu do 3–5 let. V sekundární prevenci nádoru je doporučena ultrasonografie břicha každé tři měsíce do šesti let věku [17].

Neurofibromatóza typ I

Incidence 1 : 3 500, jedná se autozomálně dominantní dědičnost mutace tumor supresorového genu *NF1* (17q11.2). Typickým klinickým projevem jsou café-au-lait skvrny na kůži (počet > 6 s rozměrem > 5 mm), axilární pihy, vícečetné kožní neurofibromy, hamartomy duhovky, kostní anomálie, někdy lehká mentální retardace. Neurofibromatóza typu I (NF1) je asociována se zvýšeným rizikem vzniku především nádorů CNS (gliomy optiku, hamartomy mozku, astrocytomy, plexiformní neurofibromy, ependymomy) ve věku pod 10 let, ve věku dospívání je riziko roz-

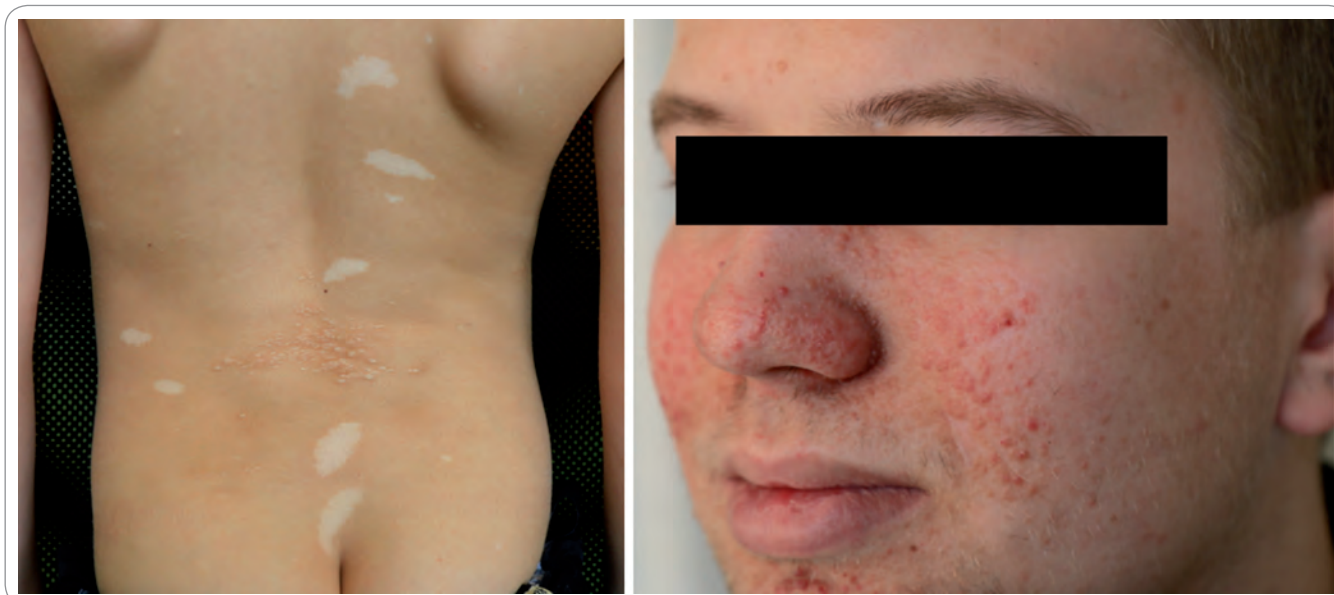
voje fibrosarkomů, endokrinních nádorů a leukemií. Pacienti vyžadují komplexní multidisciplinární sledování (oční, neurologické, evokované potenciály zrakové i sluchové, MRI mozku) (obr. 1) [18,19].

Komplex tuberózní sklerózy

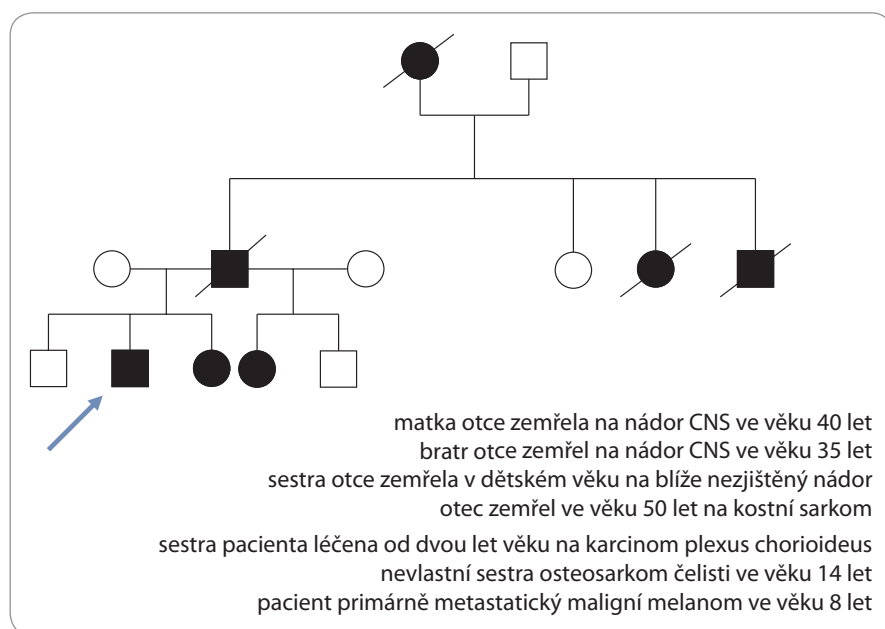
Komplex tuberózní sklerózy (TSC) je autozomálně dominantně dědičný syndrom s incidencí 1 : 5 800. Většinou se jedná o *de novo* mutaci genu *TSC1* (lokus 9q34) nebo *TSC2* (lokus 16p13). Projevu se tvorbou hamartomů prakticky v kterémkoli orgánu (kůže, mozek, ledviny, srdce). Typické jsou faciální angiofibromy, depigmentace kůže, fibrózní plakety a sítnicové hamartomy (obr. 2). U novorozenců jsou prvním příznakem tuberózní sklerózy vícečetné rhabdomyomy srdce, které většinou spontánně regredují. Indikací k operaci je pouze symptomatický rhabdomyom srdce (arytmie, obstrukční příznaky, poruchy kontraktility). Mezi další projevy patří tvorba častých angiomyolipomů jater a ledvin nebo drobné cysty ledvin. U dospívajících se může projevit velkobuněčný subependymální astrocytom. Je zvýšené riziko vzniku karcinomu ledviny [18].

Li-Fraumeni syndrom

Incidence je 1 : 50 000 s autozomálně dominantním typem dědičnosti. Dispozice se dědí cestou alely tumor supresorového genu *TP53* s bodovou mutací



Obr. 2. Kožní postižení u tuberózní sklerózy.



Obr. 3. Genetické vyšetření rodiny s Li-Fraumeni syndromem.

(17p13). Nositelé mutace *TP53* nemají specifické klinické změny vizáže, typická je rodinná anamnéza. U Li-Fraumeni syndromu je vysoké riziko vzniku širokého spektra nádorů (v dětském věku především sarkomů kostí a měkkých tkání, nádorů mozku – vzácného karcinomu chorioidálního plexu, kožního maligního melanomu). V dospívajícím a mladém dospělém věku hrozí rozvoj karcinomu prsu, leukemie a různých typů karcinomů (obr. 3) [17,19].

Nijmegen-breakage syndrom

Nijmegen-breakage syndrom je způsoben mutací *NBS1* genu s incidencí 1 : 70 000, častější je ve střední a východní Evropě u slovanské populace (Polsko, Čechy, Slovensko, Ukrajina, Rusko). Jedná se o autozomálně recesivní syndrom poruchy opravních (repair) genů. V klinice dominuje především mikrocefalie zvyrazňující se s věkem, faciální dysmorfismus (typická tzv. ptačí tvář „tukana“ s ustupujícím čelem, pro-

minujícím nosem a mikrogncií), růstová retardace, ovariální selhání u dívek, radiosenzitivita a poruchy imunity. Intelekt je obvykle normální nebo lehká subnorma. Hrozí riziko vzniku především hematologických malignit (Hodgkinův lymfom, non-Hodgkinovy lymfomy, leukemie), obvykle po 10. roku věku (obr. 4) [18].

Syndrom familiární adenomatózní polypózy

Syndrom familiární adenomatózní polypózy (FAP) je poměrně častý s incidencí 1 : 5 000–7 500. Dědičnost je autozomálně dominantní, příčinou je mutace genu *APC* (lokus 5q21–22) s tvorbou množství (stovek až tisíců) adenomatózních polypů tlustého střeva a rekta již od věku kolem 10 let. Hrozí vysoké riziko maligního zvratu a karcinom střeva již v dětském a adolescentním věku. Endoskopické vyšetření střeva a kolonoskopie se provádějí 1krát ročně od věku 10–12 let, často je v prevenci rozvoje karcinomu nutná totální kolektomie před 20. rokem věku. Genetické vyšetření dětí v rodině s potvrzenou mutací *APC* genu se v současnosti posouvá do nejnížší věkové skupiny pro zvýšené riziko vzniku embryonálního nádoru jater – hepatoblastomu (10–15 % dětí s hepatoblastomem má potvrzenou mutaci *APC* genu) nebo dědičného hepatocelulárního karcinomu ve věku do 15 let. Sou-

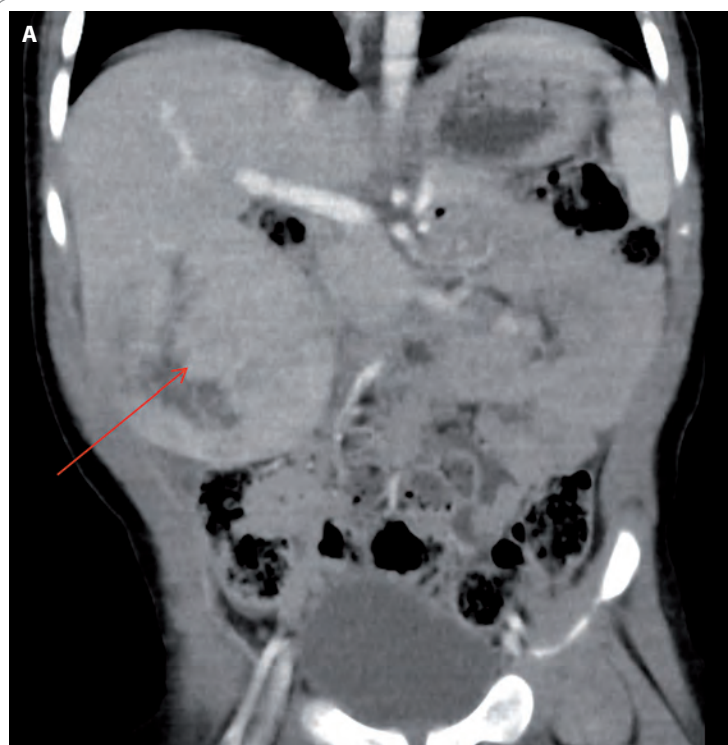


částí syndromu jsou často osteomy čelisti, zubní abnormality nebo desmoidy (obr. 5) [7,18,19]. V současnosti u dětí s potvrzenou mutací APC genu a nálezem mnohočetných polypů a tubulárních střevních adenomů lze použít chemoprevenci vzniku karcinomu střeva, oddálit maligní transformaci, snížit novotvorbu dalších polypů a oddálit tak provedení totální kolektomie do staršího věku podáváním cox-2 inhibitorů (celecoxib) [20,21].

Syndrom konstitučního deficitu MMR systému

Bialelické mutace v MMR genech (především *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*) mohou způsobovat syndrom konstitučního deficitu MMR systému (CMMR-D). Je charakterizován velmi časným výskytem nádoru tlustého střeva, již ve druhé dekádě života (hereditary non-polyposis colorectal cancer – HNPCC), hematologických malignit (lymfomy a leukemie), nádorů mozku (astrocytomy a glioblastomy) a kožními příznaky NF1 (café-au-lait). První nádorová onemocnění, leukemie a nádory

◀ Obr. 4. Nijmegen-breakage syndrom.



Obr. 5. Familiární adenomatózní polypóza. A. obraz hepatoblastomu u chlapce ve věku 16 měsíců; B. osteom čelisti u dívky, věk 10 let.



Obr. 6. Gorlinův syndrom. Anomálie žebí bilat.; vpravo vidlicovitě rozdělené 2., 3. a 5. žebro, vlevo 3. a 4. žebro.

mozku se mohou objevit již od dvou let věku. V mladém dospělém věku se rovněž vyskytuje endometriální karcinom a nádory močových cest. Téměř u 40 % pacientů s CMMR-D se vyvine meta-chronní sekundární malignita [22,23].

Von Hippel-Lindau syndrom

Incidence 1 : 35 000 s autozomálně dominantní dědičností mutace genu *VHL* (lokus 3p25). Typické jsou hemangio-blastomy v retině, mozečku, mozko-vém kmeni a míše už v dětském věku. Z nádorů jsou časté neuroendokrinní nádory, feochromocytom/paragan-gliom, v dospělém věku je zvýšené riziko vzniku karcinomu ledviny. Komplexní preventivní péče musí být zahájena už v dětském věku pro nízký věk výskytu nádorů [17,18].

Gorlinův syndrom

Gorlinův syndrom je podmíněn auto-zomálně dominantním přenosem mu-

tace *PTCH* genu (lokus 9q22.3). Je spojen především s rozvojem meduloblastomu u malých dětí do dvou let věku, basocelulárním karcinomem kůže do 10 let věku. Typické jsou dysmorfické znaky – makrocefalie, prominující čelo, hypertelorizmus, vysoký vzrůst, malformace žebí (vidlicovitá žebra) a páteře, odontogenní cysty, mentální subnorma (obr. 6) [18].

Syndrom familiárního melanomu

Tento syndrom je způsoben autozo-málně dominantním přenosem mutace v genu *CDKN2A*, vzácněji v *CDK4* nebo *MC1R*. Na kůži jsou obvykle desítky dysplastických pigmentových névů. Nosiči mutace *CDKN2A* mají celoživotní riziko vzniku melanomu v 60–92 %, kromě toho mají zvýšené riziko vzniku dalších typů nádorů (astrocytom mozku, nádory slinivky). Mutace *CDKN2A* by měla být vyšetřena u všech pacientů

s maligním melanomem v dětském věku [18].

Noonanové syndrom

S incidencí 1 : 1 000–2 500 je Noonanové syndrom způsoben autozomálně dominantní mutací *PTPN11* genu na chromozomu 12. V posledních letech se u části pacientů s Noonanovým syndromem prokázala mutace *KRAS* genu, zařazuje se tedy mezi tzv. rasopatie. Pro děti je typický nízký vzrůst, vrozené srdeční vady (pulmonální stenóza) a typické dysmorfické rysy – hypertelorizmus, ptóza víček, nížce posazené uši, deformity hrudníku (pectus carinatum), svalová hypotonie a různé stupně mentálního deficitu. Pacienti mají rovněž poruchy srážlivosti krve a jsou ohroženi vznikem hematologických malignit, u dětí převážně akutní leukemií, myelodysplastickým syndromem, případně rozvojem juvenilní myelomonocytární leukemií.

Soubor pacientů Kliniky dětské onkologie s predispozičními nádorovými syndromy

Na Klinice dětské onkologie FN Brno dispenzarizujeme děti s nádorovými predispozičními syndromy od roku 2009. Za toto relativně krátké časové období sledujeme 33 genetických nádorových predispozičních syndromů u 157 dětí (tab. 2). Zastoupení dle pohlaví bylo bez predominance (počet chlapců 81, počet dívek 76, poměr chlapců a dívek je 1 : 1,06), věk v čase zahájení dispenzarizace byl různý dle typu syndromu a klinických potíží (od novorozeneckého věku po 18 let). V časovém sledu je jednoznačně vidět stoupající počet dispenzarizovaných hereditárních predispozičních syndromů (graf 1).

Z celkového počtu 157 dětí bylo odesláno na ambulanci dětské onkologie primárně s diagnózou nádoru 73 pacientů (46 %), u kterých byl až následně diagnostikován predispoziční nádorový syndrom. V posledních 2–3 letech se zvyšuje počet pacientů odeslaných k dispenzarizaci na základě pozitivní rodinné anamnézy, typických známek dysmorfizmu nebo potvrzené germinální mutace ještě před rozvojem zhoubného onemocnění. Ze sledovaného souboru pacientů zemřelo 11 dětí (7 %). Jedna

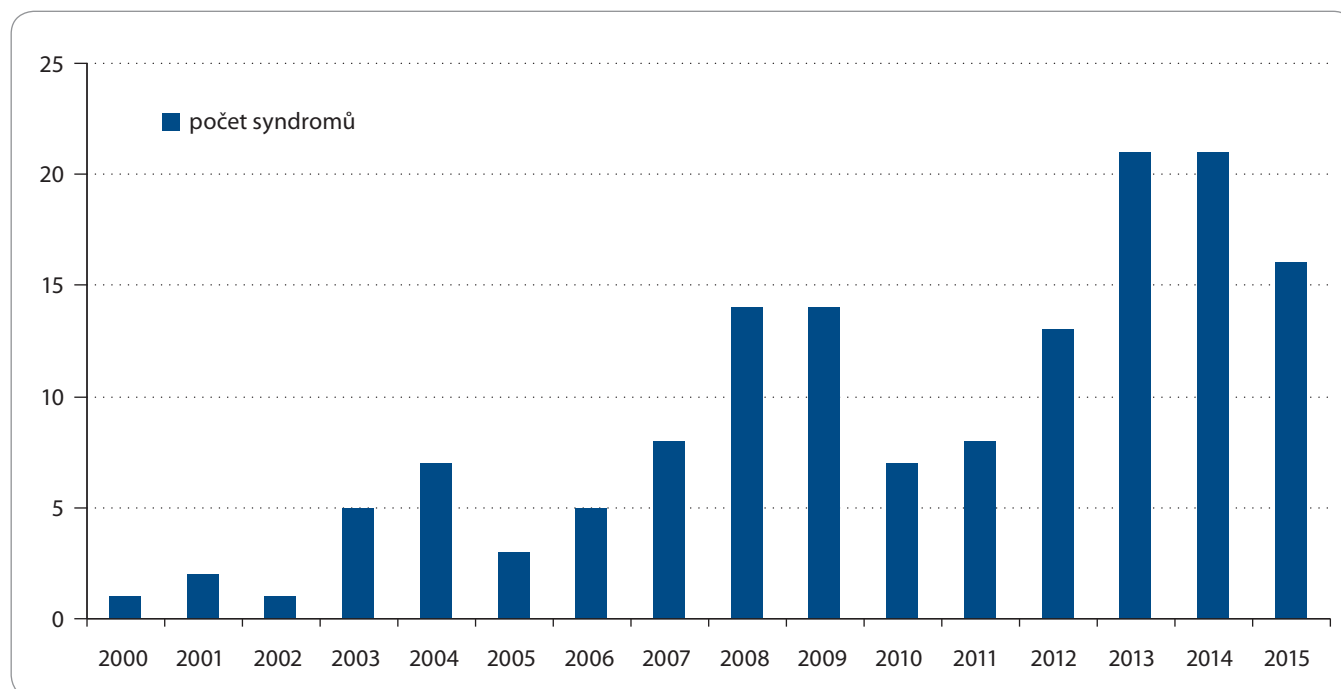
Tab. 2. Nejčastější sledované genetické syndromy na Klinice dětské onkologie FN Brno.

Syndrom	Absolutní počet	%	Průměrný věk
NF1	44	28	1–14 let, medián 5 let
TSC	16	10	1–17 let, medián 2 roky
FAP	16	10	6–18 let, medián 12 let
hereditární retinoblastom	12	8	0–3 roky, medián 6 měsíců
gonadální dysgeneze	8	5	6–18 let, medián 16 let
Nijmegen-breakage	4	3	1–14 let, medián 13 let
Von Hippel-Lindau	4	3	2–13 let, medián 4 roky
Wiedemann-Beckwithův	4	3	1–2 roky, medián 1 rok
NF2	3	2	15–21 let, medián 15 let
Gorlinův	3	2	2–7 let, medián 7 let
Li-Fraumeni	3	2	8–15 let, medián 15 let
Noonanové	3	2	0–8 let, medián 6 let
Xeroderma pigmentosum	3	2	6–15 let, medián 8 let
BRCA1 mutace	2	1	14 měsíců až 15 let, medián 15 let

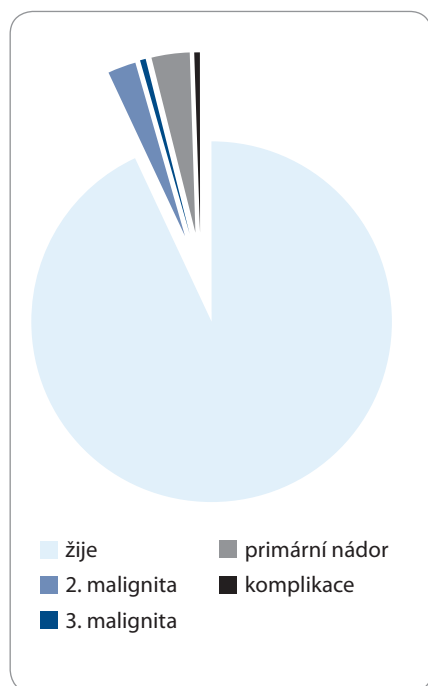
NF1 – neurofibromatóza typ I, NF2 – neurofibromatóza typ II, TSC – komplex tuberozní sklerózy, FAP – familiární adenomatozní polypóza

pacientka s neurofibromatózou typu I zemřela na terciární malignitu, čtyři pacienti zemřeli na sekundární malignitu – dvě adolescentní dívky s čistou

formou gonadální dysgeneze (Swyerův syndrom) zemřely na sekundární akutní myeloidní leukemii, jeden chlapec s hereditárním retinoblastomem zemřel na



Graf 1. Počet nově dispenzarizovaných nádorových syndromů na Klinice dětské onkologie FN Brno od roku 01/2000 do 06/2015.



Graf 2. Příčiny exitů u pacientů s hereditárním predispozičním syndromem a nádorem.

sekundární osteosarkom sedm let od diagnózy retinoblastomu a jedna dívka s Nijmegen-breakage syndromem zemřela na sekundární non-Hodgkinův lymfom. Jedna dívka s Mafucciho syndromem zemřela ve věku 21 let na komplikaci – hemoragický šok při krvácení do břicha při ruptuře jaterního hemangiomu. Ostatních pět pacientů zemřelo na maligní nádor v souvislosti se svou genetickou zátěží (graf 2).

Závěr

Hereditární nádorové predispoziční syndromy se v posledních letech stávají novým problémem na poli dětské onkologie, což prokazuje i vlastní soubor pacientů s těmito syndromy. Význam této problematiky dokumentuje fakt, že v roce 2012 na pravidelném setkání ASPHO (American Society of Pediatric Hematology/Oncology) byl organizován workshop věnovaný predispozičním nádorovým syndromům v dětském věku [1].

Dle výsledků analýzy našeho souboru pacientů s hereditární zátěží je téměř u poloviny pacientů predispoziční syndrom nepoznáán a na onkologii se ocitnou až s diagnózou zhoubného nádoru.

Dalším problémem je fakt, že i v případě již diagnostikovaného predispozičního syndromu je dětský pacient často sledován u jiného specialisty (např. neurolog, oční lékař, kožní lékař, ortoped, kardiolog atd.), který ovšem málokdy sleduje dítě komplexně z hlediska možného rozvoje nádoru a sleduje pacienta pouze z hlediska své odbornosti.

Klíčovou roli v rozpoznání prvních známek možného genetického predispozičního nádorového syndromu hraje pediatr primárního kontaktu, který nejlépe zná dítě i jeho rodinu.

Ten by měl při potvrzení hereditárního predispozičního syndromu odeslat pacienta k dispenzarizaci na specializované pracoviště dětské onkologie. Dětský onkolog vypracuje plán a časový rozvrh dispenzárních prohlídek, organizuje nejenom zobrazovací vyšetření v doporučených časových intervalech, ale i konziliární a laboratorní vyšetření dle individuální míry rizika a typu syndromu.

Časná identifikace predispozičního syndromu znamená adekvátní genetické poradenství pro rodinu, účinnou sekundární nádorovou prevenci, časnější zachyt nádoru u pacienta a zahájení efektivní onkologické léčby. Je prokázáno, že potvrzení genetického predispozičního nádorového syndromu u dětí s následnou dispenzarizací na onkologii vede ke snížení morbidity a mortality na zhoubné nádory u dětí a dospívajících [12,19].

Literatura

- Schiffman JD, Keller JL, Jundy E et al. Update on pediatric cancer predisposition syndromes. *Pediatr Blood Cancer* 2013; 60(8): 1247–1252. doi: 10.1002/pbc.24555.
- American Society of Clinical Oncology. American Society of Clinical Oncology policy statement update: genetic testing for cancer susceptibility. *J Clin Oncol* 2003; 21(12): 2397–2406.
- Bjorge T, Cnattingius S, Lie RT et al. Cancer risk in children with birth defects and their families: a population based cohort study of 5.2 million children from Norway and Sweden. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17(3): 500–506. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-07-2630.

- Botto LD, Flood T, Little J et al. Cancer risk in children and adolescents with birth defects: a population-based cohort study. *PLoS One* 2013; 8(7): e69077. doi: 10.1371/journal.pone.0069077.
- Testa JR, Malkin D, Schiffman JD. Connecting molecular pathways to hereditary cancer risk syndromes. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2013; 81–90. doi: 10.1200/EdBook_AM.2013.33.81.
- Foretová L. Hereditární malignity si zaslouží víc pozornosti než dosud. Kongresová review. XXXIX. brněnské onkologické dny a XXIX. konference pro nelékařské zdravotnické pracovníky, 8.–10. 4. 2015, Brno.
- Závodná K, Milly M, Vavrová L et al. Dědičné nádorové syndromy. *Onkolog* 2015; 10(2): 84–89.
- Frank C, Fallad M, Sundquist J et al. Population landscape of familial cancer. *Sci Rep* 2015; 5: 12891. doi: 10.1038/srep12891.
- Clarke AJ, Gaff C. Challenges in the genetic testing of children for familial cancer. *Arch Dis Child* 2008; 93(11): 911–914. doi: 10.1136/adc.2006.113381.
- Malkin D, Nichols KE, Zellel K et al. Predisposition to pediatric and hematologic cancer: a moving target. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2014; e44–e55. doi: 10.14694/EdBook_AM.2014.34.e44.
- Quinn E, McGee R, Nuccie R et al. Genetic predisposition to neonatal tumors. *Curr Pediatr Reviews* 2015; 11(3): 164–178.
- Škvor J, Průhová Š. Základy klinické genetiky pro klinickou praxi. *Genetika v primární péči*: 5–6. Mladá fronta 2014.
- Papakasama S, Tomlinson GE. Genetic predisposition and screening in pediatric cancer. *Pediatr Clin North Am* 2002; 49(6): 1393–1413.
- Rao A, Rothman J, Nichols KE. Genetic testing and tumor surveillance for children with cancer predisposition syndromes. *Curr Opin Pediatr* 2008; 20(1): 1–7. doi: 10.1097/MOP.0b013e3282f4249a.
- Foretová L, Petráková K. Dispenzarizace dědičných nádorových syndromů. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl): S6–S77.
- Ilenčíková D, Amidová O, Konečný M et al. Genetická konzultace jako součást genetického vyšetření. *Onkolog* 2015; 10(2): 74–76.
- Teplick A, Kowalski M, Biegel JA et al. Screening in cancer predisposition syndromes: guidelines for the general pediatricians. *Eur J Pediatr* 2011; 170(3): 285–294. doi: 10.1007/s00431-010-1377-2.
- Foretová L, Macháčková E, Gaillyová R et al. Hereditární nádorová onemocnění. In: Foretová L, Svoboda M, Slabý O et al (eds). *Molekulární genetik v onkologii*. Praha: Mladá fronta 2014: 116–155.
- Field M, Shanley S, Kirk J. Inherited cancer susceptibility syndromes in paediatric practice. *J Pediatr Child Health* 2007; 4(4): 219–229.
- Lang M, Gasche C. Chemoprevention of colorectal cancer. *Dig Dis* 2015; 33(1): 58–67. doi: 10.1159/000366037.
- Thakkar K, Fishman DS, Gilger MA. Colorectal polyps in childhood. *Curr Opin Pediatr* 2012; 24(5): 632–637. doi: 10.1097/MOP.0b013e328357419f.
- Ilenčíková D. Syndrom konstitučního deficitu misměč opravného systému (CMMR-D). Kazuistika rodiny s bialelickou MSH6 mutací. *Klin Onkol* 2012; 25 (Suppl): S34–S38.
- Vasen HF, Ghorbanoghli Z, Bourdeaut F et al. Guidelines for surveillance of individuals with constitutional mismatch repair-deficiency proposed by the European Consortium „Care for CMMR-D“ (C4CMMR-D). *J Med Genet* 2014; 51(5): 283–293. doi: 10.1136/jmedgenet-2013-102238.

Genetické syndromy predisponující k dětským nádorům centrálního nervového systému

Genetic Syndromes Predisposing to Tumors of Central Nervous System in Children

Krutílková V.

Gennet, Centrum lékařské genetiky a reprodukční medicíny, Praha

Souhrn

Východiska: Nádorová onemocnění u dětí jsou obecně vzácná. Ze solidních nádorů jsou nejčastější právě nádory centrálního nervového systému. Ve srovnání s dospělými je v těchto případech genetická predispozice relativně častá (obecně se předpokládá asi u 15–25 % dětských malignit) a je popsána řada monogenně dědičných syndromů, u kterých je mozkový nádor jedním z hlavních symptomů. **Cíl:** Článek uvádí přehled genetických syndromů asociovaných s vysokým rizikem nádorů centrálního nervového systému manifestujících se v dětském věku. Uvedené nádorové predispozice jsou rozděleny do dvou skupin. V první části jsou uvedeny syndromy s multisystémovou manifestací, u kterých jsou nádorová onemocnění jedním ze symptomů a které jsou většinou diagnostikovány na základě jiných než nádorových projevů. Důležité je u těchto pacientů zajistit preventivní sledování k včasné diagnostice možných tumorů. Ve druhé části pak jsou uvedeny jednotky charakterizované právě nádorovými onemocněními, která vedou k jejich diagnostice. Stručná charakteristika jednotlivých afekcí je zaměřena na asociované tumory centrálního nervového systému. Odhalení nádorové predispozice u dítěte je důležité nejen pro dítě samotné, ale i pro jeho příbuzné. U nemocného dítěte je často nutná modifikace léčby s ohledem na genetickou diagnózu, s rozvojem personalizované medicíny jistě dojde i k možnosti tzv. léčby na míru. V neposlední řadě je pak třeba pro dítě zajistit cílenou preventivní péči s ohledem na riziko dalších malignit. Diagnóza hereditární nádorové predispozice má velký dopad též na příbuzné pacienta. Umožňuje specifikovat jejich onkologické riziko a v případě potřeby zajistit speciální prevenci. Pokud rodiče plánují další těhotenství, je možno předejít přenosu dispozice použitím preimplantační, event. prenatální diagnostiky.

Klíčová slova

nádory mozku – dítě – dědičné nádorové syndromy

Autorka deklaruje, že v souvislosti s předmětem studie nemá žádné komerční zájmy.

The authors declare she has 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 recommendation for biomedical papers.



MUDr. Věra Krutílková

Gennet

Centrum lékařské genetiky

a reprodukční medicíny

Kostelní 9

170 00 Praha 7

e-mail: vera.krutilkova@gennet.cz

Obdrženo/Submitted: 15. 7. 2015

Přijato/Accepted: 26. 8. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2016S71>

Summary

Background: The overall incidence of childhood malignancies is rather low. Central nervous system tumours constitute the largest group of solid tumours among children. In contrast to adult population, a genetic predisposition is frequently associated with these malignancies (it is assumed to occur in approximately 15–25% of all childhood tumours) and there is also a number of monogenic hereditary syndromes known to be associated with brain tumours. **Aim:** The purpose of this article is to present an overview of genetic syndromes reported to increase the risk of childhood central nervous system tumours. The outlined tumour predispositions are divided into two groups. Firstly, syndromes with multisystem manifestation, where neoplasia is one of the components, whereas the distinguishing symptom is usually non-oncological. Secondly, there are syndromes that are diagnosed by the associated neoplasm without any other noticeable phenotypic manifestation. A brief description of particular diseases is provided with a focus on associated central nervous system tumours. Detection of a tumour predisposition in a child is important not only for the child itself, but also for its family relatives. Often, a modification of treatment is necessary in regards to a genetic diagnosis. With the evolution of personalised medicine the possibility of “tailored” therapy will probably be a demanded solution. Last but not least, it is crucial to provide the child with a specialised preventive care owing to the risk of another potential malignancy. The diagnosis of hereditary cancer predisposition has also a big impact on the relatives of the patient. It enables to specify their oncological risk and arrange a specialised preventive care program, if needed. For high-risk parents planning another pregnancy there is a possibility to prevent the transfer of a certain disposition with the aid of preimplantation and prenatal genetic testing.

Key words

brain tumours – child – hereditary cancer syndromes

Úvod

Nádory centrální nervové soustavy (CNS) jsou u dětí nejčastějšími solidními nádory a představují asi 25 % všech nádorů dětského věku. Na rozdíl od dospělých je genetická predispozice u dětí s nádory CNS relativně častá. Mutace ve stejných genech se mohou objevovat jak v nádorech vzniklých na základě dědičné predispozice (germinální mutace), tak ve sporadických tumorech (somatické mutace). Dobře známým příkladem je meningiom a neurofibromatóza typu 2. Některé typy nádorů CNS u dětí (např. meduloblastom, ependymom, pilocytický astrocytom) jsou vázány k faktorům podílejícím se na růstu mozku v časném postnatálním životě, se stoupajícím věkem výskyt těchto tumorů klesá. Děti s malformacemi CNS mají zvýšené riziko nádorů mozku. Příčinou je aktivace těchto drah v různých patologických procesech. Například dráha SHH-PTCH-GLI se podílí na rozvoji holoprosencephalie, Smith-Lemli-Opitzova syndromu, meduloblastomu a Gorlina syndromu.

Genetické syndromy asociované s nádory CNS u dětí lze rozdělit na dvě skupiny:

1. Multisystémové syndromy, u kterých je nádor pouze jednou z manifestací (tab. 1), tyto syndromy jsou často diagnostikovány před rozvojem nádorového onemocnění.
2. Čistě nádorové predispozice, u kterých se v průběhu života objevují

různé typy tumorů (tab. 2) a které jsou diagnostikovány právě až na základě manifestace tumoru [1–4].

Multisystémové syndromy asociované s nádory CNS u dětí

Neurofibromatóza typu 1

Neurofibromatóza typu 1 (NF1) je autozomálně dominantně dědičné onemocnění s výskytem v populaci 1 : 2 500–3 000, až v 50 % jde o *de novo* mutace. Kausálním genem je gen *NF1*, jehož produktem je neurofibromin, který aktivuje GTPázu a inhibuje proteiny signální dráhy Ras, plní tedy funkci negativního růstového regulátoru [2].

Onemocnění se projevuje kombinací kožních, skeletálních, oftalmologických a neurologických příznaků. Pro diagnózu NF1 je nutná přítomnost dvou nebo více příznaků [5]:

- skvrny barvy café-au-lait (u dětí pět a více o průměru 0,5 cm nebo větším, u dospělých šest a více o průměru 1,5 cm nebo větších),
- dva a více neurofibromů jakéhokoli typu nebo jeden plexiformní,
- mnohočetné axilární nebo inguinální pihy,
- dysplazie sfenoidálního křídla nebo kongenitální ohnutí nebo ztenčení kortikální části dlouhých kostí,
- bilaterální gliom optického nervu,
- dva a nebo více Lischových nodulů (hamartomů duhovky),

- příbuzný 1. stupně s NF1 dle těchto kritérií.

Z nádorových projevů u dětí jsou nejčastější gliomy optiku (u 15–40 % pacientů), které se manifestují do 6., resp. 10. roku věku, později již vzácně. U dětí s gliomy chiasmatu se může objevit předčasná puberta, častější jsou též gliomy mozkového kmene. I u dětí a dospívajících se může objevit maligní tumor z pochvy periferního nervu. Častěji se vyskytují feochromocytomy, leukemie, Wilmsův tumor, vzácně rhabdomyosarkom, nediferencovaný sarkom a neuroblastom. Z nenádorových projevů se již v novorozeneckém věku mohou objevit skvrny café-au-lait, neurofibromy se většinou objevují kolem puberty, Lischovy noduly v předškolním věku. Častá je makrocefalie, skolióza, hydrocefalus, migrény a hypertenze. Lehká mentální retardace postihuje cca 10 % jedinců s NF1, u 60 % se objevují poruchy učení a chování, u 7 % dětí s NF1 se manifestuje epilepsie, převážně sekundární při tumorech CNS [5].

Pro léčbu asymptomatických gliomů optiku u pacientů s NF1 se doporučuje spíše konzervativní postup, u symptomatických optochiasmatických gliomů rostoucích v čase nebo vedoucích ke zhoršování zrakových funkcí či endokrinnímu deficitu se užívá konvenční chemoterapie a potenciálně i biologická léčba [2].

Tab. 1. Multisystémové genetické syndromy spojené s rizikem nádorů CNS u dětí.

Syndrom	Gen	Dědičnost	Asociovaný tumor CNS	Další tumory
neurofibromatóza typu 1	<i>NF1</i>	AD	gliom optiku, juvenilní pilocytický astrocytom, vzácně high-grade gliom	plexiformní neurofibromy, maligní tumory z pochvy periferních nervů, feochromocytom, neuroblastom, karcinom prsu, GIST, rhabdomyosarkom
Gorlinův syndrom	<i>PTCH</i> <i>SUFU</i>	AD	meduloblastom, meningiom, astrocytom, kraniofaryngiom, oligodendrogliom	bazocelulární karcinom, ovariální fibrom
tuberózní skleróza	<i>TSC1</i> <i>TSC2</i>	AD	subependymální obrovskobuněčný astrocytom, kortikální tubera	renální angiomyolipom, kardiální rhabdomyomy, karcinom ledviny, LAM
Fanconiho anémie	<i>FANCD1/BRCA2</i> <i>FANCN/PALB2</i> (dosud popsáno dalších 13 genů)	AR	meduloblastom, PNET	leukemie, Wilmsův tumor, rhabdomyosarkom, neuroblastom, hepatoblastom, karcinom prsu
Cowdenův syndrom	<i>PTEN</i>	AD	cerebelární dysplastický gangliogliom, meningiom, meduloblastom, astrocytom, hamartom	hamartomy očí, gastrointestinálního a urogenitálního traktu, karcinom prsu, endometria, epitheliální karcinom štítnice
Rubinstein-Taybi syndrom	<i>CREBBP</i> <i>EP300</i> <i>del16p16.3</i>	AD	meduloblastom, PNET	neuroblastom, leukemie, rhabdomyosarkom, osteosarkom
ataxia teleangiectasia	<i>ATM</i>	AR	meduloblastom	leukemie, lymfom

AD – autozomálně dominantní, AR – autozomálně recesivní, GIST – gastrointestinální stromální tumor, LAM – lymfangioleiomyomatóza plic, PNET – primitivní neuroektodermální tumor

Tab. 2. Hereditární nádorové predispozice primárně bez jiných než onkologických projevů s rizikem nádorů CNS u dětí.

Syndrom	Gen	Dědičnost	Asociovaný tumor CNS	Další tumory
Li-Fraumeni syndrom	<i>TP53</i>	AD	high-grade gliom, karcinom choroidálního plexu, meduloblastom, PNET	sarkomy kostí a měkkých tkání, karcinomy nadledvin, leukemie, časný karcinom prsu
syndrom konstitucionálního deficitu v MMR opravném systému	<i>MLH1</i> , <i>MSH2</i> , <i>MSH6</i> , <i>PMS2</i>	AR	meduloblastom, gliom, supratentoriální PNET	leukemie, lymfomy, časný kolorektální karcinom, vzácně neurofibromy, karcinom endometria a urotraktu
familiární adenomatózní polypóza	<i>APC</i>	AD	meduloblastom (vzácně astrocytom, ependymom, pinealoblastom)	hepatoblastom, osteom, desmoid, karcinom Vaterské papily, kolorektální karcinom
neurofibromatóza typu 2	<i>NF2</i>	AD	meningiom, ependymom, pilocytický nebo difúzní astrocytom	vestibulární schwannomy
syndrom predispozice k rhabdoidním tumorům	<i>SMARCB1</i> <i>SMARCA4</i>	AD	atypický teratoidní/ /rhabdoidní tumor	unilaterální nebo bilaterální maligní rhabdoidní tumor ledviny, vzácně schwannomy (mimo vestibulární lokalizaci)
Von Hippel-Lindauova choroba	<i>VHL</i>	AD	hemangioblastom	hemangioblastom sítnice, renální karcinom ze světlých buněk, feochromocytom, neuroendokrinní tumory, nádory endolymfatického vaku

AD – autozomálně dominantní, AR – autozomálně recesivní, PNET – primitivní neuroektodermální tumor

Gorlinův syndrom

Gorlinův syndrom (GS) (Nevoid Basal Cell Carcinoma Syndrom – NBCCS) je autizomálně dominantně dědičná afekce s incidencí 1 : 50 000–100 000, příčinou jsou mutace v tumor supresorovém genu *PTCH* (ve 20–30 % případů jde o *de novo* mutace), který kóduje transmembránový glykoprotein fungující jako antagonist signální dráhy Hedgehog. Popsán byl i další predisponující gen *SUFU*. Pro GS je typický vysoký vzrůst, makrocefalie, prominující čelo, hypertelorismus, mohou se vyskytovat vývojové vady (orofaciální rozštěp, malformace žebířů a páteře, kongenitální katarakta, mikroftalmie, kolobom), srdeční fibromy (již i prenatálně), přemostění sella turcica, mentální subnorma. Objevují se čelistní cysty, bazaliomy, kožní keratocysty a milia, ovariální fibromy, popsány jsou i hamartomatózní polypy žaludku [6]. Z nádorů CNS je nejčastější meduloblastom, popisován je u 1–5 % pacientů, střední věk manifestace jsou dva roky věku (na rozdíl od sporadického, kdy je to šest let) a jde o desmoplastický typ. Léčba je identická se sporadickým meduloblastomem, měla by být však pokud možno eliminována radioterapie. V radiačním poli se rozvíjí velké množství invazivních bazocelulárních karcinomů, popsán je i vývoj dalších tumorů CNS (meningiomu, anaplastického astrocytomy) [7,8]. Bazocelulární karcinomy se u 75 % pacientů objevují do 20. roku věku.

Tuberózní skleróza

Tuberózní skleróza (TSC) je autozomálně dominantně dědičné onemocnění s incidencí 1 : 6 000. Příčinou jsou mutace v genu *TSC1* a *TSC2*, v 60–80 % jde o mutace *de novo*. Gen *TSC1* kóduje hamartin, gen *TSC2* tuberin. Hamartin s tuberinem vytvářejí heterodimery, které společně regulují buněčnou proliferaci v signální dráze PI3K/Akt (mTORC1) [9].

Diagnóza TSC je stanovena na základě diagnostických kritérií [10], penetrance je téměř 100 % (většinou do 15. roku věku), exprese klinických příznaků je extrémně variabilní i v rámci rodin. Typické jsou mnohočetné hamartomy mozku, srdce, očí a ledvin a kožní abnormality. Epilepsie se objevuje až u 80 %

pacientů, mentální retardace u 40 %, časté jsou i poruchy chování. V CNS se objevují kortikální tubera, subependymální hamartomatózní noduly a intrakraniální kalcifikace. Těžší postižení je u pacientů s mutací v genu *TSC1* než *TSC2*, ženy mívají lehčí formu než muži. U 10–15 % pacientů se do 20. roku věku manifestuje subependymální obrovskobuněčný astrocytom, který je benigní, pomalu rostoucí, typicky se vyskytující ve stěně postranní komory. K léčbě rostoucího tumoru je užívána chirurgická léčba a nově mTOR inhibitory [1].

Fanconiho anémie

Fanconiho anémie (FA) je autozomálně recesivně nebo X-recesivně dědičné onemocnění s incidencí 1 : 200 000–400 000 charakterizované vrozenými vadami, chromozomální nestabilitou a selháváním kostní dřeně. FA může být způsobena mutacemi nejméně v 15 genech. Tyto geny jsou důležité pro reparaci zkřížených vazeb v DNA.

Bialelickou mutací v genu *BRCA2* (*FANCD1*) je způsobeno 3–5 % případů FA. Tento typ FA má často těžký fenotyp s více vrozenými vadami a silnější nádorovou predispozicí. Nádory se často vyvíjejí již v první dekádě života, nejčastěji se jedná o akutní myeloidní leukemii a meduloblastom a na rozdíl od jiných typů FA je spektrum nádorů širší, zahrnující další embryonální tumory jako neuroblastom, hepatoblastom, Wilmsův tumor a také rhabdomyosarkom. Opakovaně byl popsán i vývoj nádorových multiplicit již v první dekádě života [11]. Podobný fenotyp vykazuje i FA způsobena bialelickými mutacemi v genu *PALB2* [12].

U dětí s těmito typy FA je v 25 % případů první manifestací tumor CNS. Při čemž diagnóza FA je u nich zcela zásadní, protože vzhledem k extrémní citlivosti k ionizujícímu záření a chemoterapii musí být léčba vedena ve speciálních režimech.

Vyvstává tedy otázka vyšetření genů *BRCA2*, event. *PALB2* u druhého rodiče v případě, že jeden je heterozygot mutace v tomto genu [11].

Cowdenův syndrom

Cowdenův syndrom (CS) je autozomálně dominantně dědičné onemocnění s in-

cidencí 1 : 200 000–250 000 způsobené mutacemi v genu *PTEN* (ve 35–60 % jde o mutace *de novo*). Syndrom je charakterizován mnohočetnými hamartomy a zvýšeným rizikem benigních i maligních tumorů. CS se většinou manifestuje do 20. roku věku mukokutánními lézemi, makrocefalií, časté jsou poruchy psychomotorického vývoje, mohou se objevit křeče. Z nádorů CNS je patognomická Lhermitte-Duclosova choroba, která se obvykle objevuje v dospělém věku, ale popsána je i u dětí. Ostatní popsané nádory jak CNS (meningiomy, meduloblastom, gangliocytomy, glioblastomy), tak i v ostatních lokalizacích (štítnice, prsu, endometria) se objevují v dospělém věku [1].

Rubinstein-Taybi syndrom

Rubinstein-Taybi syndrom (RTS) je autozomálně dominantně dědičné onemocnění s incidencí 1 : 100 000–125 000, příčinou jsou mutace v genu *CREBBP* a *EP300C*, event. mikrolece v oblasti 16p13.3. Téměř vždy je důsledkem mutace *de novo*. Pacienti s RTS mají typickou faciální stigmatizaci, široké palce na ruku i nohu, malý vzrůst a středně těžkou až těžkou mentální retardaci. RTS je spojen se zvýšeným rizikem malignit, v dětství především meduloblastomu a leukemie [13,14].

Ataxia teleangiectasia

Ataxia teleangiectasia (AT) je autozomálně recesivně dědičné onemocnění s incidencí 1 : 40 000–100 000, příčinou jsou mutace v genu *ATM*. Gen *ATM* kóduje proteinkinázu, která se účastní buněčných reparačních procesů. Hlavním příznakem je růstová retardace, okulokutánní teleangiectázie, imundeficience a ataxie. Jedinci s AT mají vysoké riziko nádorových onemocnění, v dětství jsou nejčastější leukemie a lymfomy, z nádorů CNS je popisován meduloblastom, později je vysoké riziko dalších malignit (prsu, vaječníku, žaludku, melanomu, leiomyomu, popsány jsou i sarkomy). Typická je hypersenzitivita vůči radiačnímu záření, proto je důležitá znalost diagnózy AT před zahájením léčby (musí být použito modifikované léčebné schéma) [15].

Hereditární nádorové syndromy asociované s tumory CNS u dětí bez další primární nápadné systémové manifestace

Li-Fraumeni syndrom

Li-Fraumeni syndrom je autozomálně dominantně dědičná afekce charakterizovaná mnohočetnými časnými nádory, s incidencí 1 : 5 000–20 000, v 7–20 % jde o mutace *de novo* [16]. Typické jsou tumory CNS, sarkomy kostí a měkkých tkání, adrenokortikální karcinomy a časné karcinomy prsu. Vyskytnout se ale mohou prakticky jakékoliv typy malignit. Příčinou Li-Fraumeni syndromu jsou mutace v genu *TP53*, který má klíčovou úlohu v regulaci buněčného cyklu a apoptózy. Vyšetření genu *TP53* je indikováno nejčastěji na základě modifikovaných kritérií dle Chompretové [17]. Nádorové riziko do 18. roku věku je 30–40 % [14]. Riziko nádorů CNS je u jedinců s Li-Fraumeni syndromem velmi vysoké – nejčastější je astrocytom, glioblastom, meduloblastom (často sonic-Hedgehog subtyp) a karcinom choroidálního plexu (CPC). U pacientů s CPC je pravděpodobnost nálezu mutace v genu *TP53* 36–44 % [18,19], u tohoto typu nádoru by mělo být vyšetření genu *TP53* indikováno vždy. Průměrný věk manifestace tumoru CNS je 16 let, více než polovina s Li-Fraumeni syndromem asociovaných tumorů CNS se vyvine u dětí do 18 let. U pacientů s Li-Fraumeni syndromem by měla být minimalizována expozice jak diagnostické, tak terapeutické radiaci vzhledem k riziku indukce dalších malignit [1].

Syndrom konstitučního deficitu v MMR (mismatch repair) opravném systému

Syndrom konstitučního deficitu v MMR (mismatch repair) opravném systému (constitutional mismatch repair-deficiency syndrome – CMMR-D) je vzácná autozomálně recesivně dědičná afekce způsobená biálickými mutacemi v genech MMR. Geny MMR systému (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*) hrají zásadní roli v udržení integrity genomu korekcí chyb vzniklých při replikaci DNA. Klinicky je jednotka naprosto odlišná od Lynchova syndromu s výrazně horší prognózou.

U poloviny pacientů s CMMR-D se rozvine nádor CNS (nejčastěji glioblastom a další high-grade gliomy, PNET, meduloblastom), u poloviny nádor zažívacího traktu (přítomny jsou mnohočetné polypy) a cca u třetiny se objeví hematologická malignita (lymfom, akutní lymfoblastická i myeloidní leukemie). Mohou se objevit další nádory ze spektra Lynchova syndromu. U 40 % pacientů se objevuje metachronní tumor. Nádory mozku a hematologické malignity jsou nejčastěji diagnostikovány v první dekádě života, kolorektální karcinom a karcinom tenkého střeva ve druhé a třetí. Karcinom endometria a urotraktu se objevuje u mladých dospělých.

Kromě nádorových onemocnění jsou pro jednotku typické kožní projevy typu skvrn café-au-lait, hypopigmentace, může být lehká imunodeficience i vrozené vývojové vady.

Rodinná anamnéza často ani u jednoho z rodičů Lynchovu syndromu neodpovídá (nejčastější příčinou jsou mutace v genu *PMS2*).

Vyšetření genů MMR by mělo být indikováno u dětí s hematologickou malignitou nebo nádorem CNS a anamnézou podezřelou z Lynchova syndromu u jednoho z rodičů a/nebo při současném výskytu skvrn café-au-lait a/nebo sourozence s dětským nádorem. Vždy je též indikováno při výskytu nádoru GIT v období adolescence nebo při nádorové duplicitě odpovídající spektru CMMR-D.

Otázka odlišné senzitivity těchto pacientů na onkologickou léčbu je předmětem probíhajících studií [20].

Familiární adenomatózní polypóza

Familiární adenomatózní polypóza (FAP) je autozomálně dominantně dědičná afekce charakterizovaná těžkou polypózou s incidencí 1 : 10 000. Příčinou jsou mutace v genu *APC*, ve 20–25 % jde o mutace *de novo*.

Gen *APC* ovlivňuje proliferaci a diferenciaci buněk.

Vzácně může být první manifestací meduloblastom v dětství, popsány jsou i další typy nádorů CNS (astrocytom, ependymom, pinealoblastom). Asociace FAP a extraintestinálních projevů (kožní léze typu fibromů, lipomů, sebaceózních a epidermoidních cyst, dále

nazopharyngeální aniofibromy, osteomy, desmoidní tumory, kongenitální hypertrofie retinálního pigmentového epitelu) je označována jako Gardnerův syndrom. Kombinace meduloblastomu (vzácně jiného tumoru CNS) a FAP je známa jako Turcotův syndrom typu 2. Z dalších dětských malignit je popisován hepatoblastom [21].

Neurofibromatóza typu 2

Neurofibromatóza typu 2 (NF2) je autozomálně dominantně dědičná afekce s incidencí 1 : 33 000–40 000. Příčinou jsou mutace v tumor supresorovém genu *NF2*, až v 50 % jde o *de novo* mutace.

Pro onemocnění je typický rozvoj bilaterálních vestibulárních schwannomů, které se klinicky začínají projevovat většinou v pubertě. Mohou se objevovat i další benigní nádory jednak intrakraniální (meningiomy a ependymomy), jednak schwannomy centrálních a periferních nervů, vzácně astrocytomy a neurofibromy. Skvrny café-au-lait jsou popisovány asi u 40 % pacientů, ale jen asi 1 % jich má více než šest. Již v dětském věku může být přítomna katarakta, retinální hamartomy a epiretinální membrány.

Na rozdíl od NF1 jsou klinické projevy u NF2 v rámci rodiny podobné.

Časná diagnostika je zásadní pro správné načasování chirurgického řešení neurinomů akustiku a pro zachování sluchu [5]. Ve vybraných případech je přínosné radiochirurgické ozáření na gama noži či X-noži [22].

Syndrom predispozice k rhabdoidním tumorům

Syndrom predispozice k rhabdoidním tumorům (RTPS) je vzácná autozomálně dominantně dědičná afekce. Příčinou jsou mutace v genu *SMARCB1*, cca v 75 % jde o mutace *de novo*, penetrance je neúplná (v řadě rodin je rodič asymptomatický nositel mutace), opakovaně je popsán i germinální mozaicismus u jednoho z rodičů. Ztráta funkce genu *SMARCB1* vede k vysoké chromozomální nestabilitě. Dalším predisponujícím genem je gen *SMARCA4*.

Pro jednotku je typický časný výskyt intrakraniálních rhabdoidních tumorů (atypický teratoidní rhabdoidní

tumor) a renálních či extrarenálních (v dutině břišní lokalizovaných) maligních rhabdoidních tumorů. Jde o vysoce maligní onemocnění se špatnou prognózou, u dětí s diagnostikovanou germinální mutací v genu *SMARCB1* je popisován časnější věk manifestace a horší prognóza přežití. V rodinách s RTPS byly dále popsány karcinom choroidálního plexu, meduloblastom a supratentoriální PNET [1,23].

Germinální mutace v genu *SMARCB1* jsou popisovány i v rodinách se schwannomatózou, která se manifestuje v dospělosti (schwannomy nepostihují vestibulární nerv), výjimečně jsou rodiny s kombinací fenotypu RTPS a schwannomů [1].

Na riziko RTPS je nutno pomýšlet u dětí s germinální delecí 22q11, pokud zahrnuje i oblast genu *SMARCB1* (syndrom je charakterizován vývojovými vadami obličeje a srdce, imunodeficiencí, poruchami psychomotorického vývoje – klinicky je znám jako DiGeorgův syndrom).

Von Hippel-Lindauova choroba

Von Hippel-Lindauova choroba (VHL) je autozomálně dominantně dědičná afekce s incidencí 1 : 35 000–40 000, příčinou jsou mutace v genu *VHL*, cca v 20 % jde o mutace *de novo*.

Pro syndrom jsou charakteristické hemangioblastom CNS a retiny, feochromocytom, renální cysty a karcinom ledvin ze světlých buněk. VHL syndrom se většinou manifestuje v dospělosti, jsou ale popsány hemangioblastomy i u dětí a dospívajících, stejně tak i retinální hemangioblastomy. Většina pacientů s VHL má mnohočetné hemangioblastomy v mozgovém kmeni, míše a okolí nervových kořenů ve srovnání se sporadickými hemangioblastomy, které se nejčastěji vyskytují v mozečku [24].

Závěr

U dospělých pacientů je příčinou nádorových onemocnění hereditární predispozice v 5–10 %, dle recentních studií se předpokládá, že u dětí je to v 15–25 % [25,26].

Pro odhalení genetické dispozice je nezbytná podrobná rodinná ana-

mnéza. Je však třeba si uvědomit, že řada uváděných syndromů vzniká na podkladě mutace *de novo*, rodinná anamnéza tedy nemusí být nijak nápadná.

U dítěte samotného je pak třeba klinické vyšetření zaměřené na specifické příznaky, např. kožní změny, koincidence s vrozenými vadami a jinými onemocněními (např. imunodeficit, ataxie). S ohledem na vlastní nádorové onemocnění je třeba si všimnout neobvyklé histologie, lokalizace tumoru či nezvykle časně manifestace onemocnění. Podezřelé by vždy měly být nádorové multiplicity či výskyt malignity u sourozenců.

Diagnóza genetického onemocnění u dítěte je velmi důležitá jednak s ohledem na případnou modifikaci léčby (speciální léčebné režimy u syndromů chromozomální nestability, v řadě případů je nutné omezit nebo vynechat radioterapii), s rozvojem personalizované medicíny se postupně otevírají možnosti tzv. léčby na míru a v neposlední řadě je nutné pro tyto děti zajistit speciální sledování k časně diagnostice event. dalších malignit. S rozvojem nových diagnostických možností i na tomto poli dochází k významnému zlepšení (příkladem je užití celotělové MRI u pacientů s Li-Fraumeniho syndromem).

Rozvoj metod molekulární diagnostiky v poslední době přinesl významné zlepšení diagnostických možností těchto predispozic. Využívány jsou metody sekvenace příští generace, k dispozici je řada panelů umožňujících vyšetření velkého množství genů v rámci jednoho testu, pro klinické použití se otevírají i možnosti sekvenace exomu, či dokonce genomu. Nutno podotknout, že velkým problémem stále zůstává klinická interpretace laboratorních nálezů.

Diagnóza hereditární nádorové predispozice má velký dopad též na příbuzné pacienta. Umožňuje specifikovat jejich onkologické riziko a v případě potřeby zajistit i pro ně speciální prevenci. Pokud rodiče plánují další těhotenství, je možno předejít přenosu dispozice použitím preimplantační, event. prenatalní diagnostiky. Je ale nutné, aby o těchto možnostech byli správně informováni.

Literatura

1. Bleeker FE, Hopman SM, Merks JH et al. Brain tumors and syndromes in children. *Neuropediatrics* 2014; 45(3): 137–161. doi: 10.1055/s-0034-1368116.
2. Villani A, Malkin D, Tabori U. Syndromes predisposing to pediatric central nervous system tumors: lessons learned and new promises. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2012; 12(2): 153–164. doi: 10.1007/s11910-011-0244-5.
3. Villavicencio EH, Walterhouse DO, Iannaccone PM. The sonic hedgehog-patched-gli pathway in human development and disease. *Am J Hum Genet* 2000; 67(5): 1047–1054.
4. Poduri A, Evrony GD, Cai X et al. Somatic mutation, genomic variation, and neurological disease. *Science* 2013; 341(6141): 1237758. doi: 10.1126/science.1237758.
5. Petrák B, Plevová P, Novotný J et al. Neurofibromatosis von recklinghausen. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl): S38–S44.
6. Plevová P, Krutíková V, Puchmajerová A, et al. Gorlinův syndrom. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl): S34–S35.
7. Amlashi SF, Riffaud L, Brassier G et al. Nevroid basal cell carcinoma syndrome: relation with desmoplastic medulloblastoma in infancy. A population-based study and review of the literature. *Cancer* 2003; 98(3): 618–624.
8. Choudry Q, Patel HC, Gurusinge NT et al. Radiation-induced brain tumors in nevroid basal cell carcinoma syndrome: implications for treatment and surveillance. *Child Nerv Syst* 2007; 23(1): 133–136.
9. Foretová L, Macháčková E, Gaillyová R et al. Hereditární nádorová onemocnění. In: Foretová L, Svoboda M, Slabý O et al (eds). *Molekulární genetika v onkologii*. 1. vyd. Praha: Mladá fronta 2014.
10. Vrtěl R, Filipová H, Vodička R et al. Tuberózní skleróza. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl): S50–S53.
11. Meyer S, Tischkowitz M, Chandler K et al. Fanconi anemia, BRCA2 mutations and childhood cancer: a developmental perspective from clinical and epidemiological observations with implications for genetic counselling. *J Med Genet* 2014; 51(2): 71–75. doi: 10.1136/jmedgenet-2013-101642.
12. Tischkowitz M, Xia B. PALB2/FANCD1 – recombining cancer and Fanconi anemia. *Cancer Res* 2010; 70(19): 7353–7359. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1012.
13. Roelfsema JH, Peters DJ. Rubinstein-Taybi syndrome: clinical and molecular overview. *Expert Rev Mol Med* 2007; 9(23): 1–16.
14. Bourdeaut F, Miquel C, Richer W et al. Rubinstein-Taybi syndrome predisposing to non-WNT, non-SHH, group 3 medulloblastoma. *Pediatr Blood Cancer* 2014; 61(2): 383–386. doi: 10.1002/pbc.24765.
15. Pollard JM, Gatti RA. Clinical radiation sensitivity with DNA repair disorders: an overview. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 74(5): 1323–1331. doi: 10.1016/j.ijrobp.2009.02.057.
16. Gonzales OD, Buzin CH, Nektner KA et al. High frequency of de novo mutations in Li-Fraumeni syndrome: impact on age at first diagnosis. *J Med Genet* 2009; 46(10): 686–693. doi: 10.1136/jmg.2008.058958.
17. Tinat J, Bougeard L, Ronsin M et al. 2009 version of the Chompret criteria for Li-Fraumeni syndrome. *J Clin Oncol* 2009; 27(26): e108–e109. doi: 10.1200/JCO.2009.22.7967.
18. Gozali AE, Britt B, Shane L et al. Choroid plexus tumors; management, outcome, and association with the Li-Fraumeni syndrome: the Children's Hospital Los Angeles (CHLA) experience, 1991–2010. *Pediatr Blood Cancer* 2012; 58(6): 905–909. doi: 10.1002/pbc.23349.
19. Krutíková V, Trková M, Fleit J et al. Identification of five families strengthens the link between childhood choroid plexus carcinoma and germline TP53 mutations. *Eur J Cancer* 2005; 41(11): 1597–1603.
20. Vasen HF, Ghorbanogly Z, Bourdeaut F et al. Guidelines for surveillance of individuals with constitutio-

nal mismatch repair-deficiency proposed by the European Consortium „Care for CMmR-D“(C4CMmR-D). *J Med Genet* 2014; 51(5): 283–293. doi: 10.1136/jmedgenet-2013-102238.

21. Half E, Bercovich D, Rozen P. Familial adenomatous polyposis. *Orphanet J Rare Dis* 2009; 4: 22. doi: 10.1186-1750-1172-4-22.

22. Sun S, Liu AJ. Long-term follow-up studies of Gamma Knife surgery for patients with neurofibromato-

sis type 2. *Neurosurg* 2014; 121 (Suppl): 143–149. doi: 10.3171/2014.8.GKS141503.

23. Bruggers CS, Bleyl SB, Pysher T et al. Clinicopathologic comparison of familial versus sporadic atypical teratoid/rhabdoid tumors (AT/RT) of the central nervous system. *Pediatr Blood Cancer* 2011; 56(7): 1026–1031. doi:10.1002/ppbc.22757.

24. Kanno H, Kuratsu J, Nishikawa R et al. Clinical features of patients bearing central nervous system he-

mangioblastoma in von Hippel-Lindau disease. *Acta Neurochir (Wien)* 2013; 155(1): 1–7. doi: 10.1007/s00701-012-1514-y.

25. Scheinemann K, Bouffet E (eds). *Pediatric neuro-oncology*. New York: Springer-Verlag 2015.

26. Schiffman JD, Geller JL, Mundt E et al. Update on pediatric cancer predisposition syndromes. *Pediatr Blood Cancer* 2013; 60(8): 1247–1252. doi: 10.1002/pbc.24555.

Hepatoblastom, etiologie, kazuistiky

Hepatoblastoma, Etiology, Case Reports

Puchmajerová A.¹, Křepelová A.¹, Indráková J.², Sítková R.², Balašček I.³, Kruseová J.⁴, Švojgr K.⁴, Kodet R.⁵, Kynčl M.⁶, Vícha A.⁴, Macek M. Jr.¹

¹ Ústav biologie a lékařské genetiky, 2. LF UK a FN v Motole, Praha

² Úsek molekulární biologie, Laboratoř lékařské genetiky, Laboratoře AGEL a.s., Nový Jičín

³ Novorozenecké oddělení, Gynekologicko-porodnická klinika 2. LF UK a FN v Motole, Praha

⁴ Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN v Motole, Praha

⁵ Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK a FN v Motole, Praha

⁶ Klinika zobrazovacích metod 2. LF UK a FN v Motole, Praha

Souhrn

Hepatoblastom je nejčastější maligní nádor jater u dětí, jehož incidence se uvádí okolo jednoho na milion dětí. Tento typ nádoru jater je obvykle diagnostikován u dětí do tří let věku. Etiologie hepatoblastomu není zcela jasná, avšak některé genetické jednotky jsou asociovány se zvýšeným rizikem vývoje hepatoblastomu, nejčastěji Beckwith-Wiedemannův syndrom včetně izolované hemihypertrofie, APC asociovaná polypóza, deficit α -1-antitrypsinu a některá metabolická onemocnění, jako jsou tyrozinémie, galaktosemie a glykogenóza 1. typu. Vyšší riziko hepatoblastomu je také u dětí s velmi nízkou porodní hmotností, u těch, které prodělaly v raném věku hepatitidu B a dětí s vrozenou atrezií žlučových cest.

Klíčová slova

hepatoblastom – α -fetoprotein – Beckwith-Wiedemannův syndrom – APC asociovaná polypóza

Summary

Hepatoblastoma is an uncommon malignant neoplasm in general, yet, it is the most common liver malignancy in children with the incidence about one per million children. This type of liver tumor usually occurs before the age of three years. The etiology of hepatoblastoma remains unknown. However, there are some genetic conditions known to be associated with an increased risk of developing hepatoblastoma such as Beckwith-Wiedemann syndrome, hemihypertrophy, APC-associated polyposis, α -1-antitrypsin deficiency and some metabolic disorders including tyrosinemia, galactosemia and glycogen storage disease type 1. There is a higher risk of hepatoblastoma in children with very low birthweight, children who acquire hepatitis B at an early age and children with congenital biliary atresia.

Key words

hepatoblastoma – α -fetoprotein – Beckwith-Wiedemann syndrome – APC-associated polyposis

Práce byla podpořena projekty NF-CZ11-PDP-3-003-2014, MZ ČR – RVO, FN v Motole 00064203 a OPPK – CZ-2.16./3.1.00/24022.

This work was supported by grant from Norway NF-CZ11-PDP-3-003-2014, MH ČR – RVO, UH Motol 00064203 and OPPK – CZ-2.16./3.1.00/24022.

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 recommendation for biomedical papers.



MUDr. Alena Puchmajerová

Ústav biologie a lékařské genetiky

2. LF UK a FN v Motole

V Úvalu 84

150 06 Praha 5

e-mail:

alena.puchmajerova@fnmotol.cz

Obdrženo/Submitted: 6. 8. 2015

Přijato/Accepted: 9. 9. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2016S78>

Úvod

Hepatoblastom je vzácný maligní tumor jater dětského věku, jeho incidence se uvádí okolo 1 : 1 000 000 dětí. Jedná se o nejčastější typ nádoru jater u dětí. Obvykle je diagnostikován u dětí do tří let věku. Pro tento typ nádoru je typický vzestup sérové hladiny α -fetoproteinu (AFP). Pokud je tato hladina normální, znamená to špatnou prognózu. Etiologie hepatoblastomu nebyla dosud zcela objasněna. Rizikovými faktory rozvoje hepatoblastomu jsou velmi nízká porodní hmotnost, hepatitida B, kterou děti prodělají v raném věku, vrozená atřezie žlučových cest, deficit α -1-antitrypsinu, některá metabolická onemocnění, jako jsou tyrozinemie, galaktosemie a glykogenóza 1. typu. U některých genetických syndromů je též nutné počítat se zvýšeným rizikem hepatoblastomu. Jedná se o Beckwith-Wiedemannův syndrom (BWS) a APC asociovanou polypózu [1,2]. Předmětem sdělení jsou dvě kazuistiky dětí s hepatoblastomem, u kterých byl prokázán některý z výše uvedených genetických syndromů.

Beckwith-Wiedemannův syndrom Etiologie a typ dědičnosti, klinický obraz

Tento syndrom vzniká v důsledku epigenetických a genomických alterací chromozomu 11p15 zahrnujících maternální delece, uniparentální paternální disomie, mutace v imprintingovém centru či maternální alely genu *CDKN1C* [3–6].

Nejčastěji se jedná o sporadický výskyt v důsledku epigenetických změn, vzácně je dědičnost autozomálně dominantní v důsledku mutace či delece maternální alely [7]. Alelickým onemocněním k BWS je Silver-Russellův syndrom.

Typickými projevy u pacientů s BWS jsou makrosomie, makroglosie, hemihypertrofie, visceromegalie (játra, slezina, ledviny, nadledviny, pankreas), omfalokéla, atypické rýhy a dolíčky na ušních lalůčkách, neonatální hypoglykemie, renální anomálie zahrnující strukturální anomálie, nefromegalii, nefrokalcinózu, později rozvoj spongiózní ledviny, kardiomegalie (vzácně kardiomyopatie), faciální névus flammeus a jiné vaskulární malformace (obr. 1, 2) [7]. U pacientů s BWS je zvýšené riziko tumorů v dětském věku [8], jedná se o embryonální tumory (nefroblastom, hepatoblastom, neuroblastom, rhabdomyosarkom). Toto riziko je zvýšené především u dětí s BWS v důsledku uniparentální paternální isodisomie [7].

Kazuistika 1

Ke genetickému vyšetření byl doporučen třídní hypertrofický novorozenec pro široký nezasyhající pupek. Chlapec byl narozen ve 38. t. t. s porodní hmotností 3 930 g (nad 97. percentilem), poporodní adaptace byla protrahovaná, několik dní po porodu bylo nutné korigovat hypoglykémii. Klinicko-genetickým vyšetřením byla dále zjištěna asymetrie obličeje

a makroglosie. Molekulárně-genetickým vyšetřením byla prokázána paternální uniparentální disomie 11p15.5 (20 % případů BWS). Čtvrtý den po porodu bylo provedeno UZ vyšetření břicha, kde byl zjištěn suspektní útvar v pravém jaterním laloku velikosti 12 × 14 mm, podle MRI vyšetření (10. den) se jednalo u solitární ložisko v játrech o průměru 18 mm. Vzhledem k charakteru tohoto ložiska bylo vysloveno podezření na hepatoblastom. Toto podpořila i vysoká hladina AFP v krvi (126 000 μ g/l, norma pro novorozence do 18 700 μ g/l). Chlapec byl předán k dovyšetření a terapii na Klinikou dětské hematologie a onkologie FN v Motole, kde byla prokázána rychlá progresse nádoru (22. den bylo UZ vyšetření jater zjištěno již ložisko velikosti cca 30 mm v průměru). Byla proto provedena segmentektomie pravého jaterního laloku. Histopatologické vyšetření prokázalo hepatoblastom se strukturami fetálního a embryonálního typu.

Doporučení pro děti s BWS

Po stanovení diagnózy jsou ke zjištění rozsahu choroby a prevenci komplikací doporučena v případě makroglosie opatření k zajištění dostatečné průchodnosti dýchacích cest a zajištění dostatečného příjmu potravy, sledování a korekce novorozenecké hypoglykemie, event. v případě přetrvávání hypoglykemie vyšetření endokrinologem, UZ vyšetření břicha k detekci organomegalie, strukturálních anomálií a detekci ná-



Obr. 1. Beckwith-Wiedemannův syndrom (BWS), atypické rýhy a dolíčky na ušních lalůčkách.



Obr. 2. Beckwith-Wiedemannův syndrom (BWS), omfalokéla.

dorů, event. MRI nebo CT, kardiologické vyšetření zahrnující EKG, echokardiografické vyšetření, vyšetření α -fetoproteinu k vyloučení hepatoblastomu.

Doporučené sledování k časně detekci embryonálních tumorů zahrnuje UZ břicha každé tři měsíce do osmi let věku, stanovení hladiny sérového AFP každé 2–3 měsíce prvních pět let života [9]. V případě zvýšené hladiny AFP bez podezřelé léze a přetrvávání zvýšené hladiny AFP se doporučuje pátrat po skrytém tumoru. Od osmi let do rané dospělosti je doporučováno jedenkrát ročně vyšetření ledvin a vyšetření poměru kalcium/kreatininu jedenkrát za 1–2 roky. Nebyl popsán vyšší výskyt sekundárních malignit, ale je doporučeno sledování v ambulanci dětského onkologa podle schématu poléčebného vyšetřování dle příslušného terapeutického protokolu.

APC asociovaná polypóza

Etiologie, typ dědičnosti, klinický obraz

APC asociovaná polypóza v sobě zahrnuje několik genetických jednotek: familiární adenomatózní polypózu (FAP), atenuovanou FAP, Gardnerův syndrom a Turcotův syndrom [10,11]. Tyto jednotky se navzájem prolínají, co se týče klinického obrazu a etiologie. Jedná se o autozomálně dominantně dědičné onemocnění v důsledku mutace genu APC (chromozom 5q21–q22). U cca 20 % případů se jedná o mutace *de novo* nebo mozaicismus. Pro klasickou FAP jsou typické především adenomatózní polypy tlustého střeva, které se začínají tvořit okolo 15. roku života, v některých případech i dříve. Postupně se vytvoří stovky až tisíce takových polypů, z nichž každý může malignizovat. Polypy se mohou tvořit též v žaludku, duodenu a v dalším průběhu tenkého střeva, u atenuované formy FAP se tvoří méně adenomatózních polypů než v případě klasické FAP (v průměru okolo 30), riziko kolorektálního karcinomu (colorectal cancer – CRC) je ale stejně jako u klasické FAP významné. Onemocnění může být spojeno i s extrakolickými projevy zahrnujícími vrozenou hypertrofii pigmentového listu sítnice (congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium – CHRPE), osteomy, nadpočetné zuby, odontomy,

desmoidy, epidermoidní cysty. Extrakolické projevy: osteomy a tumory měkkých tkání jsou typické především pro Gardnerův syndrom [12]. Kromě CRC se u pacientů mohou objevit i jiné malignity, jako jsou meduloblastom, papilární karcinom štítné žlázy, hepatoblastom do pěti let věku, karcinom pankreatu a žaludku [10]. Tumory CNS jsou asociovány hlavně s Turcotovým syndromem. Byla vypořádována fenotyp-genotypová korelace [13]. Nejčastěji je patogenní varianta lokalizována v kodonu 1309, v tomto případě dochází k mnohočetné polypóze již v mladém věku. K nejtěžším formám polypózy (cca 5 000 polypů) dochází v případě mutace v kodonech 1250–1464. V případě mutace na 5' nebo 3' konci genu APC (kodony 1–163 a 1860–1987) nebo v exonu 9 dochází k tzv. atenuované familiární adenomatózní polypóze, kdy se tvoří méně než 1 000 adenomatózních polypů. U nosičů patogenní varianty v kodonech 1395–1493 je významně zvýšené riziko desmoidních tumorů, osteomů a epidermoidních cyst, jedinci s patogenní variantou v kodonech 457–1309 mají zvýšené riziko hepatoblastomu [14,15] a mozkových tumorů. CHRPE bývá asociována s patogenní variantou mezi kodony 148 a 2043 a u delecí celého APC genu [10].

Kazuistika 2

Ke genetickému vyšetření byl doporučen šestiletý chlapec pro dvě rezistence na zádech a hepatoblastom v anamnéze (obr. 3). Perinatologická data v normě, chlapec rostl a prospíval dobře, psychomotorický vývoj odpovídal věku. Ve věku šest měsíců se objevilo první ložisko na zádech v Th oblasti, další ložisko se objevilo v LS oblasti v jednom roce věku. Zvažovány lipomy, v rámci vyšetření rozsahu ložisek bylo provedeno vyšetření MRI zad a jako náhodný nález zjištěna expanze v oblasti pravého laloku jater. Biopsií byl prokázán fetální hepatoblastom a ve věku 1,5 roku byla provedena lobektomie pravého laloku jater. Následně byla provedena biopsie ložisek na zádech, histopatologicky byla prokázána kosterní svalovina s jizevnatou fibrózní tkání, diferenciálně diagnosticky zvažován desmoplastický fibrózní tumor. Při



Obr. 3. Familiární adenomatózní polypóza (FAP), desmoidní tumory.

genetickém vyšetření ve věku šesti let bylo u chlapce kromě dvou kulovitých ložisek na zádech o velikosti cca 5 cm zjištěno i difúzně několik rezistencí na lebečních kostech, v.s. osteomy, histologicky nebylo verifikováno. V rodinné anamnéze se ze strany matky a otce podobné onemocnění neobjevilo, onkologicky rodina negativní. Diferenciálně diagnosticky zvažována APC asociovaná polypóza, i když se toto onemocnění v rodině nevyskytuje [16]. Vzhledem k věku dítěte kolonoskopie neprovedena. Molekulárně-genetickým vyšetřením byla u chlapce prokázána *de novo* mutace c.4438C>T (p.Gln1480*) APC genu. Tím byla u chlapce prokázána APC asociovaná polypóza, nejspíše Gardnerův syndrom. U rodičů dítěte tato mutace nebyla prokázána.

Doporučení pro pacienty s APC asociovanou polypózou Polypy tlustého střeva

U pacientů s klasickou formou FAP je indikována kolektomie. Její načasování je stanoveno individuálně podle velikosti a počtu adenomatózních polypů. Většinou je doporučována, když se vyvinou mnohočetné adenomy nebo více než 20–30 adenomů s pokročilým histologickým nálezem ve smyslu dysplazie. U jedinců s atenuovanou FAP může být nezbytná, ale u přibližně jedné třetiny pacientů stačí pravidelné kolonosko-

pické polypektomie [11,17]. Tam, kde zatím není indikována kolektomie, je doporučena pravidelná sigmoidoskopie nebo kolonoskopie každé 1–2 roky se začátkem sledování ve věku 12 let, v případě nálezu polypů při sigmoidoskopii je dále indikována kompletní kolonoskopie a dále každoroční kolonoskopie. Po totální kolektomii by měl být ileální pouch vyšetřen každé dva roky, v případě subtotalní kolektomie by mělo být vyšetřeno každých 6–12 měsíců rektum, podle počtu vytvořených polypů. U pacientů s atenuovanou FAP je kolonoskopie doporučována každé 2–3 roky, počínaje věkem 18–20 let.

Polypy tenkého střeva a žaludku

U klasické i atenuované FAP je od 25 let doporučována ezofagogastroduodenoskopie každé 1–3 roky, frekvence je stanovena podle velikosti a stupně dysplazie, součástí vyšetření by mělo být i vyšetření duodenální papily a v některých případech endoskopická retrogradní cholangiopankreatografie k detekci adenomů žlučového. V případě vilózních změn adenomů, jejich těžké dysplazie nebo velikosti nad 1 cm či v případě klinických projevů je indikováno endoskopické odstranění adenomů, v případě těžkých duodenálních adenomů je indikována i pankreatoduodenektomie. V případě nálezu duodenálních adenomů je indikováno každé 1–3 roky vyšetření tenkého střeva.

Extrakolické projevy

Osteomy se odstraňují spíše z kosmetického důvodu. Dostupná léčba desmoidních tumorů zahrnuje chirurgické excize s vysokým rizikem rekurence. Pro zvýšené riziko karcinomu štítné žlázy je doporučováno každoroční palpační vyšetření štítné žlázy spolu s UZ vyšetřením. Pokud jsou přítomny uzly ve štítné žláze, je doporučována aspirační biopsie [18].

Hepatoblastom

Screening hepatoblastomu u pacientů s mutací APC genu zahrnuje každé tři měsíce UZ vyšetření břicha a každé 2–3 měsíce vyšetření sérového AFP od narození nebo stanovení diagnózy do věku pěti let [9].

Indikace k vyšetření genu APC

Molekulárně-genetické vyšetření je doporučeno u všech forem difúzní střevní adenomatózní polypózy a Gardnerova syndromu. V případě průkazu mutace genu APC by mělo být nabídnuto genetické poradenství rodině pacienta. Prediktivní testování je vhodné provést u všech členů rodiny včetně malých dětí, jakmile je v rodině mutace genu APC prokázána. Je možná prenatální diagnostika, rodina se může rozhodnout graviditu ukončit v případě nálezu mutace genu APC u plodu, i když se u něho nepředpokládá těžké postižení vrozenými vadami či mentálním deficitem. Vhodnější je preimplantační genetická diagnostika, která je prováděna v úzce specializovaných centrech asistované reprodukce. Vzhledem k nízké incidenci hepatoblastomu v populaci a možné asociaci hepatoblastomu s mutací APC genu je vhodné zvážit provedení molekulárně-genetického vyšetření tohoto genu u dítěte s hepatoblastomem i přes negativní rodinnou anamnézu familiární adenomatózní polypózy z důvodu možné dosud latentní FAP u některého z rodičů nebo *de novo* vzniklé mutace u dítěte.

Jako preventivní opatření tvorby desmoidů a polypů je uváděno podávání nesteroidních antiflogistik (celecoxib, Sulindac). Randomizované studie potvrdily sníženou tvorbu polypů a prodloužení intervalu ke vzniku high-grade dysplastických změn polypů, a tím k oddálení nutné kolektomie [19–21]. Nevýhodou jejich dlouhodobého podávání (nejčastěji uváděno 3–6 měsíců) je však zvýšené riziko kardiovaskulárních komplikací, především u pacientů, kteří se pro kardiovaskulární onemocnění léčili ještě před zahájením podávání celecoxibu [19–23]. Terapeutické ovlivnění počtu a velikosti polypů bylo prokázáno při použití léčby anti-estrogeny (Tamoxifen), cytotoxickou chemoterapií a radioterapií [20,24].

Diskuze

Na dvou pacientech s hepatoblastomem ukazujeme různou možnou etiologii rozvoje hepatoblastomu. Jedná se o dvě zcela odlišné klinické jednotky. BWS lze rozpoznat na základě určitých fenotypo-

vých projevů již po narození dítěte, a hepatoblastom byl zachycen až na základě indikovaných preventivních vyšetření po stanovení diagnózy BWS. Diagnóza APC asociované polypózy, v našem případě nejspíše Gardnerova syndromu, může být dlouho skryta, pokud v rodině není nikdo sledován pro polypózu, protože typické projevy této choroby – polypy GIT – se objevují až v pozdějším věku. V našem případě byl chlapec doporučen ke genetickému vyšetření na základě diagnózy hepatoblastomu a diagnóza byla stanovena indikovaným molekulárně-genetickým vyšetřením v rámci diferenciální diagnózy hepatoblastomu. Molekulárně-genetickým vyšetřením byla u chlapce prokázána jednoznačně kauzální *de novo* mutace c.4438C>T (p.Gln1480*) APC genu. Ve shodě s dostupnými publikacemi, které se zabývají korelací genotyp-fenotyp, tato mutace může být asociována se zvýšeným rizikem desmoidních tumorů. Zvýšené riziko hepatoblastomu je ale uváděno v souvislosti s mutací v kodonech 457–1309, a toto se s nalezenou mutací neshoduje. Spektrum mutací APC genu, které zvyšují riziko hepatoblastomu, je zřejmě širší, než je dosud uváděno.

Závěr

Cílem práce je poukázat na možnou dědičnou etiologii hepatoblastomu. Hepatoblastom je vzácný maligní nádor raného dětského věku, jehož etiologie není zcela jasná, ale vždy by mělo být pomýšleno i na možnou genetickou etiologii, především tam, kde jsou přítomny i další abnormální nálezy. Současně je cílem poukázat na důležitost včasného syndromologického zařazení a následného molekulárně-genetického vyšetření při podezření na BWS a význam preventivního sledování těchto dětí již od narození. V případě hepatoblastomu jako jednoho z prvních klinických projevů APC asociované polypózy je možné díky včasné diagnostice zahájit u dítěte gastroenterologické sledování k včasné detekci závažných prekancerózních lézí v trávicím traktu ještě před jejich klinickými projevy. Následně je možná extrakce těchto lézí nebo preventivní kolektomie jako preventivní

opatření významného snížení rizika CRC. Jsou zvažovány i možnosti farmakologické léčby u pacientů s APC asociovanou polypózou, které dle některých dostupných studií snižují počet polypů a růst desmoidů. Tato léčba se ale vzhledem ke kardiovaskulárním komplikacím dlouhodobě nedoporučuje.

Literatura

1. Spector LG, Birch J. The epidemiology of hepatoblastoma. *Pediatr Blood Cancer* 2012; 59(5): 776–779. doi: 10.1002/pbc.24215.
2. Venkatramani R, Spector LG, Georgieff M et al. Congenital abnormalities and hepatoblastoma: a report from the Children's Oncology Group (COG) and the Utah Population Database (UPDB). *Am J Med Genet A* 2014; 164A(9): 2250–2255. doi: 10.1002/ajmg.a.36638.
3. Cohen MM Jr. Beckwith-Wiedemann syndrome: historical, clinicopathological, and etiopathogenetic perspectives. *Pediatr Dev Pathol* 2005; 8(3): 287–304.
4. Cooper WN, Luharia A, Evans GA et al. Molecular subtypes and phenotypic expression of Beckwith-Wiedemann syndrome. *Eur J Hum Genet* 2005; 13(9): 1025–1032.
5. Enklaar T, Zabel BU, Prawitt D. Beckwith-Wiedemann syndrome: multiple molecular mechanisms. *Expert Rev Mol Med* 2006; 8(17): 1–19.
6. Ilencikova D, Cizmarova M, Krajciová A et al. Clinical dysmorphic syndromes with tumorigenesis. *Klin Onkol* 2012; 25 (Suppl): S39–S48. doi: 10.14735/amko2012S39.
7. Shuman CB, Smith AC, Weksberg R. Beckwith-Wiedemann Syndrome. Initial posting: March 3, 2000; Last Update: December 14, 2010. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1394/>.
8. Rump P, Zeegers MP, van Essen AJ. Tumor risk in Beckwith-Wiedemann syndrome: a review and meta-analysis. *Am J Med Genet A* 2005; 136(1): 95–104.
9. Clericuzio CL, Chen E, McNeil DE et al. Serum alpha-fetoprotein screening for hepatoblastoma in children with Beckwith-Wiedemann syndrome or isolated hemihyperplasia. *J Pediatr* 2003; 143(2): 270–272.
10. Jasperson K, Burt RW. APC-associated polyposis conditions. Initial posting: December 18, 1998; Last Update: March 27, 2014. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1345/>.
11. Plevová P, Stekrova J, Kohoutová M et al. Familial adenomatous polyposis. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl): S16–S19.
12. Lanckohr C, Debiec-Rychter M, Muller O et al. Gardner fibroma: case report and discussion of a new soft tissue tumor entity. *Pathologie* 2010; 31(2): 97–105. doi: 10.1007/s00292-009-1260-y.
13. Nieuwenhuis MH, Vasen HF. Correlations between mutation site in APC and phenotype of familial adenomatous polyposis (FAP): a review of the literature. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007; 61(2): 153–161.
14. Giardiello FM, Petersen GM, Brensinger JD et al. Hepatoblastoma and APC gene mutation in familial adenomatous polyposis. *Gut* 1996; 39(6): 867–869.
15. Hirschman BA, Pollock BH, Tomlinson GE. The spectrum of APC mutations in children with hepatoblastoma from familial adenomatous polyposis kindreds. *J Pediatr* 2005; 147(2): 263–266.
16. Aretz S, Uhlhaas S, Goergens H et al. MUTYH-associated polyposis: 70 of 71 patients with biallelic mutations present with an attenuated or atypical phenotype. *Int J Cancer* 2006; 119(4): 807–814.
17. Guillem JG, Wood WC, Moley J et al. ASCO/SsO review of current role of risk-reducing surgery in common hereditary cancer syndromes. *J Clin Oncol* 2006; 24(28): 4642–4660.
18. Herraiz M, Barbesino G, Faquin W et al. Prevalence of thyroid cancer in familial adenomatous polyposis syndrome and the role of screening ultrasound examinations. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5(3): 367–373.
19. Bertagnolli MM, Eagle CJ, Zauber AG et al. Celecoxib for the prevention of sporadic colorectal adenomas. *N Engl J Med* 2006; 355(9): 873–884.
20. Cooper K, Squires H, Carroll C et al. Chemoprevention of colorectal cancer: systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess* 2010; 14(32): 1–206.
21. Solomon SD, Wittes J, Finn PV et al. Cardiovascular risk of celecoxib in 6 randomized placebo-controlled trials: the cross trial safety analysis. *Circulation* 2008; 117(16): 2104–2113. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.764530.
22. Giardiello FM, Yang VW, Hyland LM et al. Primary chemoprevention of familial adenomatous polyposis with sulindac. *N Engl J Med* 2002; 346(14): 1054–1059.
23. Lynch PM, Ayers GD, Hawk E et al. The safety and efficacy of celecoxib in children with familial adenomatous polyposis. *Am J Gastroenterol* 2010; 105(6): 1437–1443.
24. Gega M, Yanagi H, Yoshikawa R et al. Successful chemotherapeutic modality of doxorubicin plus dacarbazine for the treatment of desmoid tumors in association with familial adenomatous polyposis. *J Clin Oncol* 2006; 24(1): 102–105.

Identifikace rodiny s nosičstvím germinální delece genu *SUFU* na podkladě diagnózy desmoplastického medulloblastomu u batolete

Identification of a Family with *SUFU* Germline Deletion Based on a Case of Desmoplastic Medulloblastoma in an Infant

Šoukalová J.¹, Vejmelková K.², Cermanová T.³, Kašíková K.¹, Mikulášová A.^{1,4}, Janyšková H.⁴, Melichárková K.², Pavelka Z.², Ježová M.⁵, Pospíšilová Š.³, Kuglík P.^{1,4}, Valášková I.¹, Gaillyová R.¹, Štěrba J.², Zitterbart K.²

¹ Oddělení lékařské genetiky, FN Brno

² Klinika dětské onkologie LF MU a FN Brno

³ Centrum molekulární biologie a genové terapie, Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

⁴ Ústav experimentální biologie, PŘF MU, Brno

⁵ Ústav patologie, LF MU a FN Brno

Souhrn

Východiska: Medulloblastom, embryonální neuroektodermální tumor mozečku, je nejčastější zhoubný nádor mozku u dětí. Ročně je diagnostikováno v České republice přibližně 15 případů. Dle histopatologické klasifikace Světové zdravotnické organizace z roku 2007 jsou rozeznávány následující tři podtypy medulloblastomu: klasický, desmoplastický (a jeho krajní varianta, medulloblastom s převažující nodularitou) a velkobuněčný/anaplastický medulloblastom. Molekulárně-genetické analýzy ukázaly, že existují čtyři hlavní podskupiny medulloblastomu označované WNT/Wingless, SHH/sonic Hedgehog, Group 3 a Group 4. V nádorové tkáni medulloblastomů podskupiny SHH se vyskytují somatické mutace genů *SHH*, *PTCH1*, *SUFU*, *SMO* a *TP53*, přičemž u dětí mladších tří let jsou nacházeny nejčastěji mutace genů *PTCH1* a *SUFU*. Převážná většina medulloblastomů jsou sporadická onemocnění, jen v asi 5–10 % případů se nádor vyskytuje jako součást dědičného genetického syndromu. **Případ:** Prezентujeme případ pacientky, u které byl ve věku 21 měsíců diagnostikován nádor zadní jámy lební. Histologické vyšetření prokázalo desmoplastický/nodulární typ medulloblastomu. Léčba zahrnovala radikální neurochirurgickou operaci a adjuvantní chemoterapii, dítě zůstává po léčbě v kompletní remisi onemocnění. Metodou array-CGH byla v DNA izolované z tkáně tumoru detekována bíaleická parciální delece genu *SUFU* (lokus 10q24.32), přičemž monoalelická delece části genu *SUFU* byla nalezena i v DNA izolované z lymfocytů periferní krve pacientky. Nálezy byly u pacientky ověřeny nezávisle metodou kvantitativní PCR (qPCR). Vyšetření genu *SUFU* bylo provedeno také u rodičů a starší sestry pacientky. Ztráta jedné alely v oblasti genu *SUFU* byla prokázána u matky pacientky. Výsledky DNA analýzy tak ukazují na germinální charakter mutace a její hereditární přenos. Předpokládáme souvislost tohoto nálezu s opakovaným výskytem nádorů mozku v rodě matky pacientky. **Závěr:** Zárodečné mutace *SUFU* genu jsou zmiňovány jako predispozice ke vzniku desmoplastických medulloblastomů u dětí mladších tří let, bazaliomů, bazocelulárních karcinomů a meningeomů. Dědičnost predispozice je autozomálně dominantní s neúplnou penetrancí. Dosud ale nebyla stanovena jednotná, na důkazech založená doporučení pro sledování rizik u nosičů této zárodečné mutace. Naš návrh vychází jak z rodinné situace, tak z podobných familiárních případů popsanych v odborné literatuře. Vzhledem k tomu, že germinální mutace genu *SUFU* jsou zodpovědné za přibližně 50 % všech desmoplastických medulloblastomů u dětí do tří let věku, je genetické testování mutací genu *SUFU* doporučeno u všech dětí mladších tří let s desmoplastickým medulloblastomem, resp. medulloblastomem molekulární podskupiny SHH.

Klíčová slova

medulloblastom – hereditární nádorové syndromy – genetické testování – delece genu – gen *SUFU*

Publikace vznikla na Masarykově univerzitě v rámci projektu MUNI/A/1552/2014 podpořeného z prostředků účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum, kterou poskytlo MŠMT v roce 2015, a dále s podporou prostředků IRP z LF MU (K. Z.) a MZ ČR: AZV NV15-30657A a RVO (FNBr, 6526705).

This publication was written at Masaryk university as part of the project MUNI/A/1552/2014 with the support of the Specific University Research Grant, as provided by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic in the year 2015, with the support by funds from the Faculty of Medicine MU to junior researcher K. Z., and by Ministry of Health of the Czech Republic, grants AZV NV15-30657A and RVO (FNBr, 6526705).

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 recommendation for biomedical papers.



MUDr. Karel Zitterbart, Ph.D.
Klinika dětské onkologie
LF MU a FN Brno
Černopolní 9
613 00 Brno
e-mail: kzitter@med.muni.cz

Obdrženo/Submitted: 19. 8. 2015

Přijato/Accepted: 30. 9. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2016583>

Summary

Background: Medulloblastoma, an embryonal neuroectodermal tumor of the cerebellum, is the most common malignant brain tumor in children. There are approximately 15 cases diagnosed in the Czech Republic each year. The recent World Health Organization classification recognizes several histopathological subtypes of medulloblastoma: classical, desmoplastic/nodular with its extensive-nodularity variant, and anaplastic/large-cell variant. Further molecular analysis identified four basic subgroups of medulloblastoma: WNT, SHH, Group 3, and Group 4. The subgroup of SHH medulloblastoma is associated with somatic mutations of *SHH*, *PTCH1*, *SUFU*, *SMO* and *TP53*, while the most common mutations found in infants up to three years of age were *PTCH1* and *SUFU*. The majority of medulloblastomas are sporadic diseases, whereas only about 5–10% of all cases occur in connection with hereditary genetic syndromes. **Case:** We present a case of a 21-months old girl diagnosed with a localized posterior fossa tumor. The histopathological examination revealed a desmoplastic/nodular medulloblastoma. The treatment comprised a radical extirpation of the tumor followed by adjuvant chemotherapy. With the use of array-CGH, a partial biallelic deletion of the *SUFU* gene (locus 10q24.32) was detected in the tumor DNA, whereas a monoallelic deletion was found in the peripheral lymphocyte DNA of the patient. These findings were confirmed by an independent qPCR method. Monoallelic germline deletion of *SUFU* was also identified in the patient's mother, who was a healthy carrier. Pedigree of the family suggested a transition of the germline deletion of *SUFU*, since another brain tumors (including one case diagnosed before the age of three years) were identified in previous generations. **Conclusion:** Germline mutations in *SUFU* gene are believed to predispose to infant desmoplastic/nodular medulloblastomas, basal cell carcinomas and meningiomas. The susceptibility gene shows autosomal dominant inheritance with an incomplete penetrance. There is no evidence-based surveillance strategy suggested for the carriers of germline *SUFU* mutations/deletions so far. Our recommendation is based both on a family history of our patient and similar cases described in the literature. Since the germinal mutations in *SUFU* are responsible for up to 50% of all desmoplastic medulloblastomas in children under three years of age, genetic testing of *SUFU* should be encouraged in this population of patients.

Key words

medulloblastoma – hereditary cancer syndromes – genetic testing – gene deletion – *SUFU* gene

Úvod

V ČR je ročně diagnostikován nádor přibližně u 350 dětí. Nádory mozku představují až 30 % všech nádorů u dětí, spolu s akutními leukemiemi jsou v této věkové kategorii nejčastějšími nádorovými onemocněními [1]. Nádory mozku u dětí jsou velmi heterogenní skupinou, jednotlivé histologické typy se odlišují obvyklou lokalizací nádoru, typickým věkem dítěte při diagnóze, symptomatologií i biologickým chováním tumoru [2,3].

Medulloblastom je nejčastější zhoubný nádor mozku dětí. Ročně je diagnostikováno v ČR přibližně 15 případů. Z histopatologického hlediska jde o primitivní neuroektodermální nádor vyrůstající z mozečku (grade 4), se schopností vytvářet vzdálené metastázy v mozkomíšním moku, na mozkových obalech či v parenchymu centrální nervové soustavy (CNS). Dle histopatologické klasifikace Světové zdravotnické organizace z roku 2007 jsou rozeznávány následující podtypy: klasický medulloblastom, velkobuněčný/anaplastický medulloblastom a desmoplastický medulloblastom s jeho krajní variantou, s převažující nodularitou [4,5].

Multimodální léčba medulloblastomu zahrnuje chirurgickou resekci, radioterapii a chemoterapii. Intenzita terapie

závisí na věku dítěte, rozsahu resekce a přítomnosti metastáz. Moderní neurochirurgické postupy, nové techniky radioterapie a kombinovaná adjuvantní chemoterapie zlepšily historicky neuspokojivou prognózu nemoci. Dlouhodobě dnes přežívá přibližně 70–81 % pacientů standardního rizika (dítě starší tří let, s nádorem lokalizovaným a radikálně odoperovaným) a 30–70 % pacientů vysokého rizika [2,3,6]. Přesto však, zejména u dětí mladších tří let s nálezem klasického medulloblastomu a metastatického medulloblastomu, nelze považovat léčebné výsledky za uspokojivé. Závažná je pozdní toxicita terapie u většiny přeživších v oblasti tělesné, kognitivní i psychosociální [7].

Poznání molekulární podstaty nádorového onemocnění vedlo k definici čtyř molekulárních podskupin medulloblastomu: WNT/Wingless, SHH/Sonic Hedgehog, Group 3 a Group 4 [2,6,8]. Dětsí pacienti s medulloblastomem podtypu WNT mají nejlepší prognózu, zatímco pacienti s medulloblastomem podskupiny 3 mají v retrospektivních analýzách prognózu nejhorší. Z pohledu níže prezentované kazuistiky je významné, že desmoplastická varianta medulloblastomu se vyskytuje především u kojenců a batolat: dle metaanalýzy z roku 2012 ve 42 % případů ve srovnání s 28 % v sou-

boru bez věkového rozlišení [6]. Molekulárně-geneticky jde u desmoplastické varianty medulloblastomu kojenců a batolat v cca 90 % o nádor s dysregulací signální dráhy Hedgehog (podskupina SHH) [2]. U medulloblastomů podskupiny SHH se setkáváme v nádorové tkáni s mutacemi genů *SHH*, *PTCH1*, *SUFU*, *SMO* a *TP53*, přičemž u kojenců a batolat jsou nejčastější mutace v genech *PTCH1* a *SUFU* [8,9].

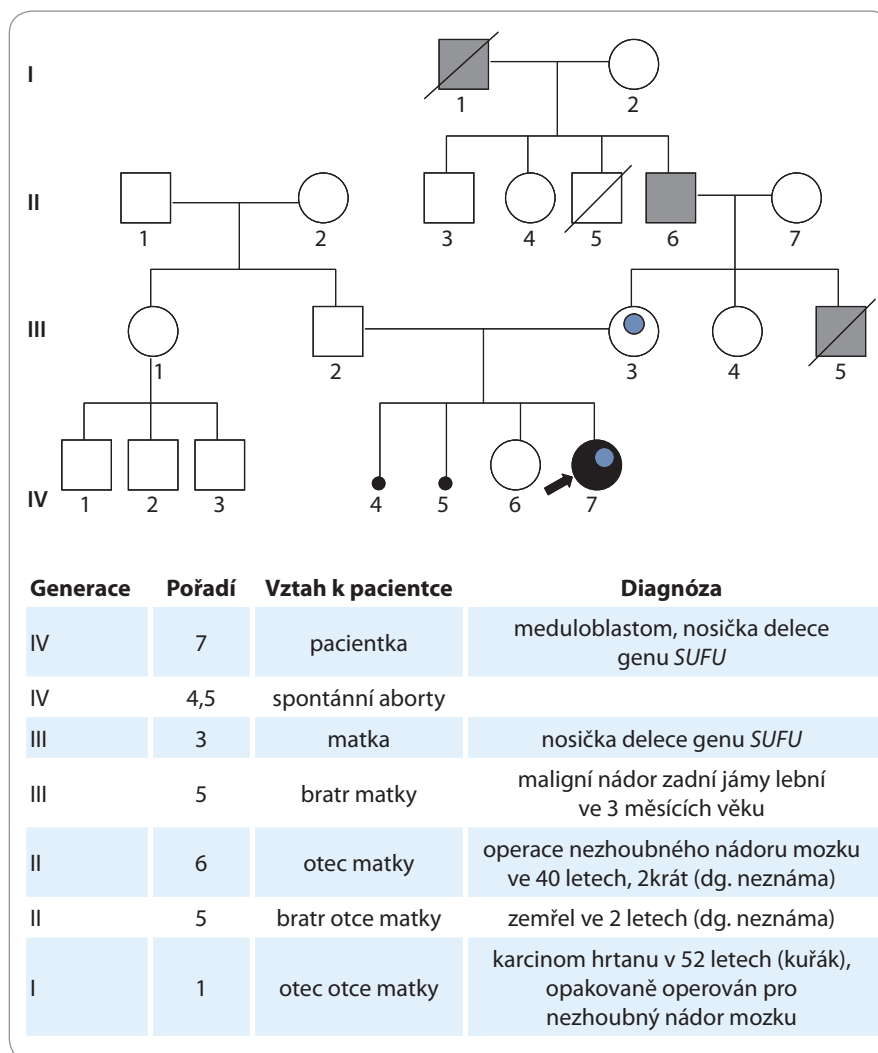
Převážná většina medulloblastomů jsou sporadická onemocnění. Z hlediska nádorových predispozičních stavů je však zcela zásadní skutečnost, že **část medulloblastomů se vyskytuje u dětí s hereditárními genetickými syndromy** (definovaná germinální mutace nádorových supresorů). Procento těchto případů není doposud zcela jasně určeno, dle střídavých odhadů jde o 5–10 % dětských pacientů s medulloblastomem [10]. Jedná se především o **Gorlinův syndrom**, nazývaný též syndrom bazocelulárního névu (zárodečné mutace *PTCH1*, *PTCH2*). Přítomny u tohoto syndromu bývají kraniofaciální a skeletální anomálie, bazaliomy kůže a desmoplastický medulloblastom. Zárodečné mutace genu *SUFU* jsou taktéž asociovány s některými fenotypovými rysy Gorlinova syndromu, případně též s familiárními meningeomy [11–14]. Dědič-

nost je autozomálně dominantní s neúplnou penetrancí. Dalšími ze známých hereditárních nádorových syndromů, u nichž bývá meduloblastom přítomen, jsou **Li-Fraumeniho syndrom** (*TP53*), **syndrom konstitučního deficitu mismatch repair (MMR) genů** (CMMR-D, Turcotův syndrom typ 1), **Fanconiho anémie** (*BRCA2*, *PALB2*) a **Turcotův syndrom typ 2** (familiární adenomatózní polypóza – APC) [10].

Popis případu

Ve věku 1 roku a 9 měsíců se u dívky rozvíjí mozečková symptomatologie (ztráta dosavadního pohybového stereotypu, nejistota sedu a chůze), přidávají se symptomy intrakraniální hypertenze (zvracení, bolesti hlavy). Zobrazovacím vyšetřením byl diagnostikován nádor zadní jámy lební, došetření prokázalo lokalizované onemocnění. Primární nádor byl neurochirurgem radikálně odstraněn. Histologicky byl popsán desmoplastický/nodulární typ meduloblastomu. Adjuvantní léčba byla vedena s kurativním záměrem dle mezinárodního protokolu Children's Oncology Group (ACNS0334), zahrnovala tři indukční bloky konvenční kombinované chemoterapie (vinkristin, etoposid, cyklofosfamid, cisplatina) a tři bloky konsolidační chemoterapie (thiotepa, karboplatina) v myeloablativních dávkách s podpůrnou reinfuzí autologních progenitorů krvetvorby. Adjuvantní léčba radioterapií nebyla protokolárně v této věkové kategorii v případě dosažení kompletní remise onemocnění indikována. Akutní hematologická a infekční toxicita léčby stupně 3 a 4 byla očekávána. Dívka zůstává v remisi, doba sledování od ukončení léčby je v tuto chvíli krátká, čtyři měsíce.

Z osobní anamnézy pacientky je třeba zdůraznit následující skutečnosti: dívka se rodí ze 4. rizikové gravidity, od 23. týdne těhotenství byla matka opakovaně hospitalizována pro inkompetenci děložního hrdla. Porod proběhl v 38. týdnu gravidity, byl indukován pro preeklampsii a ukončen akutně sekci při alteraci ozev plodu. Porodní hmotnost byla 2 650 g a porodní délka 48 cm, skóre dle Apgarové 2-8-10, dívka byla krátce uložena do inkubátoru v kyslí-



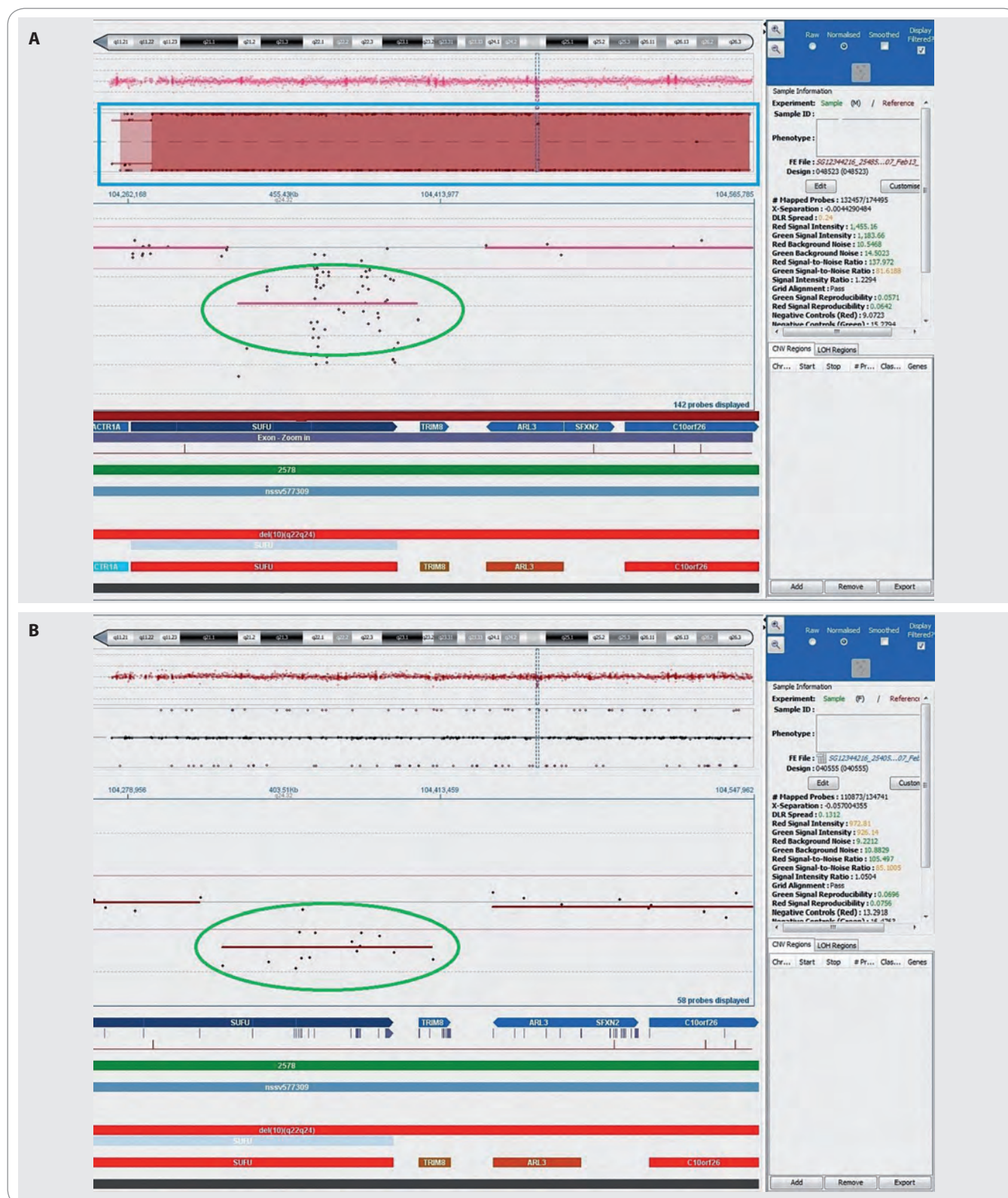
Obr. 1. Genealogické schéma.

kové atmosféře, následná poporodní adaptace již byla bez komplikací, novorozenecký ikterus byl léčen krátkodobě fototerapií. Do domácího ošetřování mohla být dívka propuštěna již šest dní po porodu. Psychomotorický vývoj probíhal do manifestace onemocnění bez pozoruhodností.

Údaje z rodinné anamnézy jsou následující: matka dívky má 31 let, je sledována „se štítnou žlázou“, bez nutnosti hormonální substituce, v dětství prodělala obrnu lícního nervu. V gynekologické anamnéze uvádí kromě dvou porodů další dvě neúspěšná těhotenství, první gravidita skončila spontánním abortem v 17. týdnu při septickém onemocnění, druhé těhotenství zamlklo v 10. týdnu. Otec pacientky má 36 let, je zdravý. Starší sestra pacientky má

nyní 3,5 roku, byla narozena předčasně v 26. týdnu těhotenství, porodní délka 34 cm, porodní hmotnost 700 g. Za nejdůležitější skutečnost ve vztahu k prezentované kazuistice považujeme udávaný opakovaný výskyt nádorů CNS v rodě matky, viz genealogické schéma (obr. 1).

Rodina byla vyšetřena v genetické ambulanci. Eutrofičká pacientka má relativní makrocefalii (98. percentil), s frontální prominencí. Přítomen je lehký hypertelorismus, další somatické nápadnosti nejsou patrné. Faciálně je významná podoba s matkou, která má také makrokranii. Otec i starší sestra pacientky mají obvod hlavy normální. U pacientky bylo indikováno klasické cytogenetické vyšetření (karyotyp), celogenomové vyšetření metodou array-CGH a sekvenování genu *TP53*, zvažována byla i dia-



Obr. 2. Array-CGH, grafický výstup.

A. vyšetření nádorové DNA, q raménko chromozomu 10; B. vyšetření DNA získané z periferní krve, q raménko chromozomu 10. Na obrázcích A i B je vyobrazeno q raménko chromozomu 10 s jasně patrnou delecí části genu *SUFU* mezi lokusy 10q24.2 a 10q25.1 (zvětšení v zeleném ovále). Modrým obdélníkem je zvýrazněna ztráta heterozygosity v případě nádorové tkáně, nicméně beze změny v ploidii. Došlo tedy ke ztrátě normálního q raménka chromozomu 10 a k duplikaci q raménka chromozomu 10 nesoucímu delecí části genu *SUFU*.

agnostika genu *PTCH* při podezření na Gorlinův syndrom. Cytogenetickým vyšetřením byl detekován normální ženský karyotyp. Molekulárně-genetické vyšetření (DNA izolovaná z lymfocytů periferní krve) neprokázalo žádnou mutaci genu *TP53*, která by byla kauzální příčinou Li-Fraumeniho syndromu.

Současně byla zajištěna i vyšetření z tkáně meduloblastomu. **Zásadní informaci přineslo vyšetření nádoru metodou celogenomové hybridizace.** Metoda array-CGH odhalila v tkáni nádoru **bialelickou delecí části genu *SUFU*** na chromozomu 10, lokus 10q24.32 (104,315,002kb-104,402,706kb). Vzhledem ke známé skutečnosti, že germinální mutace či delecce genu *SUFU* jsou zodpovědné za přibližně 50 % všech desmoplastických meduloblastomů u dětí mladších tří let věku [9], a vzhledem ke genealogickým údajům v rodině probandky jsme zvažovali hereditární nádorovou predispozici a byla vyšetřena i DNA izolovaná z lymfocytů periferní krve pacientky. Zde metoda array-CGH prokázala **monoalelickou delecí části genu *SUFU***. Grafický výstup vyšetření array-CGH ukazuje obr. 2.

Ztráta detekovaná v oblasti genu *SUFU* byla následně testována a ověřena pomocí kvantitativní PCR (qPCR) u pacientky, rodičů a sestry pacientky. Zjištěné hodnoty R jsou shrnuty v tab. 1. Pomocí qPCR byla potvrzena ztráta jedné alely v oblasti genu *SUFU* ve vzorku DNA z periferní krve pacientky ($R = 0,495$) a ztráta obou alel této oblasti ve vzorku DNA z tumoru pacientky ($R = 0,025$). Ztráta jedné alely oblasti genu *SUFU* byla rovněž detekována ve vzorku DNA z periferní krve matky ($R = 0,470$). Ve vzorcích DNA z periferní krve otce a sestry pacientky byl potvrzen diploidní charakter testované oblasti genu *SUFU*. Ve všech vzorcích byl potvrzen diploidní charakter kontrolní oblasti v genu *ARL3* ($R \sim 1,000$).

Detailně je metodika obou vyšetření popsána v následujícím textu:

Array-CGH: vyšetřována byla hluboce zamražená tkáň tumoru a periferní krev pacientky. Z těchto materiálů byla izolována DNA přes kolonky kitu Invisorb® Spin Tissue Mini Kit (Qiagen). Jednotlivé kroky vyšetření DNA pomocí celogenomové hybridizace byly provedeny podle

Tab. 1. Výsledné hodnoty R zjištěné pomocí techniky qPCR, jež udávají počet kopií DNA v analyzované oblasti u jednotlivých členů rodiny.

Pacient	Původ DNA	Analyzovaná oblast v oblasti genu	R hodnota	Počet kopií
probandka	periferní krev	<i>ARL3</i>	0,953	2
		<i>SUFU</i>	0,495	1
	meduloblastom	<i>ARL3</i>	0,912	2
		<i>SUFU</i>	0,025	0
matka	periferní krev	<i>ARL3</i>	0,994	2
		<i>SUFU</i>	0,470	1
otec	periferní krev	<i>ARL3</i>	1,042	2
		<i>SUFU</i>	1,230	2
sestra	periferní krev	<i>ARL3</i>	1,022	2
		<i>SUFU</i>	0,940	2

manuálu výrobce použitého čipu (CytoSure™ Array Handbook; 4 × 180 k formats). Získaná DNA tumorové tkáně pacientky i referenční DNA (Human Genomic DNA, Female; Promega) byly značeny fluorochromy Cy5, resp. Cy3 (CytoSure Genomic DNA Labelling Kit; Oxford Gene Technology). Značené DNA byly společně hybridizovány při 65 °C po dobu 40 hod na oligonukleotidové fragmenty uchycené na čipu CytoSure Cancer + SNP Array 4 × 180 k (Oxford Gene Technology). Čip byl scanován na přístroji SureScan (Agilent) a vyhodnocen pomocí softwaru CytoSure Interpret Software (Oxford Gene Technology). Tento software automaticky identifikuje každý spot na čipu a stanoví poměr obou fluorochromů. Jestliže je log2 normalizovaného poměru fluorochromů větší než 0, hovoříme o ziscích, v opačném případě o ztrátách genetického materiálu.

qPCR: Počet kopií genu *SUFU* byl ověřován pomocí relativní kvantifikace DNA metodou qPCR. Testovány byly vzorky DNA izolované z periferní krve a tumoru pacientky, z periferní krve rodičů a sestry pacientky. Celkem 10 ng každé testované DNA a 10 ng komerčně dostupné referenční DNA (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) bylo smícháno s 12,5 µl Power SYBRgreen PCR Master Mix (Life Technologies, Paisley, UK), 2,5 µl přímého primeru (5 µM) a 2,5 µl zpětného primeru (5 µM) do celkového

objemu 25 µl. V každém vzorku DNA byly amplifikovány odděleně tři genomové oblasti ohraničené třemi páry primerů (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA; referenční genom GRCh37/hg19): 1. oblast v provozním genu *GAPDH* (lokus 12p13.31; přímý primer 5'-CTCCCACCTTTCTCATCC-3'; zpětný primer 5'-CCACATCACCCCTCTACC-3'), 2. kontrolní diploidní oblast v blízkosti chromozomové aberace v genu *ARL3* (lokus 10q24.32, přímý primer 5'-CGGTCATCACCAACAATCAG-3'; zpětný primer 5'-ATTTTACGCCGTCTTGGTGT-3') a 3. oblast v genu *SUFU* (lokus 10q24.32, přímý primer 5'-GGAAGAGCCTCCCCTCTTA-3'; zpětný primer 5'-AGGACAAAGTGCTCCGGATA-3'). Kvantifikace byla provedena pomocí přístroje StepOne™ Real-Time PCR System (Life Technologies, Paisley, UK) při následujícím nastavení průběhu reakce: 10 min při 95 °C, 40 cyklů 15 sekund při 95 °C a 60 sekund při 60 °C. Vznik specifických amplifikačních produktů byl testován pomocí 1% agarové elektroforézy. Získaná data qPCR byla analyzována pomocí softwaru StepOne Software v2.3 (Life Technologies, Paisley, UK) generující pro každou amplifikační reakci hodnotu CT (počet cyklů, při kterém fluorescence překročí prahovou hodnotu). Počet kopií dané testované oblasti byl pak stanoven na základě výpočtu hodnoty $R = 2^{-\Delta\Delta CT}$, kde $\Delta\Delta CT = \Delta CT$ vzorku – ΔCT reference,

kde $\Delta C_T = C_T$ analyzované oblasti – C_T provozního genu. Jako mezní hodnoty R byly použity $> 1,3$ pro přítomnost třech kopií testované oblasti a $< 0,7$ pro přítomnost jedné kopie testované oblasti.

Diskuze

V našem případě desmoplastického meduloblastomu u batolete jsme metodou array-CGH prokázali v periferní krvi pacientky ztrátu části jedné alely genu *SUFU* a ztrátu obou alel v nádorové tkáni, tato zjištění jsme následně potvrdili pomocí techniky qPCR. Ztráta jedné alely v oblasti genu *SUFU* byla detekována rovněž v periferní krvi matky pacientky. Z těchto výsledků lze usuzovat, že ztráta jedné alely genu *SUFU* u probandky má germinální charakter oocytárního původu, zatímco ztráta druhé alely tohoto genu má charakter somatický. Delece části genu *SUFU* je v příčinné souvislosti se vznikem desmoplastického/nodulárního meduloblastomu. Většina případů germinální nádorové predispozice je dána heterozygotními mutacemi v genu *SUFU* vedoucími ke ztrátě funkce proteinu. Stejně jako v našem případě však byly identifikovány i větší delece: je popsána 2,5 Mb delece zahrnující *SUFU* u pacienta s meduloblastomem a Gorlin-like fenotypem [11,12] i velká heterozygotní delece *SUFU* v rodině s familiálním meduloblastomem [14].

Z genealogických údajů předpokládáme, že zárodečná mutace genu *SUFU* byla příčinou výskytu maligního tumoru mozku v kojeneckém věku u zemřelého bratra matky pacientky a že matka pacientky získala tuto zárodečnou mutaci od svého otce. Tento předpoklad by bylo potřeba ověřit vyšetřením příbuzných matky pacientky. Bylo proto doporučeno vyšetření obou rodičů a sestry matky pacientky vzhledem k 50% riziku nosičství této zárodečné mutace. Tato vyšetření zatím neproběhla.

Zárodečné mutace *SUFU* jsou příčinou nejen predispozice ke vzniku desmoplastických meduloblastomů u dětí mladších tří let, ale také predispozicí k bazaliomům a basocelulárním karcinomům nastupujícím už v druhé dekádě života a meningeomů nastupujícím

již v třetí dekádě života [14,15]. Dědičnost predispozice je autozomálně dominantní s neúplnou penetrancí. S ohledem na zvýšené riziko výskytu nádorů spjatých s germinální mutací či delecí genu *SUFU* je důležitá sekundární onkologická prevence u jejich nositelů. Dosud ale nebyla stanovena jednotná, na důkazech založená doporučení k časné detekci nádorů spjatých s nosičstvím této zárodečné mutace. U malých dětí se známým nosičstvím germinální mutace/delece *SUFU* lze odůvodněně doporučit neurologické vyšetření každé tři měsíce a při atypickém nález, resp. při nově vzniklých symptomech pak neodkladné provedení magnetické rezonance (MRI) mozku. I asymptomatickým nosičům mutace je navrhováno screeningové vyšetření MRI mozku každé tři měsíce od narození do ukončeného druhého, resp. třetího roku života [14]. Dále lze nosičům odůvodněně doporučit zejména celoživotní důslednou radioprotekci a fotoprotekci a preventivní prohlídky kožním lékařem jedenkrát ročně jako primární a sekundární prevenci kožních nádorů. U fertilních žen se doporučuje roční preventivní gynekologické vyšetření a ultrazvukové vyšetření malé pánve a břicha (riziko ovariálních fibromů), v dospělosti pak lze navrhnout již od konce druhé, resp. začátku třetí dekády u všech nosičů mutace každoroční neurologické vyšetření a screeningové MRI vyšetření mozku k včasné identifikaci dalších možných nádorů CNS, meningeomů [15].

Závěr

Meduloblastom je nejčastější zhoubný nádor mozku u dětí. U části případů, dle střízlivých odhadů v 5–10 %, se vyskytuje ve spojitosti s hereditárními genetickými syndromy. Vedle Li-Fraumeniho syndromu, syndromu konstitučního deficitu mismatch repair (MMR) genů, Fanconiho anémie a Turcotova syndromu typu 2 jde především o Gorlinův syndrom (syndrom bazocelulárního névu). Nejnovější práce uvádějí, že riziko meduloblastomu u Gorlinova syndromu je relativně nízké, pouhá 2 %. Naopak, germinální mutace genu *SUFU* jsou zodpovědné až za 50 % všech desmoplastic-

kých meduloblastomů u dětí mladších tří let věku, a je proto doporučeno genetické testování této hereditární nádorové predispozice u všech dětí mladších tří let s desmoplastickým meduloblastomem, resp. meduloblastomem molekulární podskupiny SHH.

Literatura

1. Bajčiová V, Šmelhaus V, Kodytková D et al. Dětská onkologie se musí opírat o spolehlivá data. Medical Tribune 2011; 7(3): C2–C3.
2. Gajjar A, Bowers DC, Karajannis MA et al. Pediatric brain tumors: innovative genomic information is transforming the diagnostic and clinical landscape. J Clin Oncol 2015; 33(27): 2986–2998. doi: 10.1200/JCO.2014.59.9217.
3. Pavelka Z, Zitterbart K. Nádory centrálního nervového systému u dětí. Neurol Prax 2011; 12(1): 52–58.
4. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. Acta Neuropathol 2007; 114(2): 97–109.
5. Sumerauer D. Neuropathological diagnostics in pediatric oncology from the clinical point of view. Cesk Patol 2012; 48(2): 72–74.
6. Kool M, Korshunov A, Remke M et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: an international meta-analysis of transcriptome, genetic aberrations, and clinical data of WNT, SHH, Group 3, and Group 4 medulloblastomas. Acta Neuropathol 2012; 123(4): 473–484. doi: 10.1007/s00401-012-0958-8.
7. Moxon-Emre I, Bouffet E, Taylor MD et al. Impact of craniospinal dose, boost volume, and neurologic complications on intellectual outcome in patients with medulloblastoma. J Clin Oncol 2014; 32(17): 1760–1768. doi: 10.1200/JCO.2013.52.3290.
8. Kool M, Jones D, Jager N et al. Genome sequencing of SHH medulloblastoma predicts genotype-related response to smoothened inhibition. Cancer Cell 2014; 25(3): 393–405. doi: 10.1016/j.ccr.2014.02.004.
9. Brugières L, Remenieras A, Pierron G et al. High frequency of germline *SUFU* mutations in children with desmoplastic/nodular medulloblastoma younger than 3 years of age. J Clin Oncol 2012; 30(17): 2087–2093. doi: 10.1200/JCO.2011.38.7258.
10. Scheinemann K, Bouffet E (eds). Pediatric neuro-oncology. New York: Springer-Verlag 2015.
11. Taylor MD, Liu L, Raffel C et al. Mutations in *SUFU* predispose to medulloblastoma. Nat Genet 2002; 31(3): 306–310.
12. Pastorino L, Ghiorzo P, Nasti S et al. Identification of a *SUFU* germline mutation in a family with Gorlin syndrome. Am J Med Genet A 2009; 149A(7): 1539–1543. doi: 10.1002/ajmg.a.32944.
13. Brugières L, Pierron G, Chompret A et al. Incomplete penetrance of the predisposition to medulloblastoma associated with germ-line *SUFU* mutations. J Med Genet 2010; 47(2): 142–144. doi: 10.1136/jmg.2009.067751.
14. Kijima C, Miyashita T, Suzuki M et al. Two cases of nevoid basal cell carcinoma syndrome associated with meningioma caused by a *PTCH1* or *SUFU* germline mutation. Fam Cancer 2012; 11(4): 565–570. doi: 10.1007/s10689-012-9548-0.
15. Smith MJ, Beetz C, Williams SG et al. Germline mutations in *SUFU* cause Gorlin syndrome-associated childhood medulloblastoma and redefine the risk associated with *PTCH1* mutations. J Clin Oncol 2014; 32(36): 4155–4161. doi: 10.1200/JCO.2014.58.2569.

Fanconiho anémie, komplementační skupina D1 v důsledku bialelické mutace genu *BRCA2* – kazuistika

Fanconi Anemia, Complementation Group D1 Caused by Biallelic Mutations of *BRCA2* Gene – Case Report

Puchmajerová A.¹, Švojgr K.², Novotná D.¹, Macháčková E.³, Sumerauer D.², Smíšek P.², Kodet R.⁴, Kynčl M.⁵, Křepelová A.¹, Foretová L.³

¹ Ústav biologie a lékařské genetiky, 2. LF UK a FN v Motole, Praha

² Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN v Motole, Praha

³ Oddělení genetiky a epidemiologie nádorů, Masarykův onkologický ústav, Brno

⁴ Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK a FN v Motole, Praha

⁵ Klinika zobrazovacích metod 2. LF UK a FN v Motole, Praha

Souhrn

Fanconiho anémie je vzácné autozomálně recesivně dědičné onemocnění, klinicky a geneticky heterogenní, charakterizováno typickými klinickými projevy: malý vzrůst, mikrocefalie, skeletální anomálie, abnormální kožní pigmentace, opoždění vývoje, vrozené srdeční vady, vrozené vady ledvin a jiné. V první dekádě života se manifestuje pancytopenií, která vede k selhání kostní dřeně. Pacienti s Fanconiho anémií mají zvýšené riziko hematologických malignit a solidních tumorů. Diagnóza Fanconiho anémie je založena na cytogenetickém vyšetření, které prokazuje zvýšený výskyt spontánních chromozomálních aberací, jejichž počet stoupá po působení diepoxybutanu nebo mitomycinu C. Fanconiho anémie je heterogenní onemocnění, dosud je popsáno 15 komplementačních skupin, každá z nich je způsobena mutacemi některého z 15 kauzálních genů. Pro komplementační skupinu D1 (FANCD1) není typickým projevem, na rozdíl od ostatních skupin, selhávání kostní dřeně, ale časné se manifestující leukemie a specifické solidní tumory, nejčastěji meduloblastom a Wilmsův tumor ledvin.

Klíčová slova

Fanconiho anémie – komplementační skupina – FANCD1 – gen *BRCA2* – leukemie – Wilmsův tumor – meduloblastom

Summary

Fanconi anemia is a rare autosomal recessive disorder, clinically and genetically heterogeneous, characterized by typical clinical features, such as short stature, microcephaly, skeletal abnormalities, abnormal skin pigmentations, developmental delay and congenital heart, kidney anomalies etc. Pancytopenia leading to bone marrow failure occurs in the first decade. Patients with Fanconi anemia have a high risk of hematologic malignancies and solid tumors. The diagnosis of Fanconi anemia is based on cytogenetic testing for increased rates of spontaneous chromosomal breakage and increased sensitivity to diepoxybutane or mitomycin C. Fanconi anemia is a heterogeneous disorder, at least 15 complementation groups are described, and 15 genes in which mutations are responsible for all of the 15 Fanconi anemia complementation groups have been identified. Unlike other Fanconi anemia complementation groups, for complementation group D1 (FANCD1), the bone marrow failure is not a typical feature, but early-onset leukemia and specific solid tumors, most often medulloblastoma and Wilms tumor, are typical for this complementation group.

Key words

Fanconi anemia – complementation group – FANCD1 – *BRCA2* gene – leukemia – Wilms tumor – medulloblastoma

Práce byla realizována za podpory projektů NF-CZ11-PDP-3-003-2014, MZ ČR – RVO, FN v Motole 00064203 a OPBK – CZ-2.16./3.1.00/24022.

This work was supported by grant from Norway NF-CZ11-PDP-3-003-2014, MH ČR – RVO, UH Motol 00064203 and OPBK – CZ-2.16./3.1.00/24022.

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 recommendation for biomedical papers.



MUDr. Alena Puchmajerová

Ústav biologie a lékařské genetiky

2. LF UK a FN v Motole

V Úvalu 84

150 06 Praha 5

e-mail:

alena.puchmajerova@fnmotol.cz

Obdrženo/Submitted: 14. 7. 2015

Přijato/Accepted: 6. 12. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2016589>

Úvod

Fanconiho anémie (FA) je vzácné, autosomálně recesivní onemocnění, jehož prevalence se uvádí 1 : 350 000. Řadí se mezi syndromy chromozomální instability, pro které je typická porucha reparace DNA. V důsledku toho jsou buňky takového jedince velmi citlivé na působení různých mutagenů, především ionizačního záření a alkylačních činidel. Porucha reparace DNA je nejvíce patrná u buněk, které se rychle dělí, a proto jsou jedinci s FA malého věku, mají mikrocefalii, dochází u nich k poruchám pohlavního zrání a poruchám imunity. Někdy se objevují i vrozené vady ledvin a srdce, mohou se vyskytnout i skeletální anomálie jako je skolióza a radiální hypo/aplazie postihující především palce, event. porucha psychomotorického vývoje. V průběhu první dekády se postupně rozvíjí pancytopenie, která velmi často vede až k selhávání kostní dřeně s nutností její transplantace. U 10–30 % pacientů s FA se objevují hematologické malignity (myelodysplastický syndrom a akutní myeloidní leukemie) a u 25–30 % nehematologické malignity (solidní tumory, především hlavy, krku, kůže, GIT a pohlavních orgánů) [1,2].

Diagnostika FA je několikastupňový proces, který zahrnuje cytogenetické vyšetření, vyšetření buněčné kinetiky, stanovení komplementačních skupin a molekulárně-genetické vyšetření příslušného genu.

Cytogenetické vyšetření vychází z detekce chromozomálních aberací (zlomů, přestaveb, chromatidových výměn) v buněčných-lymfocytárních kulturách, jejichž počet stoupá po přidání diepoxybutanu (DEB) nebo mitomycinu C (MMC) do buněčné kultury [3–5]. Problémy při interpretaci výsledku mohou činit lymfocytární mozaiky, kde mohou být tyto testy falešně negativní. To je přičítáno zpětným mutacím, kompenzačním deletcím/inzercím vedoucím k selekční výhodě lymfocytů bez mutace. Pokud i přes negativní DEB/MMC test přetrvává vysoké podezření na FA, je vhodné tyto testy provést vyšetřením jiných buněk např. kožních fibroblastů.

Vyšetření buněčné kinetiky využívá zastavení buněk v G2 fázi, k němuž do-

chází ve vysoké frakci u buněk lymfocytů i fibroblastů pacientů s FA, pokud jsou vystaveny působení (MMC). Průtokovou cytometrií se poté stanovuje procentuální zastoupení buněk v G2 fázi buněčného cyklu.

Následuje zařazení do jedné z 15 komplementačních FA skupin (A, B, C, D1, D2, E, F, G, I, J, L, M, N, O a P), za každou z nich je zodpovědná bialelická mutace příslušného genu. Výjimkou je komplementační skupina FANCB, kde je dědičnost vázaná na X chromozom [1].

Komplementační skupina FANCD1 se od ostatních komplementačních skupin FA liší. Etiologicky jsou za tento typ FA zodpovědné bialelické mutace genu *BRCA2*. Na rozdíl od výše zmíněných komplementačních skupin u pacientů s FANCD1 nedochází k selhávání kostní dřeně, ale k časnému rozvoji především akutní leukemie, nejčastěji T lymfoblastické leukemie, a solidních tumorů zvláště meduloblastomu a nefroblastomu, ale i dalších nádorů. Kumulativní riziko rozvoje malignity je 97 % do šesti let věku [1,3,6–11].

Kazuistika

Téměř čtyřletý chlapec byl doporučen ke genetickému vyšetření pro Wilmsovův tumor ledviny a pozitivní rodinnou anamnézu nádorových onemocnění [11,12]. Narodil se ze III. gravidity, rizikové pro gemini. V té době měli rodiče jednu zdravou 12letou dceru, syn ze II. gravidity zemřel ve třech letech na akutní sekundární myeloidní leukemii, předtím se od cca 10 měsíců léčil pro kojeneckou akutní T lymfoblastickou leukemii [13]. V roce 2000 byl geneticky vyšetřen, zvažován Nijmegen breakage syndrom (NBS), mutace genu *NBS* nebyla prokázána, vyšetření zlomů se nezdařilo. U našeho pacienta byl nefroblastom pravé ledviny zjištěn ve věku 2,5 roku, byla provedena iniciální nefrektomie, histologicky intermediální riziko, pro prorůstání nádoru přes pouzdro ledviny II. klinické stadium. Pacient byl následně léčen 27 týdnů trvající chemoterapií vinkristin a aktinomycin D. Dále je chlapec v remisi. Jeho sestra-dvojčete byla v době vyšetření zdráva. Matka chlapce se léčila ve 35 letech pro karcinom prsu. Porovnáním fenotypu chlapce, jeho ze-



Obr. 1. Café-au-lait makula s abnormální pigmentací u dítěte s *FANCD1*.

mřelého staršího bratra a sestry-dvojčete bylo zjištěno, že všichni jsou malého věku s mikrocefálií a s výskytem café-au-lait makul (obr. 1). Cytogenetickým vyšetřením bylo prokázáno, že chlapec má 35 % spontánních chromozomálních zlomů a přestaveb, po indukci DEB nalezeno 14 % chromozomálních aberací, u jeho sestry bylo prokázáno 26 % spontánních aberací a 13 % aberací po indukci DEB.

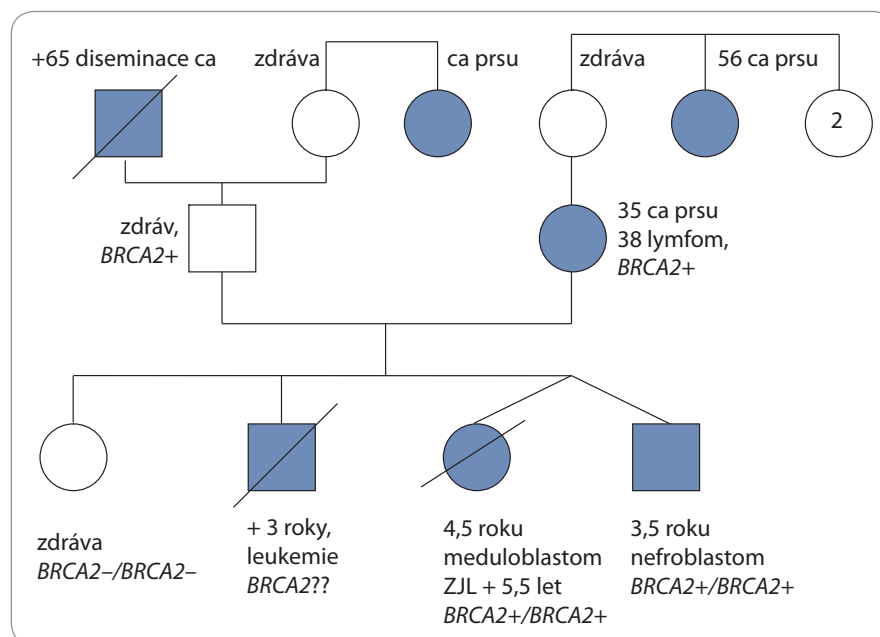
Vzhledem ke karcinomu prsu u matky v mladém věku a fenotypu dětí byla zvažována FA typ D1 v důsledku bialelické mutace genu *BRCA2*. Bylo provedeno molekulárně-genetické vyšetření – přímá sekvenace genu *BRCA2* (OEGN, MOÚ Brno). Bylo prokázáno, že chlapec je složený heterozygot pro dvě různé mutace genu *BRCA2*: c.658_659del2/p.Val220IlefsX4 a c.9366_9367del2/p.Ser3123GlnfsX26. Stejný genetický profil byl prokázán i u toho času zdravé sestry-dvojčete s malým věkem, mikrocefálií a vysokou hladinou chromozomálních aberací.

U dětí se znalostí genetické podstaty onemocnění byl zahájen pravidelný screeningový program k časně detekci malignity. Ve čtyřech letech a třech měsících pacient i jeho sestra-dvojčete podstoupili vyšetření břicha a retroperitonea ultrazvukem (UZ), aspiraci kostní dřeně a MRI mozku, u obou byl normální nález. Přibližně za tři měsíce po tomto

vyšetření se u sestry-dvojčete objevily obtíže s chůzí, poruchy rovnováhy, zvracení a na MRI mozku byla zjištěna v zadní jámě rozsáhlá expanze. Nádor byl neurochirurgy radikálně odstraněn, histologie prokázala meduloblastom, klasický typ, WHO grade IV, β -catenin negativní [14]. Vyšetření v době diagnózy neprokázalo generalizaci onemocnění. Byla zahájena modifikovaná chemoterapie pro pacienty s poruchou reparace DNA – vincristin, doxorubicin, metotrexát (intraventrikulárně do Ommaya rezervoáru). Bezprostředně po chemoterapii se rozvinuly velmi závažné komplikace spojené s těžkou sepsí, slizniční a kožní toxicitou grade IV a několikátýdenní regenerací krevního obrazu. Po zvládnutí těžkého stavu byla za šest týdnů na kontrolním MRI mozku nalezena lokální recidiva meduloblastomu v zadní jámě lební. Nádor byl opět radikálně odstraněn a zahájena paliativní chemoterapie – irinotekan, bevacizumab a intratheálně podávaný lipozomální cytarabin. Chemoterapie byla opakovaně komplikována především infekcemi. Asi šest měsíců po první recidivě se u dívky opět objevily obtíže s chůzí a zvracení, MRI vyšetřením byla nalezena druhá (inoperabilní) recidiva tumoru v zadní jámě lební. Dívka byla dále léčena pouze symptomaticky a během tří týdnů zemřela ve věku pěti let a čtyř měsíců na progresi základního onemocnění. Její bratr-dvojče je v té době v remisi onemocnění. Na obr. 2 je genealogie rodiny.

Diskuze

Rodiny s bialelickou mutací genu *BRCA2* byly již několikrát popsány. Byla zjištěna asociace mutace c.658_659del2 (dle HGVS) genu *BRCA2* s výskytem nefroblastomu a meduloblastomu v těchto rodinách [2,6,11,14]. V uvedené rodině se do narození dětí nevyskytovala ve zvýšené míře nádorová onemocnění v mladém věku. Kromě nádoru prsu ve středním věku u maternálních tet každého rodiče nic v rodině nesvědčilo pro možnost nosičství heterozygotní mutace v genu *BRCA2*. K onemocnění matky karcinomem prsu a následně Hodgkinovým lymfomem došlo až po porodu všech dětí. U bratra, který zemřel na akutní leukemii, bylo vysloveno po-



Obr. 2. Rodokmen rodiny s bialelickou mutáciou genu *BRCA2*.

dezření na syndrom chromozomální instability, vyšetření zlomů ale bylo zřejmě v důsledku v té době probíhající léčby neúspěšné. Zvažovaný NBS nebyl prokázán, rodina dále nebyla onkologicky ani geneticky sledována. Průběh onemocnění u sestry-dvojčete ukazuje, jak je závažné nosičství dvou mutovaných alel genu *BRCA2* a jak je prakticky nemožné včas nádorové onemocnění u dítěte detekovat. Dále demonstruje vysokou toxicitu onkologické léčby, byť byla modifikována s ohledem na genetický syndrom. Zajímavé výsledky přineslo u dětí cytogetické vyšetření. U pacientů s FA se očekává nárůst chromozomálních zlomů a přestaveb v buněčných kulturách, kam byl přidán DEB. V uvedené rodině tomu bylo právě naopak. Buňky na vyšetření spontánních zlomů byly kultivovány dva dny, buňky na vyšetření indukovaných zlomů byly nejprve jeden den kultivovány, poté byl přidán DEB a pokračovala kultivace další dva dny. V buněčné kultuře s DEB byly zřejmě buňky se zlomy a přestavbami tak poškozeny, že již nedocházelo k jejich dělení a došlo k větší proliferaci buněk bez chromozomálních zlomů a přestaveb [4,5].

Preventivní opatření

V současné době nejsou stanoveny žádné specifické protokoly, jak pacienti

s FANCD1 sledovat. V našem prípade jsme ve spolupráci se zahraničními pracovišti stanovili plán preventivního sledování spočívající ve vyšetření CNS magnetickou rezonancí k časně detekci případného mozkového nádoru jedenkrát ročně, v tříměsíčních intervalech vyšetřování UZ břicha a krevního obrazu s mikroskopickým rozpočtem k časně detekci nádoru v dutině břišní a akutní leukemie, jedenkrát ročně vyšetření kostní dřeně.

Závěr

Cílem této práce je upozornit na možnost dědičnosti některých nádorových onemocnění v dětském věku. Péče o dítě s nádorem nezahrnuje jen údaje o současném onkologickém onemocnění dítěte, ale jedná se o komplexní pohled na zdravotní stav dítěte zahrnující zhodnocení růstových parametrů dítěte, pátrání po morfologických vrozených vadách skeletu a vnitřních orgánů, abnormálních kožních nálezech (hyperpigmentace, depigmentace, café-au-lait skvrny, které vykazují změny po ozáření nebo pobytu na slunci). Součástí vyšetření je i podrobná rodinná anamnéza se zaměřením na přítomnost onkologických onemocnění. V případě prokázání genetické etiologie nádorového onemocnění je možné v rodině provést vyšet-

ření i dalších sourozenců či jiných členů rodiny k možnosti zahájení preventivního sledování. V případě FA skupiny D1 v důsledku bialelické mutace genu *BRCA2* nám bohužel agresivita nádorů u sestry-dvojčete ukázala praktickou nefunkčnost daného sledovacího schématu. Rodina ale může v případě gravidity podstoupit prenatální vyšetření nebo preimplantační diagnostiku. V případě genu *BRCA2* je vysoké riziko nádorového onemocnění i u heterozygotů, především u žen, a z tohoto důvodu je velmi důležité provést vyšetření na přítomnost mutace genu *BRCA2* i u dalších příbuzných. U jedinců s heterozygotní mutací genu *BRCA2* je možné nabídnout efektivní sledování včetně preventivních operací k minimalizaci rizik nádorových onemocnění spojených s nosičstvím mutace tohoto genu [12,15].

Literatura

1. Alter BP, Kupfer G. Fanconi anemia. GeneReviews, last update: February 7, 2013.
2. Meyer S, Tischkowitz M, Chandler K et al. Fanconi anemia, *BRCA2* mutations and childhood cancer; a developmental perspective from clinical and epidemiological observations with implications for genetic counselling. *J Med Genet* 2014; 51(2): 71–75. doi: 10.1136/jmedgenet-2013-101642.
3. Hirsch B, Shimamura A, Moreau L et al. Association of biallelic *BRCA2/FANCD1* mutations with spontaneous chromosomal instability and solid tumors of childhood. *Blood* 2004; 103(7): 2554–2559.
4. Kim H, D'Andrea AD. Regulation of DNA cross-link repair by the Fanconi anemia/*BRCA* pathway. *Genes Dev* 2012; 26(13): 1393–1408. doi: 10.1101/gad.195248.112.
5. Shukla P, Solanki A, Ghosh K et al. DNA interstrand cross-link repair; understanding role of Fanconi anemia pathway and therapeutic implications. *Eur J Haematol* 2013; 91(5): 381–393. doi: 10.1111/ejh.12169.
6. Alter BP, Rosenberg PS, Brody LC. Clinical and molecular features associated with biallelic mutations in *FANCD1/BRCA2*. *J Med Genet* 2007; 44(1): 1–9.
7. D'Andrea AD, Grompe M. The Fanconi anaemia/*BRCA* pathway. *Nature Rev Cancer* 2003; 3(1): 23–24.
8. Dewire MD, Ellison DW, Patay Z et al. Fanconi anemia and biallelic *BRCA2* mutation diagnosed in a young child with an embryonal CNS tumor. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 53(6): 1140–1142. doi: 10.1002/pbc.22139.
9. Howlett NG, Taniguchi T, Olson S et al. Biallelic inactivation of *BRCA2* in Fanconi anemia. *Science* 2002; 297(5581): 606–609.
10. Meyer K, Davies SM, Harris RE et al. The clinical phenotype of children with Fanconi anemia caused by biallelic *FANCD1/BRCA2* mutations. *Pediatr Blood Cancer* 2012; 58(3): 462–465. doi: 10.1002/pbc.23168.
11. Ried S, Renwick A, Seal S et al. Biallelic *BRCA2* mutations are associated with multiple malignancies in childhood including familial Wilms tumor. *J Med Genet* 2005; 42(2): 147–151.
12. Wagner JE, Tolar J, Levran O et al. Germline mutations in *BRCA2*; shared genetic susceptibility to breast cancer, early onset leukemia, and Fanconi anemia. *Blood* 2004; 103(8): 3226–3229.
13. Meyer K, Fergusson WD, Oostra AB et al. A cross-linker sensitive myeloid leukemia cell line from a 2-year-old boy with severe Fanconi anemia and biallelic *FANCD1/BRCA2* mutations. *Genes Chromosomes Cancer* 2005; 42(4): 404–415.
14. Miele E, Mastronuzzi A, Po A et al. Characterization of medulloblastoma in Fanconi Anemia; a novel mutation in the *BRCA2* gene and SHH molecular subgroup. *Biomarker Res* 2015; 3: 13. doi: 10.1186/s40364-015-0038-z.
15. Plevová P, Novotný J, Petraková K et al. Syndrom hereditárního karcinomu prsu a ovarií. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl): 8–11.

Asistovaná reprodukce a preimplantační genetická diagnostika u pacientek ohrožených karcinomem prsu

Assisted Reproduction and Preimplantation Genetic Diagnosis in Patients Susceptible to Breast Cancer

Veselá K., Kocur T., Horák J., Horňák M., Oráčová E., Hromadová L., Veselý J., Trávník P.

REPMEDA s.r.o., Centrum reprodukční medicíny, Brno

Souhrn

Východiska: Asistovaná reprodukce, stejně jako samotné těhotenství u pacientek ohrožených karcinomem prsu či jinými dědičnými nádorovými onemocněními představuje jedno z velmi diskutovaných témat. Je nutno připustit, že v minulosti byl přístup k přání otěhotnět, případně léčbě neplodnosti u žen po léčbě karcinomu prsu více než zdrženlivý. Dostupné informace naznačují, že karcinom prsu, pokud to průběh léčby umožňuje, není kontraindikací k těhotenství ani k asistované reprodukci. Naopak, v současnosti přináší tento přístup možnost vyloučení přenosu genetického rizika na plod pomocí preimplantační genetické diagnostiky. **Cíl:** V tomto přehledovém článku si klademe za cíl shrnout dosavadní poznatky a publikované informace o rizicích a úskalích těhotenství pacientek ohrožených karcinomem prsu. Zároveň uvádíme současné možnosti a ideální postupy pro zachování plodnosti před plánovanou léčbou a pro provedení metod asistované reprodukce s využitím nejnovějších postupů, zaručujících co možná nejbezpečnější průběh. Ve druhé části práce je pak popsána moderní molekulární genetická metoda karyomapping, jež přináší nové možnosti preimplantační genetické diagnostiky s cílem vyloučení zárodečné mutace v případě dědičných predispozic k nádorovým onemocněním. Rápidní vývoj metod preimplantační genetické diagnostiky je demonstrován především možností zachytit současně se sledovanou mutací také aneuploidie všech chromozomů a v neposlední řadě zkrácením doby nutné k přípravě metody na několik dní.

Klíčová slova

karcinom prsu – dědičné nádorové syndromy – asistovaná reprodukce – ovariální rezerva – hormonální stimulace – preimplantační genetická diagnostika – karyomapping

Summary

Background: Assisted reproduction, as well as pregnancy itself, in patients with breast cancer or other hereditary type of cancer, is a widely discussed topic. In the past, patients treated for breast cancer were rarely involved in the discussion about reproductive possibilities or infertility treatment. However, current knowledge suggests, that breast cancer is neither a contraindication to pregnancy, nor to assisted reproduction techniques. On the contrary, assisted reproduction and preimplantation genetic diagnosis methods might prevent the transmission of genetic risks to the fetus. **Aim:** In this review we summarize data concerning pregnancy risks in patients with increased risk of breast cancer. In addition, we introduce current possibilities and approaches to fertility preservation prior to assisted reproduction treatment as well as novel methods improving the safety of fertility treatment. In the second part of this review, we focus on karyomapping – an advanced molecular genetic tool for elimination of germinal mutations in patients with predisposition to cancer. Moreover, the rapid development of preimplantation genetic diagnosis methods contributes to detection of both chromosomal aneuploidy and causal mutations in a relatively short time-span.

Key words

breast neoplasms – hereditary cancer syndromes – assisted reproduction – ovarian reserve – hormonal stimulation – preimplantation diagnosis – karyomapping

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 recommendation for biomedical papers.



MUDr. Kateřina Veselá, Ph.D.
REPMEDA s. r. o.
Centrum reprodukční medicíny
Viniční 235
615 00 Brno
e-mail: kvesela@repmeda.cz

Obdrženo/Submitted: 19. 10. 2015
Přijato/Accepted: 20. 11. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko2016593>

Úvod

Karcinom prsu je nejčastějším zhoubným nádorem u žen v plodném věku. V posledních desetiletích se podařilo dosáhnout významného pokroku ve snížení úmrtnosti na toto onemocnění pomocí chemoterapie, endokrinní terapie, radioterapie a biologické léčby, avšak cenou za dlouholeté přežití byla často neplodnost. Otázka reprodukce má velký význam u mladých žen, zejména u těch, které nedosáhly mateřství před diagnostikovaním karcinomu prsu. Pacientky je třeba při sdělení diagnózy informovat o riziku neplodnosti a současně o dostupných metodách uchování plodnosti, včetně kryokonzervace oocytů a embryí před zahájením léčby [1]. Problematika plodnosti patientek po léčbě karcinomu prsu je podrobně rozebrána v několika přehledných článcích [2–5].

S rostoucím povědomím o metodách preimplantační genetické diagnostiky (PGD) stále větší množství žen po léčbě karcinomu prsu a těch, jež jsou v riziku (u nichž byla diagnostikována mutace v genech *BRCA1* nebo *BRCA2*), vyhledává reprodukčně-genetické poradenství s úmyslem otěhotnění a současně prevence dědičného onkologického onemocnění touto cestou u potomků. Je však stále málo údajů, které by sloužily jako zdroj informací o tom, jaká případná rizika ženě hrozí a jaké postupy zvolit, aby se rizika v souvislosti s léčbou neplodnosti, těhotenstvím a porodem u těchto žen minimalizovala. Článek si klade za cíl s ohledem na současný vývoj reprodukční medicíny a genetiky přinést přehled postupů, jež je možné pacientkám v reprodukčním věku bezpečně nabídnout.

Hormonální hladiny v normálním, stimulovaném cyklu, v graviditě a při hyperstimulačním syndromu

Koncentrace 17β -estradiolu je během folikulární fáze nestimulovaného cyklu menší než 0,4 nmol/l a dosahuje okolo 1,5 nmol/l během luteální fáze nestimulovaného menstruačního cyklu [6]. Po koncepci hladina 17β -estradiolu vzrůstá k hodnotám 20–110 nmol/l v termínu porodu [7].

Charles et al uvádějí po spontánní koncepci ve 20. týdnu gravidity koncen-

traci 17β -estradiolu v séru 25–40 nmol/l a v 36. týdnu rozmezí 76–93 nmol/l [8].

V den podání trigger dávky hCG k finálnímu dozrávání a uvolnění oocytů z folikulů dosahuje sérová koncentrace 17β -estradiolu po stimulaci celkovou dávkou FSH 1 700–3 700 IU ve dlouhém stimulačním protokolu hodnot 3,4–25 nmol/l [9]. Prasad et al uvádějí, že v cyklech stimulovaných denní dávkou 225 IU FSH je v dlouhém protokolu sérová koncentrace 17β -estradiolu 2. den cyklu 0,06–0,2 nmol/l, 6. den cyklu 0,3–2,3 nmol/l a v den podání trigger dávky hCG 1,5–12 nmol/l [10]. Moraloğlu et al uvádějí, že u stimulovaných cyklů v době vrcholu 17β -estradiolu byla jeho koncentrace 2,5–18 nmol/l [11].

V 5. týdnu gravidity po ovariální stimulaci a transferu embrya byly hladiny 17β -estradiolu: medián 4,1 nmol/l, inter-quartile range 2,2–6,6 nmol/l, ve spontánní graviditě: medián 1,1 nmol/l, inter-quartile range 0,7–1,6 nmol/l a po kryoembryotransferu: medián 0,7 nmol/l, inter-quartile range 0,6–0,9 nmol/l [12].

Hladiny 17β -estradiolu v krvi u těhotných po ovariální stimulaci a transferu embrya byly do 7.–8. týdne vyšší než po kryoembryotransferu a spontánním otěhotnění [12].

V průběhu hyperstimulačního syndromu dosahují hladiny 17β -estradiolu v krvi kolem 18. dne po punkci oocytů hodnoty až 24 nmol/l [13].

Z uvedených údajů jasně vyplývá, že nejvyšší a nejdelší expozice tkání 17β -estradiolu je v těhotenství. Přitom ve spontánním těhotenství a po kryoembryotransferu jsou hladiny 17β -estradiolu nižší než v těhotenství po stimulovaném cyklu. Ve stimulovaném cyklu je koncentrace 17β -estradiolu v době podání trigger dávky hCG srovnatelná s koncentrací na začátku těhotenství. Při ovariálním hyperstimulačním syndromu může koncentrace 17β -estradiolu dosáhnout hodnot srovnatelných s těhotenskými hodnotami ve 20. týdnu gravidity.

Znamená to tedy, že samotná stimulace ovarií, pokud nedojde k hyperstimulačnímu syndromu, nepředstavuje extrémní zátěž estrogenu. Současná data nepotvrzují přímý vliv metod asistované reprodukce na zvýšené riziko karcinomu

ovaria [14]. Pokud je tedy pacientka ze zdravotního hlediska schopna prodělat těhotenství, je schopna absolvovat i stimulovaný cyklus asistované reprodukce. Pro další zvýšení bezpečnosti stimulace je možné použít šetrné metody, jak je uvedeno dále. Jako postup volby se jeví vitrifikace embryí získaných ve stimulovaném cyklu a jejich kryoembryo-transfer v některém z cyklů následujících.

Ovariální rezerva u patientek ohrožených karcinodem prsu

Je třeba si uvědomit, že ačkoliv ovariální rezerva a menstruační cyklus spolu souvisí, není amenorea synonymem pro neplodnost a probíhající menstruační cyklus známkou plodnosti [15].

U části patientek ohrožených karcinodem prsu je ovariální rezerva primárně snižena. Týká se to zejména patientek s mutací *BRCA1* a *BRCA2* [16,17]. K dalšímu snížení ovariální rezervy dochází vlivem léčby karcinomu. Chemoterapeutika poškozují primordiální oocyty, granulózní buňky a stroma ovaria, negativně ovlivňují také cévní zásobení ovarií a způsobují jejich fibrózu [18,19].

Léčiva užívaná k chemoterapii bez ohledu na mechanismus jejich působení mohou poškozovat rostoucí folikuly tím, že přerušují vývoj granulózových buněk. Zaniknou tak rostoucí a antrální folikuly s následnou amenoreou. Nové rostoucí folikuly se vyvinou z intaktních primordiálních folikulů s odstupem 3–6 měsíců, a proto amenorea může být přechodná při léčbě prostředky, které nepoškozují DNA a nemají vliv na ovariální rezervu [5].

Poškození ovariální rezervy je závislé na věku. Ženy starší 40 let mají pětinašobně vyšší riziko vzniku amenorey způsobené chemoterapií než ženy mladé [20]. U žen mladších 30 let se v různých studiích vznik chemoterapií indukované amenorey pohybuje v rozmezí 15–40 % [21,22].

Nejvýznamněji ovlivňuje ztrátu ovariálních funkcí cyklofosfamid, který má silný dopad na ovariální rezervu. Byla pozorována 90% redukce množství folikulů 48 hod po jeho aplikaci. Literární údaje o efektu různých preparátů a léčebných postupů na vznik amenorey jsou velmi heterogenní [5].

Z uvedeného vyplývá, že ovariální rezerva může být snižena, případně může úplně zaniknout, zejména po chemoterapii prostředky poškozujícími DNA. Toto riziko je výrazně vyšší u pacientek, které mají již primárně ovariální rezervu sniženou věkem. Pacientkám, jejichž ovariální rezerva neumožňuje získání vlastních oocytů, je možné nabídnout užití darovaných oocytů.

Těhotenství a kojení u pacientek ohrožených karcinodem prsu

Data ukazují, že přibližně polovina žen s vyléčeným karcinodem prsu si přeje otěhotnět [23]. Ve skutečnosti ale jen 10 % žen, u nichž se vyvinul invazivní karcinom před 40. rokem věku, porodí po stanovení diagnózy dítě [24–26].

Novou metaanalýzu problematiky otěhotnění u pacientek po léčbě karcinomu prsu přináší Raphael et al [27]. Dosud nebyla publikována žádná studie poukazující na negativní dopad následného počtu na prognózu pacientek přežívajících karcinom prsu [24]. Naopak studie ukazují, že otěhotnění po stanovení diagnózy nezvyšuje riziko relapsu nebo smrti [28–30]. Nositelky mutací *BRCA*, ať už zdravé, nebo s diagnózou karcinomu prsu, jsou schopny dosáhnout těhotenství navzdory negativním okolnostem, jako je vyšší agresivita nádoru a menší ovariální rezerva [5].

Plody pacientek, které otěhotněly po skončení chemoterapie, nejeví známky poškození nebo vrozených vad, byl však zjištěn vyšší podíl spontánních potratů (29 %) a předčasných porodů plodů s nižší porodní hmotností (40 %) [3].

Ačkoliv v těhotenství je žena vystavena vysokým hladinám estrogenů, současné publikace nepotvrzují dřívější údaje o negativním vlivu těhotenství na prognózu po vyléčení karcinomu prsu [31,32]. Přežití pacientek, které následně otěhotněly, je naopak ve srovnání s kontrolami příznivější [24,30,33–35].

U žen s mutací v *BRCA1* a *BRCA2* je vysoké riziko dalšího primárního nádoru prsu i ovaria [36–39]. U nosiček mutace *BRCA1* se uvádí kumulativní riziko karcinomu ovaria 30–40 %, u nosiček *BRCA2* cca 10–15 % [40]. Z tohoto důvodu jim bývá nabízeno nejen

provedení oboustranné mastektomie a rekonstrukce prsů, ale i bilaterální salpingo-oophorektomie a je jim ordinován tamoxifen [41]. Tyto procedury jsou indikovány po dosažení mateřství, často jsou ale nabízeny ženám mezi 35. a 40. rokem, kdy některé ženy ještě mateřství nedosáhly. Je třeba vzít v úvahu, že porod a počet porozených dětí jsou protektivními faktory před vznikem karcinomu prsu u nosiček mutace *BRCA* [42–44]. Také Valentini et al dospěli k závěru, že těhotenství probíhající současně se stanovením nebo po stanovení diagnózy karcinomu prsu u nosiček *BRCA1* a *BRCA2* mutace nemá negativní vliv [45]. Ives et al došli k závěru, že koncepcí šest měsíců po ukončení léčby nesnižuje přežití pacientek [30]. Pokusy o otěhotnění se doporučuje zahájit nejdříve za 4–6 měsíců po ukončení chemoterapie a tři měsíce po ukončení endokrinní terapie [5].

Údaje týkající se těhotenství a plodu žen po léčbě karcinomu prsu z posledních let ukazují, že zvýšené riziko nízké porodní hmotnosti a vrozených vad není ve srovnání s obecnou populací zvýšené [31,46]. Údaje o možném výskytu karcinomu u dětí žen léčených pro karcinom prsu neukazují na zvýšené riziko s výjimkou genetického nádorového syndromu, jakým je např. mutace *BRCA* [47].

U pacientek léčených antracykliny existuje určité riziko vzniku subklinické kardiomyopatie, která se může v případě preexistující kardiální dysfunkce projevit při těhotenské zátěži krevního oběhu, proto je u těchto žen před otěhotněním doporučeno sonografické vyšetření srdce [48,49].

Kojení po léčbě karcinomu prsu není kontraindikováno u žen, které nemají známky reziduálního tumoru a jsou náležitě informovány a mají možnost konzultace [50,51]. Obdobně kojení ze zbývajících prsu po mastektomii je bezpečné [52].

Tyto údaje svědčí pro to, že pacientky, které absolvovaly léčbu karcinomu prsu, mohou být těhotné, porodit zdravé dítě a kojít, pokud tomu nebrání průběh onemocnění. Je třeba jim věnovat náležitou péči před a během těhotenství a volit vhodné postupy.

Metody používané ke snížení rizika stimulace ovarii

Podrobný přehled postupu při zachování fertility u onkologicky léčených žen přináší Coyne et al [53]. Rozbor možností a výsledků léčby neplodnosti z hlediska věku, typu nádoru a typu chemoterapie publikovali Pavone et al [54]. Speciálně postupům po léčbě karcinomu prsu je věnována práce, kterou publikovali Comtet et al, a na ženy s mutacemi *BRCA* je zaměřena práce zveřejněná autory Rodriguez-Wallberg a Oktay [55,56].

V současné době je možné nabídnout plné spektrum technik asistované reprodukce od fertilizace *in vitro* s transferem embrya až po maturaci oocytů *in vitro*, kryokonzervaci oocytů a embryí, kryokonzervaci ovariální tkáně a v neposlední řadě PGD umožňující výběr vhodného embrya bez onkogenní mutace. Právě u žen s hereditárními nádorovými syndromy by se tohoto postupu mělo využít [57].

Vzhledem k tomu, že zvýšené hladiny estrogenů jsou potenciálně riskantní u pacientek s karcinodem prsu, byly vyvinuty ovariální stimulační protokoly s inhibitorem aromatázy (letrozolem) a tamoxifenem, které umožňují bezpečnou stimulaci [3].

Nejlepším řešením pro uchování fertility žen s karcinodem prsu je odběr oocytů před zahájením léčby a kryokonzervace oocytů nebo embryí. Většina typů karcinomů prsu je hormonálně senzitivní, proto není žádoucí vystavovat pacientku zvýšeným koncentracím 17 β -estradiolu [5]. Jistě je namístě u každé ženy léčené pro karcinom prsu stanovit hormonální senzitivitu nádoru s ohledem na léčbu neplodnosti či pozdější hormonální substituční terapii. Negativní efekt léčby neplodnosti u žen s mutací *BRCA1* a *BRCA2* nebyl prokázán, tuto skutečnost je třeba ještě ověřit na větších souborech [58].

Pro snížení možného efektu zvýšené hladiny 17 β -estradiolu byla vypracována řada protokolů. Jednou z možností je použití tamoxifenu. Tamoxifen je selektivní modulátor estrogenových receptorů s antagonistickým efektem v prsu. Studie Meirowa et al ukázala, že není rozdíl v množství získaných oocytů mezi pacientkami užívajícími během sti-

mulace ovarií tamoxifen a těmi, které jej neužívaly [59]. Další možností je použití inhibitorů aromatázy. Letrozol se osvědčil při stimulaci ovarií před zahájením chemoterapie, je však získáváno více nezralých oocytů [60,61]. Podrobný rozbor protokolu při ovariální stimulaci přináší Muñoz et al [62].

Velmi důležité je snížit riziko ovariálního hyperstimulačního syndromu, kde mohou hormonální hladiny vysoce přesáhnout hodnoty obvyklé u nekomplikovaných stimulovalých cyklů. Z toho důvodu je vhodné použít jako trigger GnRH agonistu místo choriového gonadotropinu [63].

Jednou z možností, jak významně snížit hormonální expozici, je získání nezralých oocytů a jejich maturace *in vitro* [64].

Kryokonzervace ovariální tkáně a její následná replantace je jednou z možných metod, může se uplatnit zejména při nedostatku času k provedení odběru oocytů. U pacientek s mutací *BRCA1* a *BRCA2* musí ale být ověřena bezpečnost tkáně před transplantací, aby se předešlo implantaci ovariálního tumoru [65,66].

Z hlediska posouzení bezpečnosti a efektivity léčby se jeví jako nejvhodnější následující postupy:

Pacientky s vysokým rizikem, ale bez nádorového onemocnění a pacientky po ukončení léčby mohou podstoupit šetrnou stimulaci, která by u hormonálně dependentních nádorů měla být provedena s použitím letrozolu či tamoxifenu. Ve stimulovaném cyklu se provede vitifikace embryí a kryoembryo-transfer následuje v některém z dalších cyklů. Pokud se používají oocyty získané až po ukončení léčby karcinomu, je velmi vhodné provést selekci embryí pomocí preimplantačního genetického screeningu aneuploidii (PGS).

Pacientky před zahájením léčby by měly, pokud je to z onkologického hlediska možné, podstoupit odběr oocytů, případně s maturací *in vitro*, pokud mají partnera, nejlépe oplození oocytů *in vitro* a vitifikaci embryí s odložením kryoembryo-transferu na dobu po ukončení onkologické léčby. Pokud partnera nemají, potom je třeba vitifikovat neoplozené oocyty. U kryokonzervace ovariální tkáně není zatím zcela ověřena úspěšnost postupů po rozmrazení.

PGD pro vyloučení mutací v nádorových predispozičních genech

PGD je soubor metod umožňujících výběr embrya bez sledované genetické zátěže, ještě před jeho transferem a implantací v děloze. V rámci PGD lze vyšetřit jakékoliv monogenně podmíněné vzácné dědičné onemocnění se známou kauzální mutací. Mezi tyto lze rovněž zařadit predispoziční nádorové syndromy, pro které PGD představuje jedinou preventivní metodu umožňující zabránění přenosu mutovaného genu na potomstvo. V případě vzácných onemocnění s časným nástupem a vysokou penetrancí mají páry k dispozici ke zvážení diagnostiku prenatální, která však u specifických onemocnění s pozdním nástupem může narážet na etické problémy a u predispozičních nádorových syndromů nepřichází prakticky v úvahu vůbec, resp. její provedení není považováno za etické. Problematikou PGD samotné a její úlohou v rámci problematiky nádorových dědičných onemocnění se v roce 2009 detailně zabývala Hüttelová et al [67]. Tato práce se velmi přehledně věnuje základním principům PGD, a to jak z pohledu pacientů, tak i jednotlivých odborníků multidisciplinárního týmu, jehož spolupráce a kvalita všech jeho částí je rozhodující pro úspěšné provedení této metody. V nedávné době došlo k posunu vpřed díky zavedení nových molekulárně genetických metod, rozvoji technik vitifikace embryí a využití biopsie trofektodermy z embrya ve stadiu blastocysty jakožto metody první volby pro odběr materiálu z vyšetřovaných embryí [68].

Současné trendy PGD

Ideální metodou pro PGD vzácných dědičných onemocnění a predispozic k nádorovým onemocněním je ta, která kromě genotypu embrya dokáže současně detekovat také aneuploidie všech chromozomů. Handysidovi et al se v roce 2010 podařilo tohoto cíle dosáhnout vyvinutím metody karyomapping, která využívá SNP (single nucleotide polymorphism) array (mikročip určený k detekci jednonukleotidových polymorfizmů) pro identifikaci zdravého a mutantního haplotypu s po-

mocí referenčního vzorku známého genotypu [69]. Metoda využívá přibližně 300 000 vybraných SNP markerů (Human-Karyomap-12 v1.0 BeadChip SNP array), které se vyznačují vysokou heterozygotností a rovnoměrně pokrývají celý lidský genom. Tyto vlastnosti použitých SNP markerů činí z karyomappingu univerzální vyšetřovací metodu pro jakékoliv monogenně dědičné onemocnění. Karyomapping patří mezi metody nepřímé DNA diagnostiky, avšak díky desítkám informativních SNP markerů v blízkém okolí vyšetřovaného genu umožňuje tato metoda určit genotyp embrya s vyšší přesností než dříve používané metody nepřímé DNA diagnostiky založené na použití malého počtu STR (short tandem repeats) markerů. Ovšem je nutné zdůraznit, že pro všechny metody nepřímé DNA diagnostiky je podstatné přesně znát genotyp referenčního vzorku, který je klíčový pro určení vazby informativních SNP markerů buď s mutovanou, nebo zdravou alelou genu.

Kromě precizního rozpoznání haplotypu pojícího se s kauzální mutací jsou současně detekovány také aneuploidie všech chromozomů. Zavedení karyomappingu, který kombinuje stanovení kauzální mutace (PGD) se screeningem aneuploidii (PGS) otevřelo v roce 2014 novou éru PGD vzácných onemocnění i predispozic k nádorovým dědičným syndromům.

Kromě vyšetření aneuploidii všech chromozomů přináší PGD pomocí karyomappingu další výhody. Metoda díky své univerzalitě umožňuje provedení PGD pro kterýkoliv gen člověka nesoucí kauzální mutaci, aniž by byla nutná složitá a časově náročná individuální příprava PGD pro každý gen a každý jednotlivý pár, jako je tomu v případě PGD pomocí PCR [67]. Výsledkem je výrazné zkrácení času diagnostiky, což je pacienty velmi oceňováno. Je zde i podstatný vliv na zvýšení flexibility a propustnosti PGD laboratoře, metoda tedy současně ekonomizuje a optimalizuje provoz celého PGD centra. Husté pokrytí cílového úseku informativními markery také umožňuje přesně identifikovat pozice crossing-overů a snížit počet embryí, u kterých nebylo dříve možné dospět k jednoznačnému diagnostickému závěru. Pro provedení PGD karyomappingem postačí kromě DNA

páru získat jeden další referenční vzorek. V případě PGD predispozice ke karcinomu prsu se zpravidla jedná o matku partnerky, anebo jejího otce. V situaci, kdy kauzální mutace vznikla u jednoho z partnerů *de novo* nebo kdy není referenční vzorek z nejrůznějších důvodů k dispozici, lze karyomapping vhodně doplnit o detekci přímé mutace z amplifikátu embryí. V takovém případě je některé z embryí zvoleno jako referenční, čímž dojde k rozdělení embryí do haplotypových skupin, které musí být v souladu s rozdělením embryí do skupin v závislosti na výsledku detekce přímé mutace [70].

PGD cyklus s vitrifikací embryí

Odběr genetického materiálu z vyvíjejícího se embrya je jednou z nejdůležitějších součástí celého procesu PGD. Při časování zisku vstupního materiálu k PGD je patrný posun od biopsie blastomery/blastomer třetí den vývoje embrya směrem k biopsii několika buněk trofektodermu embrya ve stadiu blastocysty pátý až šestý den vývoje (obě metody popsány v Hüttelová et al) [67]. V této práci zmíněný přístup s využitím polových tělísek se v praxi ukázal jako méně vhodný a může ho být využito spíše v zemích, kde legislativa omezuje možnosti odběru buněk z časné se vyvíjejících embryí [71]. Mezi hlavní výhody biopsie trofektodermu patří zejména větší množství DNA dostupné pro samotnou genetickou diagnostiku, což vede k nižší frekvenci ADO (allelic drop-out) u SNP markerů a rovněž k vyšší spolehlivosti detekce aneuploidii. Další výhodou je také možnost získat validní informace o aneuploidii embrya ve stadiu blastocysty, zatížené mnohem méně přítomností mozaicismu, typického a do jisté míry přirozeného pro ranější stadia vývoje embrya. S tímto přístupem se současně pojí vitrifikace embryí a opouštění praktiky přenosu čerstvých embryí, která v asistované reprodukci dlouhá léta dominovala. Transfer selektovaného embrya se provádí v některém z následujících menstruačních cyklů. U ovulujících žen je k přenosu embrya čím dále tím častěji využíváno přirozených cyklů. Takový druh přípravy je velmi fyziologický, bez nutnosti použití vysokých dávek estrogenů a gestagenů. Pouze u žen s an-

ovulací nebo u těch, jejichž endometrium nedorůstá do patřičné výšky a kvality, se k přípravě endometria užívá hormonální substituční terapie. V takovém případě je nutno hormonální substituční terapii podávat až do nástupu placentární hormonální kompetence, k čemuž dochází přibližně od 12. týdne gravidity. Sérové koncentrace 17 β -estradiolu, jak bylo již uvedeno výše, jsou v průběhu gravidity v přirozeném cyklu nebo v cyklu hormonální substituční terapie nižší nežli při transferu ve stimulovaném cyklu.

Perspektivy PGD

Další posun v oblasti PGD vzácných dědičných onemocnění lze očekávat s použitím metod sekvenování nové generace (next-generation sequencing – NGS). Přínosem této metody by se kromě nepřímé diagnostiky založené na polymorfních oblastech v lidském genomu, jako jsou např. SNP a STR markery a detekce přímé mutace, mohl stát současně screening aneuploidii s vyšším rozlišením, případně schopností odhalit chromozomální mozaicismus. Problematické však může být filtrování dat a přítomnost variant nejasného významu, což při použití definovaných SNP v případě metody karyomapping odpadá. I přes určitá technická úskalí a možné etické kontroverze však bude budoucnost PGD velmi pravděpodobně patřit právě NGS.

Závěr

Ačkoli je reprodukce žen, které se léčily anebo jsou v riziku pro karcinom prsu, stále spojena s diskuzí nad jejími možnými riziky, z dosavadně publikovaných literárních údajů nevyplývá pro tyto ženy ani specificky pro skupinu žen s mutací v *BRCA1* a *BRCA2* genech zvýšené riziko spojené s těhotenstvím a porodem. Není tedy nutné u žen vzbuzovat obavy z možného relapsu onemocnění způsobené léčbou neplodnosti či následnou graviditou. Pokud tyto ženy podstupují asistovanou reprodukci, je v případě nádorů s prokázanou hormonální senzitivitou nutné vybírat co nejbezpečnější stimulační protokoly a postupy, které zvyšují sérovou hladinu 17 β -estradiolu co nejméně.

Pro ženy s hereditárními nádorovými syndromy je metodou volby asistovaná

reprodukce s využitím PGD pro vyloučení onkogenní mutace u plodu.

U žen nad 35 let nebo u těch, které absolvovaly asistovanou reprodukci s využitím vlastních oocytů po provedení léčby karcinomu prsu, je indikováno provedení PGS embryí.

Ženám, jejichž ovariální rezerva po léčbě základního onemocnění není sloučitelná se ziskem a oplozením vlastních oocytů, je možné nabídnout léčbu s pomocí darovaných oocytů.

Všem ženám, kterých se diagnóza karcinomu prsu týká, ať již díky aktuálnímu či vyléčenému onemocnění, nebo kvůli riziku v podobě mutace genů *BRCA1* a *BRCA2* a které mají zájem řešit svoji budoucí reprodukci, by měla být doporučena konzultace na některém z pracovišť specializovaných na reprodukční medicínu a PGD. Informace o těchto specializovaných pracovištích by měl předat pacientkám v případě hereditárních nádorových onemocnění lékařský genetik, který konzultuje výsledky genetického testování.

Další preventivní sledování žen po asistované reprodukci by mělo být navrženo na základě osobní, rodinné anamnézy a genetické predispozice. U nosiček *BRCA1/2* mutace je preventivní péče jasně indikovaná, u žen s možným zvýšeným rizikem nádorů prsu nebo ovarií jsou vhodné pravidelné vaginální ultrazvuky a kontroly prsou (ultrazvuk nebo mamogram dle věku a rizika).

Konzultování těchto případů by mělo s ohledem na prognózu základního onemocnění obsahovat vždy kompletní představení možností řešení reprodukce otevřeným způsobem a bez zbytečného zastrašování, které se bohužel v minulosti často objevovalo. Musí být vedeno vždy nápomocně a nedirektivně a v každém ohledu je potřeba především respektovat přání a svobodnou vůli ženy a jejího partnera.

Literatura

- Christinat A, Pagani O. Fertility after breast cancer. *Maturitas* 2012; 73(3): 191–196. doi: 10.1016/j.maturitas.2012.07.013.
- Moffat R, Güth U. Preserving fertility in patients undergoing treatment for breast cancer: current perspectives. *Breast Cancer* (Dove Med Press) 2014; 6: 93–101. doi: 10.2147/BCTT.S47234.

3. Kasum M, Beketic-Oreškovic L, Peddi PF et al. Fertility after breast cancer treatment. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2014; 173: 13–18. doi: 10.1016/j.jejgo.2013.11.009.
4. Woodson AH, Muse KJ, Lin H et al. Breast cancer, BRCA mutations, and attitudes regarding pregnancy and preimplantation genetic diagnosis. *Oncologist* 2014; 19(8): 797–804. doi: 10.1634/theoncologist.2014-0057.
5. de Pedro M, Otero B, Martín B. Fertility preservation and breast cancer: a review. *Ecancermedicalscience* 2015; 9: 503. doi: 10.3332/ecancer.2015.503.
6. Abraham GE, Odell WD, Swerdloff RS et al. Simultaneous radioimmunoassay of plasma FSH, LH, progesterone, 17-hydroxyprogesterone, and estradiol-17 beta during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1972; 34(2): 312–318.
7. Lindberg BS, Johansson ED, Nilsson BA. Plasma levels of nonconjugated oestrone, oestradiol-17beta and oestriol during uncomplicated pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl* 1974; 32: 21–36.
8. Charles SM, Julian CG, Vargas E et al. Higher estrogen levels during pregnancy in Andean than European residents of high altitude suggest differences in aromatase activity. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99(8): 2908–2916. doi: 10.1210/jc.2013-4102.
9. Mittal S, Gupta P, Malhotra N et al. Serum estradiol as a predictor of success of in vitro fertilization. *J Obstet Gynaecol India* 2014; 64(2): 124–129. doi: 10.1007/s13224-013-0470-7.
10. Prasad S, Kumar Y, Singhal M et al. Estradiol level on day 2 and day of trigger: a potential predictor of the IVF-ET success. *J Obstet Gynaecol India* 2014; 64(3): 202–207.
11. Moraloglu O, Tonguc EA, Ozel M et al. The effects of peak and mid-luteal estradiol levels on in vitro fertilization outcome. *Arch Gynecol Obstet* 2012; 285(3): 857–862. doi: 10.1007/s00404-011-2090-8.
12. Järvelä IY, Pelkonen S, Uimari O et al. Controlled ovarian hyperstimulation leads to high progesterone and estradiol levels during early pregnancy. *Hum Reprod* 2014; 29(11): 2393–2401. doi: 10.1093/humrep/deu223.
13. Kosaka K, Fujiwara H, Yoshioka S et al. Vascular endothelial growth factor production by circulating immune cells is elevated in ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 2007; 22(6): 1647–1651.
14. Sutcliffe AG, Williams CL, Jones ME et al. Ovarian tumor risk in women after assisted reproductive therapy (ART); 2.2 million person years of observation in Great Britain. *Fertil Steril* 2015; 104(3): 37.
15. Lutchman Singh K, Davies M, Chatterjee R. Fertility in female cancer survivors: pathophysiology, preservation and the role of ovarian reserve testing. *Hum Reprod Update* 2005; 11(1): 69–89.
16. Jernström H, Lerman C, Ghadirian P, Lynch HT, Weber B, Garber J, Daly M, Olopade OI, Foulkes WD, Warner E, Brunet JS, Narod SA. Pregnancy and risk of early breast cancer in carriers of BRCA1 and BRCA2. *Lancet* 1999; 354(9193): 1846–1850.
17. Kotsopoulos J, Librach CL, Lubinski J et al. Infertility, treatment of infertility, and the risk of breast cancer among women with BRCA1 and BRCA2 mutations: a case-control study. *Cancer Causes Control* 2008; 19(10): 1111–1119. doi: 10.1007/s10552-008-9175-0.
18. Familiari G, Caggiati A, Nottola SA et al. Ultrastructure of human ovarian primordial follicles after combination chemotherapy for Hodgkin's disease. *Hum Reprod* 1993; 8(12): 2080–2087.
19. Meirow D, Dor J, Kaufman B et al. Cortical fibrosis and blood-vessels damage in human ovaries exposed to chemotherapy. Potential mechanisms of ovarian injury. *Hum Reprod* 2007; 22(6): 1626–1633.
20. Tham YL, Sexton K, Weiss H et al. The rates of chemotherapy-induced amenorrhea in patients treated with adjuvant doxorubicin and cyclophosphamide followed by a taxane. *Am J Clin Oncol* 2007; 30(2): 126–132.
21. Fournier MN, Modi S, Panageas KS et al. Incidence of chemotherapy-induced, long-term amenorrhea in patients with breast carcinoma age 40 years and younger after adjuvant anthracycline and taxane. *Cancer* 2005; 104(8): 1575–1579.
22. Swain SM, Land SR, Ritter MW et al. Amenorrhea in premenopausal women on the doxorubicin-and-cyclophosphamide-followed-by-docetaxel arm of NSABP B-30 trial. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 113(2): 315–320. doi: 10.1007/s10549-008-9937-0.
23. Partridge AH, Gelber S, Peppercorn J et al. Web-based survey of fertility issues in young women with breast cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22(20): 4174–4183.
24. Blakely LJ, Buzdar AU, Lozada JA et al. Effects of pregnancy after treatment for breast carcinoma on survival and risk of recurrence. *Cancer* 2004; 100(3): 465–469.
25. Mueller BA, Simon MS, Deapen D et al. Childbearing and survival after breast carcinoma in young women. *Cancer* 2003; 98(6): 1131–1140.
26. Cvancarova M, Samuelsen SO, Magelssen H et al. Reproduction rates after cancer treatment: experience from the Norwegian radium hospital. *J Clin Oncol* 2009; 27(3): 334–343. doi: 10.1200/JCO.2007.15.3130.
27. Raphael J, Trudeau ME, Chan K. Outcome of patients with pregnancy during or after breast cancer: a review of the recent literature. *Curr Oncol* 2015; 22 (Suppl 1): 8–18. doi: 10.3747/co.22.2338.
28. Velentgas P, Daling JR, Malone KE et al. Pregnancy after breast carcinoma: outcomes and influence on mortality. *Cancer* 1999; 85(11): 2424–2432.
29. Largillier R, Savignoni A, Gligorov J et al. Prognostic role of pregnancy occurring before or after treatment of early breast cancer patients aged < 35 years: a GET(N)A Working Group analysis. *Cancer* 2009; 115(22): 5155–5165. doi: 10.1002/cncr.24608.
30. Ives A, Saunders C, Bulsara M et al. Pregnancy after breast cancer: population-based study. *BMJ* 2007; 334(7586): 194.
31. Pagani O, Partridge A, Korde L et al. Pregnancy after breast cancer: if you wish, ma'am... *Breast Cancer Res Treat* 2011; 129(2): 309–317. doi: 10.1007/s10549-011-1643-7.
32. Azim HA Jr, Santoro L, Pavlidis N et al. Safety of pregnancy following breast cancer diagnosis: a meta-analysis of 14 studies. *Eur J Cancer* 2011; 47(1): 74–83. doi: 10.1016/j.ejca.2010.09.007.
33. Sankila R, Heinävaara S, Hakulinen T. Survival of breast cancer patients after subsequent term pregnancy: „healthy mother effect“. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170(3): 818–823.
34. von Schoultz E, Johansson H, Wilking N et al. Influence of prior and subsequent pregnancy on breast cancer prognosis. *J Clin Oncol* 1995; 13(2): 430–434.
35. Upponi SS, Ahmad F, Whitaker IS et al. Pregnancy after breast cancer. *Eur J Cancer* 2003; 39(6): 736–741.
36. Ford D, Easton DF, Stratton M et al. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet* 1998; 62(3): 676–689.
37. Haffty BG, Harrold E, Khan AJ et al. Outcome of conservatively managed early-onset breast cancer by BRCA1/2 status. *Lancet* 2002; 359(9316): 1471–1477.
38. Metcalfe K, Lynch HT, Ghadirian P et al. Contralateral breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *J Clin Oncol* 2004; 22(12): 2328–2335.
39. Seynaeve C, Verhoog LC, van de Bosch LM et al. Ipsilateral breast tumour recurrence in hereditary breast cancer following breast-conserving therapy. *Eur J Cancer* 2004; 40(8): 1150–1158.
40. O'Donovan PJ, Livingston DM. BRCA1 and BRCA2: breast/ovarian cancer susceptibility gene products and participants in DNA double-strand break repair. *Carcinogenesis* 2010; 31(6): 961–967. doi: 10.1093/carcin/bgq069.
41. King MC, Marks JH, Mandell JB. Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2. *Science* 2003; 302(5645): 643–646.
42. Andrieu N, Goldgar DE, Easton DF et al. Pregnancies, breast-feeding, and breast cancer risk in the International BRCA1/2 Carrier Cohort Study (IBCCS). *J Natl Cancer Inst* 2006; 98(8): 535–544.
43. Rzepka-Górska I, Tarnowski B, Chudecka-Głaz A et al. Premature menopause in patients with BRCA1 gene mutation. *Breast Cancer Res Treat* 2006; 100(1): 59–63.
44. Oktay K, Kim JY, Barad D et al. Association of BRCA1 mutations with occult primary ovarian insufficiency: a possible explanation for the link between infertility and breast/ovarian cancer risks. *J Clin Oncol* 2010; 28(2): 240–244. doi: 10.1200/JCO.2009.24.2057.
45. Valentini A, Lubinski J, Byrski T et al. The impact of pregnancy on breast cancer survival in women who carry a BRCA1 or BRCA2 mutation. *Breast Cancer Res Treat* 2013; 142(1): 177–185. doi: 10.1007/s10549-013-2729-1.
46. Dow KH, Kuhn D. Fertility options in young breast cancer survivors: a review of the literature. *Oncol Nurs Forum* 2004; 31(3): 46–53.
47. Cardonick E, Gilmandyar D, Somer RA. Maternal and neonatal outcomes of dose-dense chemotherapy for breast cancer in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2012; 120(6): 1267–1272. doi: 10.1097/AOG.0b013e31826c32d9.
48. Elliott P. Pathogenesis of cardiotoxicity induced by anthracyclines. *Semin Oncol* 2006; 33 (3 Suppl 8): 2–7.
49. van Dalen EC, van der Pal HJ, van den Bos C et al. Clinical heart failure during pregnancy and delivery in a cohort of female childhood cancer survivors treated with anthracyclines. *Eur J Cancer* 2006; 42(15): 2549–2553.
50. Azim HA Jr, Belletini G, Gelber S et al. Breast-feeding after breast cancer: if you wish, madam. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 114(1): 7–12. doi: 10.1007/s10549-008-9983-7.
51. Azim HA Jr, Belletini G, Liptrott SJ et al. Breastfeeding in breast cancer survivors: pattern, behaviour and effect on breast cancer outcome. *Breast* 2010; 19(6): 527–531. doi: 10.1016/j.breast.2010.05.018.
52. Cardoso F, Loibl S, Pagani O et al. The European Society of Breast Cancer Specialists recommendations for the management of young women with breast cancer. *Eur J Cancer* 2012; 48(18): 3355–3377. doi: 10.1016/j.ejca.2012.10.004.
53. Coyne K, Purdy M, O'Leary K et al. Challenges and considerations in optimizing ovarian stimulation protocols in oncofertility patients. *Front Public Health* 2014; 2: 246. doi: 10.3389/fpubh.2014.00246.
54. Pavone ME, Hirshfeld-Cytron J, Lawson AK et al. Fertility preservation outcomes may differ by cancer diagnosis. *J Hum Reprod Sci* 2014; 7(2): 111–118. doi: 10.4103/0974-1208.138869.
55. Comtet M, Sonigo C, Valdelièvre C et al. Fertility preservation in breast cancer patients: the state of art in 2014. *Bull Cancer* 2015; 102(5): 443–453. doi: 10.1016/j.bulcan.2015.01.008.
56. Rodriguez-Wallberg KA, Oktay K. Fertility preservation and pregnancy in women with and without BRCA mutation-positive breast cancer. *Oncologist* 2012; 17(11): 1409–1417. doi: 10.1634/theoncologist.2012-0236.
57. Sagi M, Weinberg N, Eilat A et al. Preimplantation genetic diagnosis for BRCA1/2 – a novel clinical experience. *Prenat Diagn* 2009; 29(5): 508–513. doi: 10.1002/pd.2232.
58. Cullinan CA, Lubinski J, Neuhausen SL et al. Effect of pregnancy as a risk factor for breast cancer in BRCA1/BRCA2 mutation carriers. *Int J Cancer* 2005; 117(6): 988–991.
59. Meirow D, Raanani H, Maman E et al. Tamoxifen co-administration during controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization in breast cancer patients increases

the safety of fertility-preservation treatment strategies. *Fertil Steril* 2014; 102(2): 488–495. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.05.017.

60. Turan V, Bedoschi G, Moy F et al. Safety and feasibility of performing two consecutive ovarian stimulation cycles with the use of letrozole-gonadotropin protocol for fertility preservation in breast cancer patients. *Fertil Steril* 2013; 100(6): 1681–1685. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.08.030.

61. Revelli A, Porcu E, Levi Setti PE et al. Is letrozole needed for controlled ovarian stimulation in patients with estrogen receptor-positive breast cancer? *Gynecol Endocrinol* 2013; 29(11): 993–996.

62. Muñoz E, González N, Muñoz L et al. Ovarian stimulation in patients with breast cancer. *Ecanermedical science* 2015; 9: 504. doi: 10.3332/ecancer.2015.504.

63. Reddy J, Oktay K. Ovarian stimulation and fertility preservation with the use of aromatase inhibitors in women

with breast cancer. *Fertil Steril* 2012; 98(6): 1363–1369. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.09.022.

64. Huang JY, Chian RC, Gilbert L et al. Retrieval of immature oocytes from unstimulated ovaries followed by in vitro maturation and vitrification: a novel strategy of fertility preservation for breast cancer patients. *Am J Surg* 2010; 200(1): 177–183. doi: 10.1016/j.amjsurg.2009.04.004.

65. Oktay K, Economos K, Kan M et al. Endocrine function and oocyte retrieval after autologous transplantation of ovarian cortical strips to the forearm. *JAMA* 2001; 286(12): 1490–1493.

66. Oktay K, Buyuk E, Veeck L et al. Embryo development after heterotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet* 2004; 363(9412): 837–840.

67. Hüttelová R, Kleibl Z, Řezáčová J et al. Předpoklady pro preimplantační genetickou diagnostiku (PGD) u nosičů mutací v predispozičních nádorových genech. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl): 69–74.

68. Schoolcraft WB, Fragouli E, Stevens J et al. Clinical application of comprehensive chromosomal screening at the blastocyst stage. *Fertil Steril* 2010; 94(5): 1700–1706. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.10.015.

69. Handyside AH, Harton GL, Mariani B et al. Karyomapping: a universal method for genome wide analysis of genetic disease based on mapping crossovers between parental haplotypes. *J Med Genet* 2010; 47(10): 651–658. doi: 10.1136/jmg.2009.069971.

70. Natesan SA, Bladon AJ, Coskun S et al. Genome-wide karyomapping accurately identifies the inheritance of single-gene defects in human preimplantation embryos in vitro. *Genet Med* 2014; 16(11): 838–845. doi: 10.1038/gim.2014.45.

71. Kuliev A, Rechitsky S. Polar body-based preimplantation genetic diagnosis for Mendelian disorders. *Mol Hum Reprod* 2011; 17(5): 275–285. doi: 10.1093/molehr/gar012.

KLINICKÁ ONKOLOGIE

Časopis České onkologické společnosti a Slovenskej onkologickej spoločnosti
The Journal of the Czech and Slovak Oncological Societies

REDAKČNÍ RADA

Výkonná redakční rada (Brno)

vedoucí redaktor

doc. MUDr. Vuk Fait, CSc.

MUDr. Petr Čoupek
doc. MUDr. Lenka Foretová, Ph.D.
doc. MUDr. Martin Klabusay, Ph.D.

výkonný redaktor

doc. MUDr. Marek Svoboda, Ph.D.

MUDr. Ivo Kocák, Ph.D.
MUDr. Jiří Novák
doc. RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D.

RNDr. Sabina Ševčíková, Ph.D.
prof. MUDr. Jan Žaloudík, CSc.

Širší redakční rada

prof. MUDr. Zdeněk Adam, CSc., Brno
MUDr. Otakar Bednařík, Brno
doc. MUDr. Tomáš Büchler, Ph.D., Praha
prof. MUDr. David Cibula, CSc., Praha
MUDr. Karel Cwiertka, Ph.D., Olomouc
doc. MUDr. Ladislav Dušek, Ph.D., Brno
prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc., Praha
doc. MUDr. David Felzl, Ph.D., Ostrava
doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D., Olomouc
prof. MUDr. Roman Hájek, CSc., Ostrava
prof. MUDr. Ľudovít Jurga, DrSc., Trnava
doc. MUDr. Juraj Kaušitz, CSc., Bratislava
prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc., Praha
prof. MUDr. Ivan Koza, DrSc., Bratislava

assoc. prof. Jeong Eon Lee, M.D., Ph.D., Seoul
doc. MUDr. Jozef Mardiak, CSc., Bratislava
prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc., Brno
doc. MUDr. Michal Mego, Ph.D., Bratislava
prof. MUDr. Bohuslav Melichar, Ph.D., Olomouc
doc. MUDr. Beata Mladosičová, CSc., Bratislava
MUDr. Rudolf Nenutil, CSc., Brno
doc. MUDr. Jan Novotný, Ph.D., Praha
prof. MUDr. Dalibor Ondruš, DrSc., Bratislava
doc. RNDr. Martina Ondrušová, Ph.D., Bratislava
prof. Yeon Hee Park, M.D., Ph.D., Seoul
prof. MUDr. Luboš Petruželka, CSc., Praha
prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D., Brno
doc. MUDr. Luděk Pour, Ph.D., Brno

doc. MUDr. Igor Pužanov, Nashville
prof. MUDr. Lukáš Rob, CSc., Praha
prof. MUDr. Miroslav Ryska, CSc., Praha
prof. MUDr. Aleš Ryška, Ph.D., Hradec Králové
prof. MUDr. Jana Skříčková, CSc., Brno
prof. MUDr. Martin Smrčka, Ph.D., Brno
MUDr. Tomáš Svoboda, Ph.D., Plzeň
MUDr. Tomáš Šálek, Bratislava
prof. MUDr. Jaroslav Štěrba, Ph.D., Brno
doc. MUDr. Dalibor Valík, Ph.D., Brno
prof. MUDr. Anna Vašků, CSc., Brno
prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc., dr. h. c., Brno
prof. MUDr. Rostislav Vyzula, CSc., Brno
doc. MUDr. Mária Wagnerová, CSc., Košice

Čestní členové redakční rady

prof. MUDr. Josef Bilder, CSc., Brno
prof. Sándor Eckhardt, Budapešť
prof. Jan Klasterský, Brusel

prof. MUDr. Josef Koutecký, DrSc., Praha
prof. RNDr. Jan Kovařík, DrSc., Brno
prof. MUDr. Zdeněk Mechl, CSc., Brno

MUDr. Jaroslav Němec, CSc., Brno
doc. MUDr. Ivan Pleško, DrSc., Bratislava
MUDr. Viliam Ujházy, DrSc., Bratislava

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2016

KLINICKÁ ONKOLOGIE

Vydává Česká lékařská společnost J. E. Purkyně.

Registrační značka MK ČR 5158. ISSN 0862-495X. ISSN pro on-line přístup 1802-5307.

On-line verze je přístupná na adrese www.linkos.cz nebo www.klinickaonkologie.cz.

Časopis Klinická onkologie je uveden na Seznamu recenzovaných neimpaktovaných periodik vydávaných v ČR, schváleném Radou pro výzkum a vývoj vlády ČR.

Nakladatel: Ambit Media, a.s., Klicperova 604/8, 150 00 Praha 5-Smíchov, tel./fax: +420 222 352 573/572.

Odpovědná redaktorka: Mgr. Simona Nováková, e-mail: simona.novakova@ambitmedia.cz.

Adresa redakce: Ambit Media, a.s., Media Hall, Bidláky 20, 639 00 Brno.

Grafická úprava: Karel Zlevor. Jazyková korektura: Mgr. Ivana Dachary.

Vychází 6krát ročně. Předplatné na rok 2016 činí 540 Kč (22 eur).

Informace o předplatném podává a objednávky předplatitelů přijímá: e-mail: předplatne@ambitmedia.cz.

Informace o podmínkách inzerce poskytuje a objednávky přijímá: Mgr. Blanka Turínová, e-mail: blanka.turinova@ambitmedia.cz, tel.: +420 724 811 983.

Rukopisy vkládejte do redakčního systému: <http://redakce.ambitmedia.cz/ko>; případné dotazy směřujte na e-mail klinickaonkologie@mou.cz

Redakce časopisu Klinická onkologie, Masarykův onkologický ústav, Žlutý kopec 7, 656 53 Brno, e-mail: klinickaonkologie@mou.cz.

Pokyny pro autory naleznete na www.linkos.cz v sekci časopisu nebo na www.klinickaonkologie.cz.

Toto číslo vychází 15. 1. 2016.

Mám rakovinu vaječníku.
OTESTUJTE MĚ
na BRCAm.

ZAČNĚTE MĚ LÉČIT
přípravkem Lynparza (olaparib).

Lynparza, jako udržovací léčba, prokázala významné prodloužení PFS (11,2 vs. 4,3 měs.; HR = 0,18; 95 % IS 0,10–0,31; P < 0,00001) u pacientek s relabujícím karcinomem vaječníku s BRCA mutací citlivým na léčbu platinou.*

Otestujte každou svou pacientku s karcinomem vaječníku* na přítomnost mutace BRCA a najděte tu, která bude mít užitek z léčby přípravkem Lynparza.

ZKRÁCENÁ INFORMACE O PŘÍPRAVKU LYNPARZA®

▼ Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování.

Kvalitativní a kvantitativní složení: Jedna tvrdá tobolka obsahuje olaparibum 50 mg. **Terapeutické indikace:** Přípravek Lynparza je indikován v monoterapii k udržovací léčbě dospělých pacientek s relabujícím high grade serózním epitelálním karcinomem vaječníku, vejcovodu, nebo primárně peritoneálním s mutací BRCA (zárodečnou a/nebo somatickou) citlivým na léčbu platinou, u nichž došlo k relapsu a které odpovídají (úplně nebo částečně) na chemoterapii založenou na platině. **Dávkování a způsob podání:** Přítomnost mutace genu (buď zárodečná nebo v nádoru) náchylnosti k rakovině prsu (BRCA) musí být u pacientky potvrzena před zahájením léčby přípravkem Lynparza. Doporučená dávka přípravku Lynparza je 400 mg (osm tobolek) dvakrát denně, což odpovídá celkové denní dávce 800 mg. Léčba má být zahájena nejpozději 8 týdnů po podání poslední dávky režimu s deriváty platin. V případě výskytu nežádoucích účinků, jako je nauzea, zvracení, průjem nebo anémie, může být léčba přerušena a lze zvážit snížení dávkování. Doporučuje se snížit dávkování na 200 mg 2× denně. Pokud je potřeba výsledné dávkování ještě snížit, může být zváženo snížení na 100 mg 2× denně. Přípravek Lynparza je určen k perorálnímu podání. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. Kojení v průběhu léčby a 1 měsíc po podání poslední dávky. **Zvláštní upozornění:** Hematologická toxicita: Pokud se rozvine těžká hematologická toxicita nebo potřeba krevní transfuze, léčba přípravkem Lynparza má být přerušena a mělo by být provedeno odpovídající hematologické vyšetření. Myelodysplastický syndrom/akutní myeloidní leukémie (MDS/AML): Pokud je v průběhu léčby přípravkem Lynparza potvrzen rozvoj MDS a/nebo AML, pacientka má být odpovídajícím způsobem léčena. Léčba přípravkem Lynparza má být přerušena v případě, že je doporučeno nasadit další protinádorovou léčbu. Přípravek Lynparza se nemá podávat v kombinaci s jinou protinádorovou léčbou. **Pneumonitida:** Pokud se u pacientek objeví nové nebo se zhorší stávající respirační příznaky, jako například dušnost, kašel a horečka, nebo se objeví abnormality na radiologických snímcích, léčba přípravkem Lynparza má být přerušena a pacientka by měla být okamžitě vyšetřena. Pokud je pneumonitida potvrzena, léčba přípravkem Lynparza má být přerušena a pacientka má být odpovídajícím způsobem léčena. Léčba přípravkem Lynparza má být přerušena v případě, že je doporučeno nasadit další protinádorovou léčbu. **Pneumonitida:** Pokud se u pacientek objeví nové nebo se zhorší stávající respirační příznaky, jako například dušnost, kašel a horečka, nebo se objeví abnormality na radiologických snímcích, léčba přípravkem Lynparza má být přerušena a pacientka by měla být okamžitě vyšetřena. Pokud je pneumonitida potvrzena, léčba přípravkem Lynparza má být přerušena a pacientka má být odpovídajícím způsobem léčena. Léčba přípravkem Lynparza má být přerušena v případě, že je doporučeno nasadit další protinádorovou léčbu. **Embryofetální toxicita:** Vzhledem k mechanismu účinku (inhibice PARP), může olaparib podávaný těhotným ženám způsobit poškození plodu. **Interakce:** Je třeba se vyhnout současnému užívání olaparibu a silných induktorů nebo inhibitorů CYP3A. V případě, že pacientka, která užívá olaparib, má být léčena inhibitory CYP3A nebo inhibitory P-gp, je třeba pečlivě monitorovat nežádoucí účinky olaparibu a doporučuje se korigovat tyto nežádoucí účinky snížením dávky. **Těhotenství a kojení:** Přípravek Lynparza se nesmí podávat v průběhu těhotenství a ženám ve fertilním věku, které neužívají spolehlivou antikoncepci v průběhu léčby a dále ještě 1 měsíc po podání poslední dávky přípravku Lynparza. Přípravek Lynparza je kontraindikován v průběhu kojení a ještě 1 měsíc po podání poslední dávky. **Nežádoucí účinky:** Monoterapie olaparibem byla provázena nežádoucími účinky nejčastěji mírné nebo střední závažnosti, které ve většině případů nevedly k nutnosti přerušit léčbu. Nejčastější pozorovanými nežádoucími účinky v klinických studiích u pacientek užívajících monoterapii olaparibem (≥ 10 %) byly nauzea, zvracení, průjem, dyspepsie, únava, bolesti hlavy, poruchy chuti, snížená chuť k jídlu, závrať, anémie, neutropenie, lymfopenie, zvýšení středního objemu erytrocytů a zvýšený kreatinin. **Zvláštní populace:** Přípravek Lynparza může být podáván pacientkám s mírnou poruchou funkce ledvin (clearance kreatininu > 50 ml/min), ale o použití u pacientek se středně těžkou (clearance kreatininu < 50 ml/min) nebo těžkou poruchou funkce (clearance kreatininu < 30 ml/min) jsou omezené údaje. Použití přípravku Lynparza u pacientek s poruchou funkce jater (hladina sérového bilirubinu > 1,5krát vyšší než horní hranice normálních hodnot) není doporučeno. Populační analýza dostupných dat neodhalila žádné údaje, že by hmotnost pacientky ovlivňovala plazmatické koncentrace olaparibu, a neprokázala vztah mezi plazmatickými koncentracemi olaparibu a věkem pacientky. **Zvláštní opatření pro uchovávání:** Uchovávejte při teplotě do 30 °C. **Balení přípravku:** Plastová HDPE lahvička s dětským bezpečnostním uzávěrem obsahující 112 tvrdých tobolek. Balení obsahuje 448 tobolek (4 lahvičky po 112 tobolekách). **Držitel rozhodnutí o registraci:** AstraZeneca AB, SE-151 85 Södertälje, Švédsko. **Registrační číslo:** EU/1/14/959/001. **Datum revize textu SPC:** 16. 12. 2014. **Referenční číslo dokumentu:** 16122014API_1.

Výdej léčivého přípravku vázán na lékařský předpis. Přípravek není hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Předtím, než přípravek předepíšete, přečtěte si pozorně úplnou informaci o přípravku, kterou naleznete na adrese: AstraZeneca Czech Republic s. r. o., Jinonice 921, 158 00 Praha 5, tel.: +420 222 807 111, fax: +420 227 204 748, na www.astrazeneca.cz nebo na webových stránkách Evropské agentury pro léčivé přípravky <http://www.ema.europa.eu/>.

Registovaná ochranná známka LYNPARZA je majetkem AstraZeneca plc. © AstraZeneca 2015

* high-grade serózní epitelální karcinom vaječníku, vejcovodu, nebo primárně peritoneální

Literatura:

1. Ledermann J et al. Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed serous ovarian cancer: a preplanned retrospective analysis of outcomes by BRCA status in a randomised phase 2 trial. The Lancet Oncology [online]. 2014, vol. 15, issue 8, s. 852–861 [cit. 2015-04-03]. DOI: 10.1016/s1470-2045(14)70228-1.