

KLINICKÁ ONKOLOGIE

Hereditární nádorová onemocnění V.

Hereditary Cancer Diseases V.

Kolektiv autorů



AVENIO NGS Oncology Assays



- **Pan-cancer NGS assay** with unsurpassed sensitivity and specificity
- **Exactly-matched tumor tissue and ctDNA panels** (same genes, gene regions and hybrid-capture workflow) for concordance analysis and flexibility allowing to switch between tissue and plasma for detection and monitoring.
- **All four mutation classes** (SNVs, indels, fusions and CNVs) in a single assay with results in five days. AVENIO kits are able to detect **variant allele frequencies down to 0.1%** while maintaining a low error rate down to 0.001%
- Three test choices provide accurate insights into different stages and types of cancer:
 - **AVENIO DNA Targeted Kit** is a 17 gene pan-cancer assay for identifying guideline-related biomarkers
 - **AVENIO DNA Expanded Kit** is a 77 gene pan-cancer assay (both guideline-related and emerging biomarkers)
 - **AVENIO DNA Surveillance Kit** contains 197 genes and is optimized to longitudinally monitor tumor burden
- 99% success rate for FFPE tissue samples that pass input QC testing
- AVENIO represents a complex solution, which includes reagents, bioinformatics and software



Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.
AVENIO is a trademark of Roche. All other product names and trademarks are the property of their respective owners.

Roche s.r.o., Diagnostická divize, Na Valentince 3336/4, 150 00 Praha 5
Více informací najdete na stránkách: <https://sequencing.roche.com>

Editorial

Vážení kolegové, po třech letech nastal čas pro další supplementum Klinické onkologie na téma hereditární nádorová onemocnění, tentokrát v pořadí již páté. Těmito suplementy se snažíme předat lékařům další informace o syndromech, indikacích, hodnocení výsledků testování pomocí sekvenování nové generace (new generation sequencing – NGS), ale i o léčbě nádorů a vzácných dědičných nádorových onemocnění.

Genetické testování dědičných nádorových nemocí se ve všech laboratorních přesunulo od testování individuálních genů k testování panely mnoha genů pomocí NGS. Testování NGS je jedinou metodou, která může být použita v diagnostice nádorových syndromů a je hrazena pojišťovny. Laboratoře musí splnit akreditační podmínky Českého institutu pro akreditaci. Každá laboratoř může používat jiný panel k testování, panely však musí obsahovat minimálně 22 určených genů pro hlavní nádorové syndromy. Na mnoha pracovištích je však používán „pan-cancer“ panel (např. CZE-CANCA), který zahrnuje všechny dosud známé geny pro dědičné nádorové syndromy, ale i geny potenciálně rizikové. Interpretace výsledků je vždy poměrně náročný proces, kdy je nutné odlišit klinicky důležité, potenciálně důležité a pravděpodobně nedůležité nálezy. Situaci komplikují i nálezy heterozygotních přenašečů recesivních syndromů, o kterých jsme se na fakultě učili, ale málokdo se s nimi v praxi setkal u pacienta. Článek Koudové et al [1] se snaží objasnit možný přístup k přenašečům jedné patogenní mutace, heterozygotům pro Fanconio anémii, Bloomův syndrom a jiné vzácné syndromy, u nichž je možné zvýšené riziko některých nádorů, ale zároveň zde hrozí riziko narození dítěte s tímto závažným recesivním syndromem. V dalším článku je navrhována úprava indikačních

kritérií pro testování dědičné formy karcinomu prsu a ovarií a doporučena možná prevence u vzácnějších příčin rizik těchto nádorů (Foretová et al [2]). Jak hodnotit mutace a varianty v *CHEK2* genu a jak je použít v praxi je součástí dalšího důležitého článku, stejně jako naše současné poznatky o genetických příčinách karcinomu ovarií, získané ze společně řešeného AZV grantu.

BRCA1 a *BRCA2* geny jsou stále nejčastější příčinou vysokého rizika karcinomu prsu a ovarií. Přehled výsledků za 20 let testování v Masarykově onkologickém ústavu s klasifikací mutací a variant je předložen v článku Macháčkové et al [3].

Další možnosti v testování polypóz tlustého střeva a žaludku, informace o GAPPs syndromu s vysokým rizikem polypózy a karcinomu žaludku, pohled patologa na polypózní změny zažívacího traktu jsou taktéž důležitou součástí supplementa.

Gynekologické nádory dětského věku, syndromy s nimi spojené, jejich diagnostika vč. kazuistik syndromu DICER1 jsou zajímavými informacemi pro praxi. BAP1 syndrom s rizikem melanomů kůže i oka, s rizikem maligního mezoteliomu i dalších nádorů by neměl být v praxi přehlížen, neboť včasná preventivní péče může být život zachraňující. Úloha patologa s imunohistochemickým vyšetřením exprese BAP1 u spitzoidních névů může být velkou pomocí.

Léčba nádorů se velmi rychle vyvíjí. Článek Palácové [4] se zabývá novými přístupy k systémové léčbě u nosiček *BRCA1/2* mutací, Holánek et al [5] popisuje zkušenosti s neoadjuvantní léčbou platinovými deriváty u nosiček mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2*.

Klinická doporučení se odvíjejí od našich současných znalostí, publikačních výsledků, zkušeností i mezinárodních

doporučení. Vždy je však nutné každý případ hodnotit individuálně, v kontextu osobní a rodinné anamnézy. Indikační kritéria nemohou obsáhnout všechny podezřelé případy rodinné anamnézy, mnoho nádorových rodin nemá úplně typické projevy a je nutné individuálně zvážit, zda testování indikovat. NGS panely dnes umožní lepší diagnostiku nádorového syndromu, v některých rodinách je nalezena neobvyklá příčina onemocnění. Hodnocení lékařského genetika s vysvětlením rizik, testování v rodině a s návrhem preventivních opatření je vždy důležité.

Doufáme, že články supplementa pro vás budou užitečné. Navazují na články předchozích supplement (1–4), kde jsou popsány další důležité syndromy a doporučení. Děkujeme všem autorům článků za jejich významný příspěvek do tohoto supplementa.

doc. MUDr. Lenka Foretová, Ph.D.
prim. MUDr. Katarína Petránková, Ph.D.
Masarykův onkologický ústav, Brno

Literatura

1. Koudová M, Puchmajerová A. Rizika solidních nádorů u heterozygotních přenašečů recesivních syndromů. *Klin Onkol* 2019; 32 (Suppl 2): 2S14–2S23. doi: 10.14735/amko2019S14.
2. Foretová L, Navrátilová M, Svoboda M et al. Doporučení pro sledování žen se vzácnějšími genetickými příčinami nádorů prsu a ovarií. *Klin Onkol* 2019; 32 (Suppl 2): 2S6–2S13. doi: 10.14735/amko2019S6.
3. Macháčková E, Claes K, Miková M et al. Dvacet let molekulární analýzy genů *BRCA1* a *BRCA2* v MOÚ – aktuální vývoj v klasifikaci nálezů. *Klin Onkol* 2019; 32 (Suppl 2): 2S51–2S71. doi: 10.14735/amko2019S51.
4. Palácová M. Karcinom prsu u nosiček mutací v genu *BRCA1/2* – léčíme ho jinak? Zaměřeno na systémovou terapii u mutací v genu *BRCA1/2*. *Klin Onkol* 2019; 32 (Suppl 2): 2S4–2S30. doi: 10.14735/amko2019S24.
5. Holánek M, Bílek O, Nenutil R et al. Zhodnocení účinnosti neoadjuvantní chemoterapie s platinovým derivátem u pacientek se zárodečnou mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2* – retrospektivní analýza souboru pacientek s karcinomem prsu léčených v MOÚ Brno. *Klin Onkol* 2019; 32 (Suppl 2): 2S31–2S35. doi: 10.14735/amko2019S31.

Obsah | Contents

Editorial	2S3
Doporučení pro sledování žen se vzácnějšími genetickými příčinami nádorů prsu a ovarií Recommendations for Preventive Care for Women with Rare Genetic Cause of Breast and Ovarian Cancer Foretová L., Navrátilová M., Svoboda M., Vašíčková P., Stáhlová Hrabincová E., Házová J., Kleiblová P., Kleibl Z., Macháčková E., Palácová M., Petráková K.	2S6
Rizika solidních nádorů u heterozygotních přenašečů recesivních syndromů Risks of Solid Tumors in Heterozygous Carriers of Recessive Syndromes Koudová M., Puchmajerová A.	2S14
Karcinom prsu u nosiček mutací v genu <i>BRCA1/2</i> – léčíme ho jinak? Zaměřeno na systémovou terapii u mutací v genu <i>BRCA1/2</i> Breast Cancer in <i>BRCA1/2</i> Mutation Carriers – Do We Treat It Differently? Focus on Systemic Therapy for <i>BRCA1/2</i> Associated Breast Cancer Palácová M.	2S24
Zhodnocení účinnosti neoadjuvantní chemoterapie s platinovým derivátem u pacientek se zárodečnou mutací v genech <i>BRCA1</i> a <i>BRCA2</i> – retrospektivní analýza souboru pacientek s karcinomem prsu léčených v MOÚ Brno Effectiveness of Neoadjuvant Therapy with Platinum-Based Agents for Patients with <i>BRCA1</i> and <i>BRCA2</i> Germline Mutations – A Retrospective Analysis of Breast Cancer Patients Treated at MMCI Brno Holánek M., Bílek O., Nenutil R., Kazda T., Selingerová I., Zvaríková M., Palácová M., Krásenská M., Vyzula R., Petráková K.	2S31
Dědičné mutace v genu <i>CHEK2</i> jako příčina dispozice k nádorům prsu – typy mutací, jejich biologická a klinická relevance Germline <i>CHEK2</i> Gene Mutations in Hereditary Breast Cancer Predisposition – Mutation Types and their Biological and Clinical Relevance Kleiblová P., Stolařová L., Křížová K., Lhota F., Hojný J., Zemánková P., Havránek O., Vočka M., Černá M., Lhotová K., Borecká M., Janatová M., Soukupová J., Ševčík J., Zimovjanová M., Kotlas J., Panczak A., Veselá K., Červenková J., Schneiderová M., Burócziová M., Burdová K., Stránecký V., Foretová L., Macháčková E., Tavandzis S., Kmoch S., Macůrek L., Kleibl Z.	2S36
Twenty Years of <i>BRCA1</i> and <i>BRCA2</i> Molecular Analysis at MMCI – Current Developments for the Classification of Variants Dvacet let molekulární analýzy genů <i>BRCA1</i> a <i>BRCA2</i> v MOÚ – aktuální vývoj v klasifikaci nálezů Machackova E., Claes K. B. M., Mikova M., Hazova J., Stahlova Hrabincova E., Vasickova P., Trbusek M., Navratilova M., Svoboda M., Foretova L.	2S51
Přínos masivního paralelního sekvenování pro diagnostiku dědičných forem nádorů ovaria v České republice Contribution of Massive Parallel Sequencing to Diagnosis of Hereditary Ovarian Cancer in the Czech Republic Soukupová J., Lhotová K., Zemánková P., Vočka M., Janatová M., Stolařová L., Borecká M., Kleiblová P., Macháčková E., Foretová L., Koudová M., Lhota F., Tavandzis S., Zikán M., Stránecký V., Veselá K., Panczak A., Kotlas J., Kleibl Z.	2S72
Vzácné pediatrické ovariální tumory a jejich genetické příčiny Genetic Causes of Rare Pediatric Ovarian Tumors Plevová P., Geržová H.	2S79
Polypózy zažívacího traktu a Lynchův syndrom z pohledu patologa Gastrointestinal Polyposes and Lynch Syndrome – a Pathologist's Perspective Pokorová Š., Fabian P.	2S92

- Nové poznatky o geneticky podmíněných nádorech tlustého střeva a polypózách gastrointestinálního traktu** **2S97**
An Update on Inherited Colon Cancer and Gastrointestinal Polyposis
Plevová P.
- GAPPS – Gastric Adenocarcinoma and Proximal Polyposis of the Stomach Syndrome in 8 Families Tested at Masaryk Memorial Cancer Institute – Prevention and Prophylactic Gastrectomies** **2S109**
GAPPS – syndrom adenokarcinomu žaludku a mnohočetné polypózy žaludku v 8 rodinách testovaných v Masarykově onkologickém ústavu – prevence vč. profylaktické gastrektomie
Foretova L., Navrátilová M., Svoboda M., Grell P., Nemeč L., Sirotek L., Obermannová R., Novotný I., Sachlova M., Fabian P., Kroupa R., Vasickova P., Hazova J., Stahlova Hrabincova E., Machackova E.
- Syndrom BAP1 – predispozice k malignímu mezoteliomu, kožnímu a uveálnímu melanomu, renálnímu karcinomu a dalším nádorům** **2S118**
BAP1 Syndrome – Predisposition to Malignant Mesothelioma, Skin and Uveal Melanoma, Renal and Other Cancers
Foretová L., Navrátilová M., Svoboda M., Házová J., Vašíčková P., Stahlová Hrabincová E., Fabian P., Schneiderová M., Macháčková E.
- Syndrom DICER1** **2S123**
DICER1 Syndrome
Hořínová V., Drábová K., Nosková H., Bajčiová V., Soukalová J., Černá L., Hůrková V., Slabý O., Štěřba J.

Doporučení pro sledování žen se vzácnějšími genetickými příčinami nádorů prsu a ovarií

Recommendations for Preventive Care for Women with Rare Genetic Cause of Breast and Ovarian Cancer

Foretová L.¹, Navrátilová M.¹, Svoboda M.^{1,2}, Vašíčková P.¹, Šťahlavá Hrabincová E.¹, Házová J.¹, Kleiblová P.³, Kleibl Z.³, Macháčková E.¹, Palácová M.², Petráková K.²

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

² Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

³ Ústav biochemie a experimentální onkologie 1. LF UK, Praha

Souhrn

Dědičná predispozice k nádorům prsu je příčinou 5–10 % nádorů prsu. Vysoce rizikové geny *BRCA1* a *BRCA2* způsobují až 85% celoživotní riziko nádorů prsu a 20–60% riziko nádorů varlečků nebo vejcovodů. S rozvojem technologií bylo zavedeno sekvenování nové generace neboli masivní paralelní sekvenování jako základní diagnostická metoda umožňující paralelní testování řady predispozičních genů u geneticky heterogenních dědičných nádorových syndromů (pojišťovnou požadováno vyšetření 22 genů). Kromě *BRCA1* a *BRCA2* byly charakterizovány další geny, jejichž vrozené mutace predisponují k dědičným formám karcinomu prsu a/nebo ovarií. Za vysocí rizikové geny pro nádory prsu jsou považovány *TP53*, *STK11*, *CDH1*, *PTEN*, *PALB2*, *NF1*, za geny středního rizika (2–4krát zvýšené riziko) *ATM*, *CHEK2*, *NBN*, podobné riziko se předpokládá i u genů pro Lynchův syndrom, *MUTYH*, *BRIP1*, *RAD51C*, *RAD51D*, *BARD1*, *FANCA*, *FANCC*, *FANCM*, *BLM*, *WRN*, event. u heterozygotů pro jiné autozomálně recesivní nádorové syndromy, kde je míra rizika vzniku karcinomu prsu předmětem aktuálního výzkumu. Nízce rizikové geny nemají dosud klinické využití. U nádorů ovarií jsou dalšími významně rizikovými geny především geny pro Lynchův syndrom, dále geny *BRIP1*, *RAD51C* a *RAD51D*. Preventivní péče by měla být navrhována dle předpokládaného kumulativního rizika karcinomu prsu (doporučení viz <http://www.mamo.cz>) – riziko nad 20 % u genů *BRCA1/2*, *TP53*, *PTEN*, *STK11*, *CDH1*, *PALB2*, *CHEK2*, *ATM*, *NF1*, riziko 10–20 % pro geny *MUTYH*, geny pro Lynchův syndrom, *BRIP1*, *RAD51C*, *RAD51D*, *BARD1*, *FANCA*, *FANCC*, *FANCM*, *NBN*, *BLM*, *WRN*. Hodnocení rizika provádí genetik při zohlednění přítomnosti dědičných mutací a empirického rizika plynoucího z rodinné anamnézy. Profylaktická mastektomie je vždy zvažována individuálně. U vysocí rizikových genů je vhodná, u středně rizikových genů není doporučována, ale lze ji zvážit dle rodinné anamnézy, rizikovosti parenchymu prsní žlázy a dalších rizikových faktorů. Riziko nádorů ovarií je závažně zvýšené i pro geny *BRIP1*, *RAD51C* a *RAD51D*. V prevenci karcinomu ovarií je profylaktická adnexektomie důležitá i u nosiček zárodečných mutací v těchto genech. U rodin s nádory ovarií bez zjištěné rizikové zárodečné mutace není cílená prevence doporučována, nicméně vzhledem k čtyřnásobnému empirickému riziku karcinomu ovarií u prvostupňových příbuzných lze adnexektomii jako jedinou účinnou metodu prevence individuálně zvážit.

Klíčová slova

geny – *BRCA1* – *BRCA2* – genetické testování – profylaktická mastektomie – profylaktická adnexektomie – vysokokapacitní nukleotidové sekvenování

Podpořeno z grantového projektu MZ ČR – RVO (MOÚ, 00209805), AZV 15-27695A a AZV 16-29959A.

Supported by the grant project MH CZ – RVO (MMCI, 00209805), AZV 15-27695A and AZV 16-29959A.

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: 17. 5. 2019

Přijato/Accepted: 31. 5. 2019

doi: 10.14735/amko2019S6

Summary

An inherited predisposition to breast cancer underlies 5–10% of breast tumors. High-risk *BRCA1* and *BRCA2* genes result in an 85% lifetime risk of breast cancer and a 20–60% lifetime risk of ovarian cancer. Next-generation sequencing or massive parallel sequencing are now established testing methods that enable screening for many genes that predispose to heterogeneous hereditary cancer syndromes (22 genes are required by the health insurance companies). In addition to *BRCA1* and *BRCA2*, inherited mutations in other genes predispose to breast and/or ovarian cancer. High-risk breast cancer genes include *TP53*, *STK11*, *CDH1*, *PTEN*, *PALB2*, and *NF1*, while moderate-risk (2–4 times increased risk) breast cancer genes include *ATM*, *CHEK2*, and *NBN*. Moderate risk is also suggested for Lynch syndrome, *MUTYH*, *BRIP1*, *RAD51C*, *RAD51D*, *BARD1*, *FANCA*, *FANCC*, *FANCM*, *BLM*, *WRN* genes. In heterozygotes for other recessive syndromes the risk of developing breast cancer is subject to current research. Low-risk genes are (mostly) irrelevant from a clinical perspective. Other genes that increase the risk of ovarian cancer include the genes for Lynch syndrome, the *BRIP1*, *RAD51C* and *RAD51D* genes. Preventive care should be proposed based on assumed cumulative breast cancer risk (see <http://www.mamo.cz>): a risk of >20% for *BRCA1/2*, *TP53*, *PTEN*, *STK11*, *CDH1*, *PALB2*, *CHEK2*, *ATM*, and *NF1*; and a risk of 10–20% for *BRIP1*, *RAD51C*, *RAD51B*, *BARD1*, *FANCA*, *FANCC*, *FANCM*, *NBN*, *BLM*, and *WRN*. The genetic risk should be assessed by a geneticist and be based on inherited mutations and empirical risk according to family history. Prophylactic mastectomy is considered for high-risk gene carriers but not for moderate-risk gene carriers; however, it may be considered if there is an underlying family history, a risk of parenchyma of the mammary gland, or other risk factors. Ovarian cancer risk increases significantly in carriers of the *BRIP1*, *RAD51C*, and *RAD51D* genes. For prevention of ovarian cancer, prophylactic salpingo-oophorectomy is an important component of preventive care. In ovarian cancer families with no identified risk germline mutation, preventive salpingo-oophorectomy is not routinely recommended but may be considered as the only efficient method of prevention due to the increased empirical risk (4 times) of ovarian cancer in first-degree relatives.

Key words

genes – *BRCA1* – *BRCA2* – genetic testing – prophylactic mastectomy – salpingo-oophorectomy – high-throughput nucleotide sequencing

Úvod

Je odhadováno, že asi 5–10 % nádorů prsu a až 20 % nádorů ovarií je asociováno s dědičnou nádorovou predispozicí [1]. Identifikace příčinných mutací v genech *BRCA1* (MIM:113705) a *BRCA2* (MIM:600185) má významný vliv na léčbu, další sledování a prevenci pacientky, na prediktivní testování rodinných příslušníků a snížení incidence nádorových onemocnění v těchto rodinách [2,3]. Rizika nádorových onemocnění u nosiček *BRCA1* a *BRCA2* mutace jsou mnohonásobně vyšší, než má ostatní populace, pro nádory prsu 50–85 %, pro nádory ovarií 10–60 % [4]. Díky rychlému rozvoji genetického testování pomocí metody nové generace sekvenování (NGS) s využitím paralelního sekvenování velkého množství rizikových genů v rámci panelu, jsou získávána data o významu dalších rizikových genů pro nádory prsu a ovarií [4,5]. Tato metoda je přínosná pro testování hereditárních nádorových syndromů, které jsou geneticky heterogenní.

Základními indikacemi k testování dědičné dispozice k nádorům prsu a ovarií jsou kritéria, která byla publikována v supplementu Klinické onkologie 2016 [6] na základě doporučení NCCN (National Comprehensive Cancer Network). Nyní byla NCCN kritéria k testování modifikována a rozšířena. Podle těchto doporučení navrhuje níže uvedená rozšířená indikační kritéria k testování.

Indikační kritéria pro testování dědičné formy nádorů prsu a ovarií (modifikovaná dle NCCN [7], National Comprehensive Cancer Guidelines, 2019, schválená Společností lékařské genetiky 2019)

Sporadické formy

- 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 triple negativním karcinomem prsu (triple-negative breast cancer – TNBC);
- unilaterální karcinom prsu do 45 let (do 50 let, pokud není vůbec známá 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 příbuzní (vč. probandky) s karcinomem prsu v jakémkoliv věku;
- 2 příbuzní:

- 2 příbuzní (vč. probandky) s karcinomem prsu, alespoň jedna diagnostikována ve věku pod 50 let, nebo obě do 60 let (empirické riziko karcinomu prsu je pro přímé příbuzné nad 20 %, tj. vysoké, a doporučujeme magnetickou rezonanci (magnetic resonance imaging – MRI) prsou);
- probandka s karcinomem prsu v jakémkoliv věku a přímý příbuzný s
 - karcinomem ovaria;
 - TNBC/medulárním karcinomem prsu;
 - karcinomem prsu u muže;
 - karcinomem slinivky;
 - high-grade (Gleason score ≥ 7) nebo primárně metastatickým karcinomem prostaty.

Zjištění somatické mutace v tumoru (mutace IARC (International Agency for Research on Cancer) class 4–5 – mutace pravděpodobně patogenní nebo patogenní) v genech asociovaných s hereditárním karcinomem prsu a ovaria v tumoru (prsu, ovaria, ale i jiných typech nádorů).

Indikace k testování pro nádory prostaty (modifikace doporučení testování *BRCA1/2* – Modrá kniha ČOS 2017, s. 110) [8]

- ≥ 2 případy karcinomu prostaty u blízkých příbuzných, alespoň u jednoho ve věku ≤ 55 let;
- ≥ 3 případy karcinomu prostaty u blízkých příbuzných;

- karcinom prostaty (Gleason score ≥ 7 nebo primárně metastatický karcinom) a ≥ 1 případ karcinomu prsu, ovaria nebo pankreatu u blízkých příbuzných (viz výše).

V současné době jsou indikována genetická testování *BRCA1/2* genů z důvodů léčby

- indikace vhodné operační léčby, rozhodnutí o vhodné chemoterapii (u pacientek s TNBC zařazení platinového derivátu do léčby), pacientka by však měla splňovat indikační kritéria k testování;
- pro zařazení pacientky do léčby PARP (poly-adenozindifosfát-ribózo-polymerázy) inhibitory u nádorů ovarii (high-grade serózní);
- v těchto případech onkolog nebo gynecolog odesílá pacientku urgentně na genetickou konzultaci a k testování a vždy uvede, do jakého termínu je nutný výsledek pro klinické rozhodování;
- o dalších indikacích k testování z důvodu léčby pacienta rozhoduje ošetřující lékař vzhledem k rychle se rozvíjejícím možnostem nových léčebných postupů.

Prediktivní testování známé rodinné mutace provádíme u příbuzných od 18 let věku (ve zvláštních případech individuálně). Mutace vhodné k testování zdravých příbuzných jsou klasifikovány jako patogenní (IARC class 5) nebo pravděpodobně patogenní (IARC class 4).

Genetické poradenství je vždy nutné k indikaci testování a k interpretaci výsledků.

Původní kritéria jsou rozšířená o indikace testování karcinomu slinivky a agresivního nebo metastatického karcinomu prostaty v souvislosti s dalším příbuzným s nádorem prsu, ovaria. Z dosavadních údajů [9,10] je zřejmé, že neselektované karcinomy slinivky jsou v 3,5–5,5 % dědičné, způsobené především zárodečnými mutacemi v genech *BRCA2*, méně často *BRCA1*, ale i v dalších genech (*ATM*, *PALB2*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *TP53*, *CDKN2A*, *APC*, *STK11*). Karcinom slinivky je agresivní, často letální onemocnění, genetické testování by mělo být indikováno následně po diagnóze onemocnění. Zjištění zárodečné mutace by mohlo vést k indikaci cílené léčby.

Obr. 1. Seznam genů panelu CZECANCA verze 1.1. (NimbleGene EZ Choise Seq-Cap Target Enrichment).

Seznam zahrnutých 226 genů: *AIP*; *ALK*; *APC*; *APEX1*; *ATM*; *ATMIN*; *ATR*; *ATRIP*; *AURKA*; *AXIN1*; *BABAM1*; *BAP1*; *BARD1*; *BLM*; *BMPR1A*; *BRAP*; *BRCA1*; *BRCA2*; *BRCC3*; *BRE*; *BRIP1*; *BUB1B*; *C11orf30*; *C19orf40*; *casp8*; *CCND1*; *CDC73*; *CDH1*; *CDK4*; *CDKN1B*; *CDKN1C*; *CDKN2A*; *CEBPA*; *CEP57*; *CLSPN*; *CSNK1D*; *CSNK1E*; *CWF19L2*; *CYLD*; *DCLRE1C*; *DDB2*; *DHFR*; *DICER1*; *DIS3L2*; *DMBT1*; *DMC1*; *DNAJC21*; *DPYD*; *EGFR*; *EPCAM*; *EPHX1*; *ERCC1*; *ERCC2*; *ERCC3*; *ERCC4*; *ERCC5*; *ERCC6*; *ESR1*; *ESR2*; *EXO1*; *EXT1*; *EXT2*; *EYA2*; *EZH2*; *FAM175A*; *FAM175B*; *FAN1*; *FANCA*; *FANCB*; *FANCC*; *FANCD2*; *FANCE*; *FANCF*; *FANCG*; *FANCI*; *FANCL*; *FANCM*; *FBXW7*; *FH*; *FLCN*; *GADD45A*; *GATA2*; *GPC3*; *GRB7*; *HELQ*; *HNF1A*; *HOXB13*; *HRAS*; *HUS1*; *CHEK1*; *CHEK2*; *KAT5*; *KCNJ5*; *KIT*; *LIG1*; *LIG3*; *LIG4*; *LMO1*; *LRIG1*; *MAX*; *MCPH1*; *MDC1*; *MDM2*; *MDM4*; *MEN1*; *MET*; *MGMT*; *MLH1*; *MLH3*; *MMP8*; *MPL*; *MRE11A*; *MSH2*; *MSH3*; *MSH5*; *MSH6*; *MSR1*; *MUS81*; *MUTYH*; *NAT1*; *NBN*; *NCAM1*; *NELFB*; *NF1*; *NF2*; *NFKBIZ*; *NHEJ1*; *NSD1*; *OGG1*; *PALB2*; *PARP1*; *PCNA*; *PHB*; *PHOX2B*; *PIK3CG*; *PLA2G2A*; *PMS1*; *PMS2*; *POLB*; *POLD1*; *POLE*; *PPM1D*; *PREX2*; *PRF1*; *PRKAR1A*; *PRKDC*; *PTEN*; *PTCH1*; *PTTG2*; *RAD1*; *RAD17*; *RAD18*; *RAD23B*; *RAD50*; *RAD51*; *RAD51AP1*; *RAD51B*; *RAD51C*; *RAD51D*; *RAD52*; *RAD54B*; *RAD54L*; *RAD9A*; *RB1*; *RBBP8*; *RECQL*; *RECQL4*; *RECQL5*; *RET*; *RFC1*; *RFC2*; *RFC4*; *RHBDP2*; *RNF146*; *RNF168*; *RNF8*; *RPA1*; *RUNX1*; *SBD5*; *SDHA*; *SDHAF2*; *SDHB*; *SDHC*; *SDHD*; *SETBP1*; *SETX*; *SHPRH*; *SLX4*; *SMAD4*; *SMARCA4*; *SMARCB1*; *SMARCE1*; *STK11*; *SUFU*; *TCL1A*; *TELO2*; *TERF2*; *TERT*; *TLR2*; *TLR4*; *TMEM127*; *TOPBP1*; *TP53*; *TP53BP1*; *TSC1*; *TSC2*; *TSHR*; *UBE2A*; *UBE2B*; *UBE2I*; *UBE2V2*; *UBE4B*; *UIMC1*; *VHL*; *WRN*; *WT1*; *XPA*; *XPC*; *XRCC1*; *XRCC2*; *XRCC3*; *XRCC4*; *XRCC5*; *XRCC6*; *ZNF350*; *ZNF365*.

TNBC je způsoben *BRCA1* nebo *BRCA2* mutací u 9,3–13 % neselektovaných nádorů [11–13]. Vzhledem k důležitosti nálezu zárodečné mutace pro predikci rizika v rodině a pro indikaci léčby s použitím platinových derivátů je vhodné rozšíření testování TNBC v souvislosti s výskytem dalšího nádoru prsu v rodině, nádorů ovaria, slinivky a agresivního nádoru prostaty.

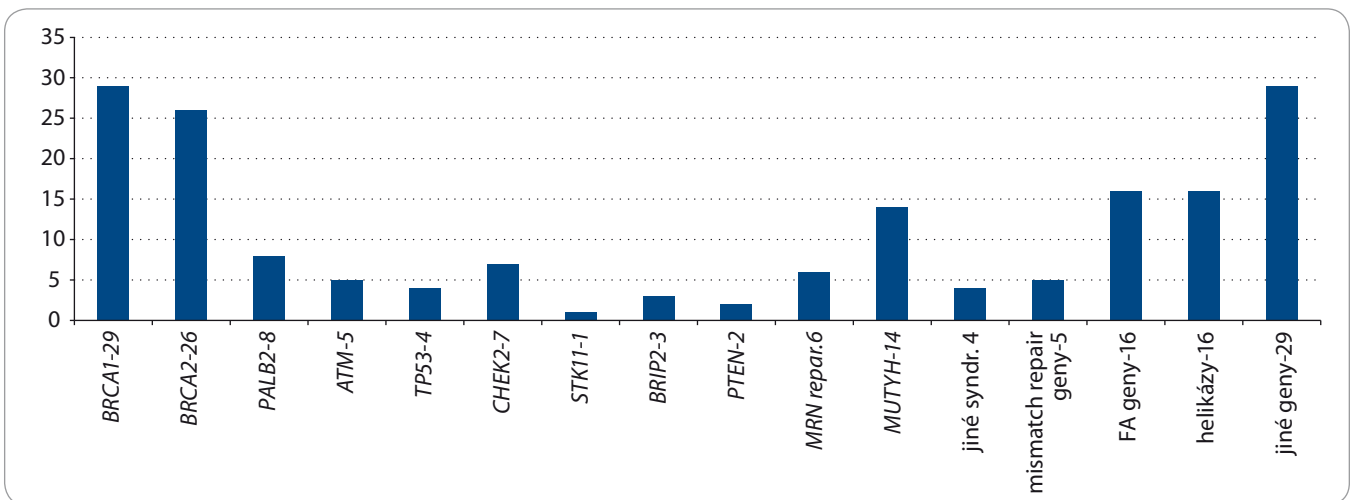
Testování pomocí nové generace sekvenování

Jako hlavní metoda testování hereditárních nádorových syndromů je v posledních letech používána metoda masivního paralelního sekvenování, která umožňuje paralelní sekvenaci velkého množství genů a získání komplexní genetické informace u jednoho pacienta. Všechna pracoviště v ČR musí používat k diagnostice dědičné nádorové predispozice NGS panel, který zahrnuje škálu minimálně 22 určených genů. Laboratoře musí být akreditovány Českým institutem pro akreditaci dle normy ISO 15189, jinak nemohou testování v klinické genetice poskytovat. Uvedené vyšetření panelem je hodnoceno pojišťovnou jednotnou cenou. Celý postup testování, a především hodnocení dat se však může lišit dle pracoviště, které molekulárně genetické testování provádí.

Pracoviště může používat panel genů, které jsou specifické pro předpokládanou diagnózu. Většinou je potom hodnocen menší panel genů a nemusí být zjištěny méně pravděpodobné příčiny dědičné dispozice, tzv. diskordantní nálezy. Může být přehlédnuta neočekávaná, ale velice důležitá skutečnost, např. jiné vzácné dědičné syndromy.

Další možností je vytvoření komplexního panelu (pan-cancer), který zahrnuje všechny dosud známé hereditární nádorové syndromy a u každého pacienta umožňuje maximální využití diagnostického potenciálu NGS metody.

Ve spolupracujících pracovištích Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, Masarykova onkologického ústavu (MOÚ), GENNET, Agel, Kliniky GHC, Pronatal, Fakultní nemocnice Plzeň a Fakultní nemocnice Olomouc je užíván komplexní panel CZECANCA (CZEch CAnCer paNel for Clinical Application) [14,15], který umožňuje vyšetřit v současné době všechny predispoziční geny pro známé dědičné nádorové syndromy, pro vzácné autozomálně recesivní (AR) syndromy s rizikem nádorů v dětském věku, geny regulující buněčný cyklus a opravy chyb v DNA, které mohou být potenciálně důležité jak pro prevenci, tak v budoucnu především pro léčbu pacientů pomocí cílené léčby (obr. 1).



Graf 1. Absolutní počet patogenních zárodečných mutací u pozitivně testovaných pomocí sekvenování nové generace s C50 nebo vysokým rizikem C50 (celkem 175 mutací).

Hodnocena jsou sekvenační data především těch genů, které lékařský genetik určí jako možnou příčinu onemocnění v rodině. V rozsahu těchto genů se také provádí CNV analýza (analýza variability počtu kopií segmentů DNA), která umožňuje zachytit i velké přestavby genů (velké delece, inserce). V MOÚ jsou standardně hodnoceny i mutace v genech, které nejsou v seznamu genetikem určených genů, a může tak být zachycen i neočekávaný nádorový syndrom. Tyto diskordantní výsledky jsou málo časté, nicméně mohou být důležité pro rodinu, pro testování příbuzných a následnou prevenci. Přestože někdy nelze s určitostí říci, zda je zjištěná patogenní / pravděpodobně patogenní mutace jednoznačně příčinou nádorového onemocnění u pacienta, může to ovlivnit jeho další sledování a prediktivní testování v rodině.

Výsledky panelového testování nádorů prsu v MOÚ

Genetická testování v MOÚ byla prováděna pomocí TruSight Cancer panelu (Illumina, 94 genů) a později NimbleGen SeqCap EZ (Roche) panelu (CZECANCA, 226 genů). Rozložení pozitivních výsledků u žen s nádory prsu nebo s rizikem dědičné dispozice k nádorům prsu viz graf 1. Velká část pacientek byla před rokem 2018 testována standardními vyšetřovacími metodami k testování individuálních genů (HRM, DHPLC, Sangerovo sekvenování a MLPA), tyto výsledky zde nejsou uvedeny.

Z uvedených 175 pozitivních NGS výsledků vyplývá, že 46,8 % pozitivních záchytů (82/175) tvoří mutace se známým rizikem pro nádory prsu – *BRCA1* (29×), *BRCA2* (26×), *PALB2* (8×), *ATM* (5×), *CHEK2* (7×), *TP53* (Liův-Fraumeniho syndrom 4×), *PTEN* (syndrom Cowdenové 2×), *STK11* (Peutzův-Jeghersův syndrom 1×), v 8 případech (4,6 %) se jedná o geny jiných nádorových syndromů – *VHL* (von Hippelův-Lindauův syndrom 1×), *RET* (MEN2 1×), *SDHB* (hereditární paragangliomy 1×), *FH* (hereditární leiomyomy a karcinomy ledvin 1×), *PMS2* (Lynchův syndrom 1×), gen *BRIP1* (riziko karcinomu ovarií 3×), u 85 případů (48,6 %) byl nález mutovaných recesivních genů a genů s nejasným rizikem ke vzniku nádoru prsu (např. *MRE11*, *NHEJ1*, *BLM*, *HELO*, *RECQL*, *MCPH*, jiné mismatch repair geny a další) (graf 1).

Genetické hodnocení rizika a významu pro klinickou praxi

Laboratorní zpráva z vyšetření pacienta musí obsahovat zhodnocení biologické významnosti zjištěných variant. U každého pacienta je většinou zjištěno několik variant v různých genech. Může se jednat o varianty klinicky nevýznamné, varianty s nejasným klinickým účinkem, dále varianty pravděpodobně patogenní (IARC class 4) a patogenní (IARC class 5). Varianty pravděpodobně patogenní a patogenní jsou hodnoceny lékařským genetikem, jsou určována možná klinická rizika onemocnění, je na-

vrhován další postup prevence a možnost testování zdravých příbuzných. Ostatní nejasné varianty (IARC class 1–3) nejsou v současné době klinicky využitelné. Testování hereditárních nádorových syndromů je vždy prováděno s genetickým poradenstvím před a po testování.

Genetické poradenství by mělo obsahovat

- návrh doporučení preventivní péče dle výsledku testování a rodinné anamnézy;
- u vysoce rizikových syndromů nádorů prsu edukovat o přínosu profylaktické mastektomie (risk redukující mastektomie – RRM) [16,17];
- u vysokého rizika nádorů ovarií edukovat o vhodnosti profylaktické gynecologické operace (risk redukující salpingo-oophorektomie – RRSO s nebo bez hysterektomie) [18,19];
- u vysoce rizikových syndromů poradenství o preimplantační genetické diagnostice [20,21];
- u přenašečů AR syndromů je vhodné poradenství pro riziko AR choroby pro další generaci
 - možné vyšetření partnera před plánovanou graviditou – dle frekvence v populaci, doporučeno při frekvenci vyšší než 1 : 500 [22];
 - u méně častého přenašečství je vhodné nabídnout testování partnera, pokud by v rodině došlo k příbuzenskému vztahu nebo pokud

Tab. 1. Doporučení preventivní péče a prediktivního testování u žen vysokého rizika pro karcinom prsu ≥ 21 %.Geny empirického rizika karcinomu prsu ≥ 21 % u heterozygotů (bez *BRCA1/2*)

Údaje o frekvenci heterozygotů v populaci [22]

Gen	Riziko karcinomu prsu/ prevence	Riziko karcinomu ovaria / RRSO	Jiná doporučení / PGD / predikce / AR poradenství / testování partnera
<i>ATM</i> [29,30] gen pro AR Ataxia teleangiectasia (1 : 100)	až 69 % missense mutace c.7271C>G/p.Val2424Gly – dominantně negativní efekt až 40 % ostatní patogenní mutace RRM dle situace a RA	RRSO ne	jiná rizika – prevence dle RA (GIT, prostata) zvýšená senzitivita k radiaci nebyla prokázána poradenství – riziko AR syndromu u potomků/ testování partnera ano, PGD při pozitivě prediktivní testování příbuzných
<i>CDH1</i> [31] hereditární difuzní karcinom žaludku	lobulární karcinom především / 39–52 % RRM dle situace a RA	neprokázáno	dif. karcinom žaludku – gastrokopie/gastrektomie PGD prediktivní testování příbuzných
<i>CHEK2</i> [4,23,30]	až 40 % patogenní varianty [22] RRM dle situace a RA u missense variant jen UZ/MMG ročně	RRSO ne	jiná rizika – dle RA, kolorektum? prediktivní testování příbuzných (ne u nízké rizikové mutace <i>CHEK2</i> c.470T>C/ p.Ile157Thr – prevence jen u homozygotů a dle RA)
<i>NF1</i> [32,33] neurofibromatóza typ 1	až 30 %, vysoké riziko do 50 let věku, dále střední riziko 30–50 let UZ nebo MMG/MRI > 50 let MMG ročně RRM dle situace a RA	neprokázáno	neurofibromy, neurinomy, gliomy, meningiomy, GIST, sarkomy, neuroblastomy, leukemie aj., celotělové MRI PGD prediktivní testování příbuzných, i v dětství
<i>PALB2</i> [34] gen pro AR-FANCN (< 1 : 2 000)	40–60 % RRM možná	RRSO dle RA	pankreas – EUS/MRI, prostata, možné spektrum karcinomů jako u <i>BRCA2</i> prediktivní testování příbuzných poradenství pro recesivní syndrom ne
<i>PTEN</i> [35] syndrom Cowdenové	25–50 % RRM možná	neprokázáno hysterektomie (28% riziko karcinomu dělohy) po dětech	kolorektum, štítnice, děloha, ledviny, melanomy aj. PGD prediktivní testování příbuzných
<i>STK11</i> [36] Peutzův-Jeghersův syndrom	45–50 % RRM dle situace a RA	non epiteliální RRSO	slinivka, kolorektum, žaludek, plic, čípek, ovaria, testes PGD prediktivní testování příbuzných, i v dětství
<i>TP53</i> [37,38] Liův Fraumeniho syndrom	50–90 % RRM možná	?	CNS, nadledviny, prsu, sarkomy, leukemie, melanomy, žaludek, kolorektum aj. celotělové MRI PGD prediktivní testování příbuzných, i v dětství

RRSO – risk redukující salpingo-oophorektomie, PGD – preimplantační genetická diagnostika, AR – autozomálně recesivní, RRM – risk redukující mastektomie, RA – rodinná anamnéza, UZ – ultrazvukové vyšetření, MMG – mamografické vyšetření, MRI – magnetická rezonance, GIT – gastrointestinální soustava, GIST – gastrointestinální stromální tumor, EUS – endoskopická ultrasonografie, CNS – centrální nervová soustava

oba partneři pocházejí z úzké geografické lokality; v těchto případech by bylo vhodné vyšetření partnera/partnerky na nosičství zjištěné patogenní varianty;

- kompletní testování genu, v němž byla zjištěna patogenní varianta – je vhodné v případě, že se v rodině

partnera/partnerky již vyskytlo s ním asociované AR onemocnění, popř. bylo vysloveno podezření na tuto diagnózu;

- u žen vysokého rizika nádorů a možnosti recesivního syndromu – *BRCA2*, *BRIP1*, *PALB2*, *RAD51C* – je vhodné nabídnout možnost testování

partnera v případě podezření na výskyt syndromu v rodině partnera dle rodinné anamnézy;

- rozhodnutí o možnosti a typu testování je vždy individuální dle genetického poradenství;
- návrh prediktivního testování zdravých příbuzných.

Doporučení pro primární a sekundární prevenci u vzácnějších genetických příčin nádorů prsu (modifikováno dle NCCN guidelines 2019, ESMO (European Society for Medical Oncology) guidelines 2016) [4,7,23–26]

Geny vysokého rizika karcinomu prsu *ATM, CDH1, CHEK2, NF1, PALB2, PTEN, STK11, TP53* (kumulativní riziko nádoru prsu nad 20 %) [26] (tab. 1)

- sledování prsou dle doporučení – MRI / ultrazvukové vyšetření (UZ) od 25–29 let, MRI / mamografické vyšetření (MMG) ve věku 30–65 let po 6 měsících, od 66 let UZ/MMG po 6 měsících; event. začít o 10 let dříve, než je nejčasnější výskyt v rodině [25,26];
- u nosiček mutace v *NF1* genu od 30 do 50 let MRI/UZ nebo MMG střídát po 6 měsících, od 50 let MMG 1krát ročně (vysoké riziko především do 50 let věku);
- u genů *TP53, PTEN, PALB2* doporučit RRM, u dalších genů asociovaných s vysokým rizikem (*ATM, CDH1, CHEK2, NF1 a STK11*) zvážit RRM dle genealogie, event. dalších rizikových faktorů;
- po RRM roční kontroly prsou vhodnou zobrazovací metodou;
- uvedená doporučení platí pro heterozygoty mutací;
- sledování onkologem v rámci komplexního onkologického centra nebo na jiných specializovaných pracovištích s možností indikace MRI.

Geny středního kumulativního rizika nádorů prsu *BARD1, BLM, BRIP1, FANCA, FANCC, FANCM, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM, MUTYH, NBN, RAD51C, RAD51D, WRN* (10–20 %) [1,4,7,23,24,26,27] (tab. 2)

- UZ/MMG od 40–45 let po roce; UZ začít o 10 let dříve, než je nejčasnější výskyt v rodině;
- pojišťovny hradí pouze MMG od 45 let ve 2letých intervalech. Další doporučená vyšetření hradí dle vyhlášky jen v případě, že je odhadované riziko nádoru prsu celoživotně vyšší než 20 %. Pokud je riziko nižší, hradí si žena vyšetření jako samoplátkyně;
- rizika je nutné korigovat dle rizika rodinné anamnézy (určí genetik); mutace těchto genů mohou být součástí

polygenní etiologie; pokud je kumulativní riziko nádorů prsu dle rodinné anamnézy vyšší než 20 %, je nutné doporučit sledování dle tohoto rizika;

- pokud je výsledný odhad rizika nádorů prsu $\leq 20\%$ kumulativního rizika, je možné preventivní sledování prsou v ambulanci praktického lékaře nebo gynekologa, není standardně doporučována MRI;
- uvedená doporučení platí pro heterozygoty;
- poradenství pro recesivní syndrom v indikovaných případech [22];
- u dalších genů pro AR syndromy a jiné závažné dědičné nádorové syndromy doporučujeme sledování pro nádory prsu dle rodinné anamnézy a dostupných publikovaných údajů.

Diskuze

Při genetickém testování pomocí NGS s použitím panelů více genů je možné mnohem efektivněji zachytit rizikovou mutaci u geneticky heterogenních dědičných nádorových onemocnění. NGS zachytí i vzácné kombinace nálezů, kdy se u pacientky vyskytnou mutace jak v genu *BRCA1*, tak i v genu *BRCA2*, nebo se jedná o kombinace mutací *BRCA* genů s jinými geny nádorových syndromů. Tito složení heterozygoti se nacházejí vzácně, ale jejich diagnostika je důležitá pro testování příbuzných v rodině i plánování další preventivní péče.

Vyšetření může zachytit kombinace mutací v méně rizikových genech nebo v syndromech, které nejsou klinicky předpokládáné.

NGS posouvá diagnostiku nádorových syndromů do mnohem senzitivnější úrovně, umožňuje genetické testování i u méně známých genů a klade tak velký důraz na genetické poradenství s vysvětlením rizik a možné preventivní péče. Biologická a klinická interpretace výsledků genetického testování je velice důležitá a měla by probíhat v součinnosti molekulárních a lékařských genetiků.

Genetické poradenství je nezbytné jak před testováním, tak také k vysvětlení výsledků a praktického dopadu testování. Doporučení dalšího preventivního sledování by mělo být součástí závěrečné genetické zprávy. Tato doporučení

by měla vycházet ze známých a publikovaných empirických rizik mutací v nalezených genech, ale musí zohlednit i riziko rodinné anamnézy. U méně častých a méně rizikových genů není často dost důkazů pro přesnější určení možného nádorového rizika a je vhodné upozornit na rizika nádorů prostřednictvím onemocnění u blízkých příbuzných. Obecně je možné doporučit začátek preventivního sledování 10 let před výskytem onemocnění u příbuzného.

Práce s NGS panely a analýza výsledků se může lišit dle pracoviště, což může ovlivňovat senzitivitu testování. V MOÚ a v několika dalších centrech používáme panel s 226 geny pro všechny významné nádorové syndromy a dále s geny potenciálního nádorového rizika. Laboratoř MOÚ hodnotí jak nálezy ve vysoce rizikových genech, tak i v těch méně rizikových, v celém spektru genů dostupných na panelu. Zachycujeme tedy i nálezy v neočekávaných a méně rizikových genech. Na jiných pracovištích analyzují pouze geny, které byly indikovány lékařským genetikem.

Pro vysoce rizikové geny *BRCA1* a *BRCA2* již byla publikována doporučení pro preventivní péči [25,28]. Navrhujeme možná doporučení preventivní péče pro další geny, které mají vliv na riziko nádorů prsu a vaječnicků. Doporučení pro jiné vzácné nádorové syndromy již byla publikována dříve.

Preventivní chirurgické zákroky, profylaktická mastektomie a profylaktická adnexektomie (event. s hysterektomií) jsou důležitou součástí primární prevence. Rozhodování o těchto operacích je pro ženu vždy velice složité. Každý případ je nutné hodnotit přísně individuálně.

Závěr

Molekulárně genetické testování se vyvíjí rychle jak v oblasti dědičných onemocnění, tak v oblasti testování tumoru a zjišťování prediktivních faktorů pro léčbu. Jak molekulární, tak lékařští genetici se učí interpretovat různorodé výsledky testování a použít je v praxi ve prospěch prevence nádorů u testovaných osob. Doporučení preventivních opatření se budou dále vyvíjet dle rozšiřování znalostí o riziku onemocnění u vzácných genů.

Tab. 2. Doporučení preventivní péče a prediktivního testování u žen středního rizika pro karcinom prsu ≤ 20 %.

Geny empirického rizika karcinomu prsu ≤ 20 % pro heterozygoty

Údaje o frekvenci heterozygotů v populaci [22]

Gen	Riziko karcinomu prsu/ prevence	Riziko karcinomu ovaria/RRSO	Predikce / rizika jiných nádorů / doporučení
<i>BARD1</i>	10–20 % / UZ/MMG	?	prediktivní testování příbuzných rizika dle RA
<i>BLM</i> – gen pro AR Bloomův syndrom (1 : 1 800)	10–20 % / UZ/MMG	?	prediktivní testování příbuzných rizika dle RA, kolorektum? poradenství – riziko AR syndromu u potomků / testování partnera ano – jedna mutace c.1642C>T/p.Gln548Ter (slovanská), PGD při pozitivě
<i>BRIP1</i> gen pro AR syndrom FANCI (1 : 1 300)	10–20 % / UZ/MMG	Ov 8–11× RRSO 45–50 let nebo dle RA	prediktivní testování příbuzných rizika dle RA poradenství pro recesivní syndrom ne / jen dle RA
<i>FANCA</i> (1 : 235) <i>FANCC</i> (1 : 500) <i>FANCM</i> (< 1 : 2 000) (AR geny pro Fanconiho anémii)	10–20 % / UZ/MMG	?	prediktivní testování příbuzných rizika dle RA (FANCC – slinivka?) poradenství – AR syndromu u potomků, testování partnera jen u FANCA a FANCC, PGD při pozitivě
<i>MLH1</i> , <i>MSH2</i> , <i>MSH6</i> , <i>PMS2</i> a <i>EPCAM</i> – Lynchův syndrom [39]	10–20 % / UZ/MMG	Ov 5× RRSO a hysterektomie do 40 let	prediktivní testování příbuzných kolorektum, žaludek, kožní, děloha, ovarium aj. PGD
<i>MUTYH</i> (AR syndrom mnohočetné polypózy) (1 : 70–100) [40]	10–20 % / UZ/MMG	?	prediktivní testování příbuzných – u heterozygotů kolonoskopie po 3–5 letech (u polypózy – dotestování dvou nejčastějších mutací c.536A>G, c.1187G>A), u homozygotů jako u Lynchova syndromu
<i>NBN</i> gen pro AR syndrom Nijmegen Breakage (1 : 150)	10–20 % / UZ/MMG (nejčastější slovanská mutace c.657del5)	ne	prediktivní testování příbuzných rizika dle RA poradenství – riziko AR syndromu u potomků / testování partnera – tři mutace c.657del5, c.643C>T, c.511A>G, PGD při pozitivě možná zvýšená citlivost k ionizačnímu záření
<i>RAD51C</i> gen pro AR Fanconiho anémii typ O (<1:2000)	10–20 % / UZ/MMG	Ov 6× RRSO 45–50 let nebo dle RA	prediktivní testování příbuzných rizika dle RA poradenství – riziko AR syndromu – ne / dle RA
<i>RAD51D</i>	10–20 % / UZ/MMG	Ov 8–11× RRSO 45–50 let nebo dle RA	prediktivní testování příbuzných rizika dle RA
<i>WRN</i> gen pro AR Wernerův syndrom (1 : 300–500)	10–20 % / UZ/MMG		prediktivní testování příbuzných rizika dle RA, kožní poradenství – AR syndromu u potomků / testování partnera ano (mutace c.1105C>T), PGD při pozitivě

RRM – risk redukující mastektomie, RRSO – risk redukující salpingo-oophorektomie, UZ – ultrazvukové vyšetření, MMG – mamografické vyšetření, RA – rodinná anamnéza, AR – autozomálně recesivní, PGD – preimplantační genetická diagnostika

Literatura

1. Daly MB, Pilarski R, Berry M et al. Genetic/familial high-risk assessment: breast and ovarian version 2.2017. *Natl Compr Canc Netw* 2017; 15(1): 9–20.
2. Maxwell KN, Domchek SM. Cancer treatment according to BRCA1 and BRCA2 mutations. *Nat Rev Clin Oncol* 2012; 9(9): 520–528. doi: 10.1038/nrclinonc.2012.123.
3. Tung NM, Garber JE. BRCA1/2 testing: therapeutic implications for breast cancer management. *Br J Cancer* 2018 Jul; 119(2): 141–152. doi: 10.1038/s41416-018-0127-5.
4. Rainville IR, Rana HQ. Next – generation sequencing for the inherited breast cancer risk: counseling through the complexity. *Curr Oncol Rep* 2014; 16(3): 371–382. doi: 10.1007/s11912-013-0371-z.
5. Nielsen SM, Eccles DM, Romero IL et al. Genetic testing and clinical management practices for variants in non-BRCA1/2 breast (and breast/ovarian) cancer susceptibility genes: an international survey by the Evidence-Based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles (ENIGMA) clinical working group. [online]. Available from: <https://ascopubs.org/doi/full/10.1200/PO.18.00091>.
6. Foretová L, Macháčková E, Palácová M et al. Doporučení rozšíření indikačních kritérií ke genetickému testování mutací v genech BRCA1 a BRCA2 u hereditárního syndromu nádorů prsu a ovarií. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 1): S9–S13. doi: 10.14735/amko2016S9.
7. NCCN Guidelines Version 3.2019. Hereditary breast and/or ovarian cancer syndrome. National Comprehensive Cancer Network. [online]. Available from: http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp.
8. Modrá kniha ČOS. 23. aktualizace. Brno: Masarykův onkologický ústav 2017: 110.
9. Shindo K, Yu Jun, Suenaga M et al. Deleterious germline mutations in patients with apparently sporadic pancreatic adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 2017; 35(30): 3382–3390. doi: 10.1200/JCO.2017.72.3502.
10. Hu CH, Hart SN, Polley EC et al. Association between inherited germline mutations in cancer predisposition genes and risk of pancreatic cancer. *JAMA* 2018; 319(23): 2401–2409. doi: 10.1001/jama.2018.6228.
11. Wong-Brown MW, Meldrum CJ, Carpenter JE. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 germline mutations in patients with triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2015; 150(1): 71–80. doi: 10.1007/s10549-015-3293-7.
12. Greenup R, Buchanan A, Lorizio W et al. Prevalence of BRCA mutations among women with triple-negative breast cancer (TNBC) in a genetic counseling cohort. *Ann Surg Oncol* 2013; 20(10): 3254–3258. doi: 10.1245/s10434-013-3205-1.
13. Couch FJ, Hart SN, Sharma P et al. Inherited mutations in 17 breast cancer susceptibility genes among a large tri-ple-negative breast cancer cohort unselected for family history of breast cancer. *J Clin Oncol* 2015; 32(4): 304–311. doi: 10.1200/JCO.2014.57.1414.
14. Soukupova J, Zemankova P, Lhotova K et al. Validation of CZECANCA (CZEch CANcer paNel for Clinical Application) for targeted NGS-based analysis of hereditary cancer syndromes. *PLoS One* 2018; 13(4): e0195761. doi: 10.1371/journal.pone.0195761.
15. Soukupova J, Zemankova P, Kleiblova P et al. 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. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 1): S46–S54. doi: 10.14735/amko2016S46.
16. Dražan L, Veselý J, Hýža P et al. Chirurgická prevence karcinomu prsu u pacientek s dědičným rizikem. *Klin Onkol* 2012; 25 (Suppl 1): S78–S83. doi: 10.14735/amko20121578.
17. Dražan L. Profylaktická mastektomie a její indikace u rizikových žen. *Klin Onkol* 2006; 19 (Suppl 1): S97–S100.
18. Zikán M. Gynekologická prevence a gynekologické aspekty péče u nosiček genů BRCA1 a BRCA2. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 1): S22–S30. doi: 10.14735/amko2016S22.
19. Zikán M, Kalábová R. Doporučení k provedení profylaktické operace pro snížení rizika gynekologických malignit u žen s hereditárním rizikem. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl 1): S58–S59.
20. Hüttelová R, Kleibl Z, Řezáčová J et al. Předpoklady pro preimplantační genetickou diagnostiku (PGD) u nosičů mutací v nádorových predispozičních genech. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl 1): S69–S74.
21. Veselá K, Kocur T, Horák J et al. Asistovaná reprodukce a preimplantační genetická diagnostika u pacientek ohrožených karcinomem prsu. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 1): S93–S99. doi: 10.14735/amko2016S93.
22. Koudová M, Puchmajerová A. Rizika solidních nádorů u heterozygotních přenašečů recesivních syndromů. *Klin Onkol* 2019; 32 (Suppl 2): 2S14–2S23. doi: 10.14735/amko2019S14.
23. Paluch-Shimon S, Gardoso F, Sessa C et al. Prevention and screening in BRCA mutation carriers and other breast/ovarian hereditary cancer syndromes: ESMO Clinical Practice Guidelines for cancer prevention and screening. *Ann Oncol* 2016; 27 (Suppl 5): 103–110. doi: 10.1093/annonc/mdw327.
24. Taylor A, Brady AF, Frayling IM. Consensus for genes to be included on cancer panel tests offered by UK genetics services: guidelines of the UK Cancer Genetics Group. *J Med Genet* 2018; 55(6): 372–377. doi: 10.1136/jmedgenet-2017-105188.
25. Plevová P, Novotný J, Petráková K et al. Syndrom hereditárního karcinomu prsu a ovarií. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl 1): S8–S11.
26. MAMOCZ. [online]. Dostupné z: <http://www.mamocz.cz/>.
27. Claus EB, Risch N, Thompson WD. Autosomal dominant inheritance of early-onset breast cancer. *Cancer* 1994; 73(3): 643–651. doi: 10.1002/1097-0142(19940201)73.
28. Petráková K, Palácová M, Schneiderová M et al. Syndrom hereditárního karcinomu prsu a ovarií. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 1): S14–S21. doi: 10.14735/amko2016S14.
29. van Os NJ, Roeleveld N, Weemaes CM et al. Health risk for ataxia-teleangiectasia mutated heterozygotes: a systematic review, meta-analysis and evidence-based guidelines. *Clin Genet* 2015; 90(2): 105–117. doi: 10.1111/cge.12710.
30. Pohlreich P, Kleibl Z, Kleiblova P et al. Klinický význam analýz genů středního rizika pro hodnocení rizika vzniku karcinomu prsu a dalších nádorů v České republice. *Klin Onkol* 2012; 25 (Suppl 1): S59–S66. doi: 10.14735/amko20121559.
31. Puchmajerová A, Vasovčák P, Macháčková E et al. Hereditární difúzní karcinom žaludku. *Klin Onkol* 2012; 25 (Suppl 1): S30–S33. doi: 10.14735/amko20121530.
32. Uusitalo E, Rantanen M, Kallionpää RA et al. Distinctive cancer associations in patients with neurofibromatosis type 1. *J Clin Oncol* 2016; 34(17): 1978–1985. doi: 10.1200/JCO.2015.65.3576.
33. Petrák B, Plevová P, Novotný J et al. Neurofibromatosis von Recklinghausen. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl 1): S38–S44.
34. Janatová M, Borecká M, Soukupová J et al. PALB2 jako další kandidátní gen pro genetické testování u pacientů s hereditárním karcinomem prsu v České republice. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 1): S31–S34. doi: 10.14735/amko2016S31.
35. Puchmajerová A, Vasovčák P, Křepelová A et al. Cowdenův syndrom. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl 1): S56–S57.
36. Puchmajerová A, Vasovčák P, Křepelová A. Peutz-Jeghersův syndrom. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl 1): S36–S37.
37. Plevová P, Krutilková V, Petráková K et al. Syndrom Li-Fraumeni. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl 1): S20–S22.
38. Foretová L, Štěrba J, Opletal P et al. Li-Fraumeni syndrom – návrh komplexní preventivní péče o nosiče TP53 mutace s použitím celotělové magnetické rezonance. *Klin Onkol* 2012; 25 (Suppl 1): S49–S54. doi: 10.14735/amko20121549.
39. Plevová P, Novotný J, Šachlová M et al. Hereditární nepolypózní kolorektální karcinom (HNPCC, Lynchův syndrom). *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl 1): S12–S15.
40. Aretz S, Genuardi M, Hes FJ et al. Clinical utility gene card for: MUTYH-associated polyposis (MPA), autosomal recessive colorectal adenomatous polyposis, multiple colorectal adenomas, multiple adenomatous polyps (MAP) – update 2012. *Eur J Hum Genet* 2013; 21(1): 1. doi: 10.1038/ejhg.2012.163.

Rizika solidních nádorů u heterozygotních přenašečů recesivních syndromů

Risks of Solid Tumors in Heterozygous Carriers of Recessive Syndromes

Koudová M., Puchmajerová A.

Centrum lékařské genetiky a reprodukční medicíny GENNET, Praha

Souhrn

Rozšířené panelové testování dědičných nádorových dispozic metodou masivně paralelního sekvenování vede k nálezům heterozygotních patogenních variant v genech pro autozomálně recesivně dědičné nádorové syndromy. Ke stanovení míry rizika rozvoje solidních nádorů a vhodné dispenzarizace pro heterozygoty nejsou u většiny těchto genů v současnosti k dispozici klinická guidelines ani není definován postup pro další genetické vyšetření v rodině a u jejich partnerů. Naším cílem bylo na základě současných poznatků vytvořit „české guidelines“ pro tyto případy. V předkládané práci uvádíme přehled vybraných genů pro autozomálně recesivně dědičné nádorové syndromy, rozdělený do dvou skupin – geny pro Fanconiho anémii a geny pro ostatní autozomálně recesivně dědičné nádorové syndromy. V každé části je vytvořena souhrnná tabulka, která obsahuje frekvenci heterozygotů mutace daného genu v populaci, riziko nádorů u heterozygotů a návrh dispenzarizace a doporučení pro predikce v rodině a ke genetickému vyšetření partnerů heterozygotů. Prediktivní vyšetření je vhodné provádět tam, kde je u heterozygotů zvýšené riziko nádorových onemocnění a/nebo je předpoklad další reprodukce a vyšší frekvence heterozygotů v populaci, tedy i zvýšeného rizika autozomálně recesivního syndromu pro děti nosiče mutace. Uvedené návrhy a doporučení vycházejí ze současných poznatků a v budoucnosti je bude potřeba dále korigovat dle přibývajících znalostí o stávajících nebo dalších, dosud neprozkoumaných, genech.

Klíčová slova

dědičné nádorové syndromy – autozomálně recesivní dědičnost – heterozygot – mutace – riziko nádorů – prediktivní testování

Summary

Expanded gene panel testing for hereditary cancer predispositions using massive parallel sequencing can identify heterozygous pathogenic variants of genes that cause autosomal recessive inherited cancer syndromes. There are no clinical guidelines regarding assessment of the risk of developing solid tumors or for developing appropriate surveillance strategies for heterozygotes for most of these genes, nor is there delineation with respect to the management for genetic testing of relatives and partners. Based on current knowledge, our aim was to create “Czech guidelines” for these cases. Here, we present an overview of the selected genes for autosomal recessive inherited tumor syndromes. The genes were divided into two groups: genes causing Fanconi anemia and genes causing other autosomal recessive inherited tumor syndromes. A summary table was created for each group. The table shows the population frequency of heterozygotes, the cancer risk for heterozygotes, the proposed surveillance strategy, and recommendations for family prediction and genetic testing of partners. Predictive testing should be performed in the case of heterozygotes that have an increased risk of cancer and/or as prerequisite to further reproduction of heterozygotes for a given gene with significant population frequency (this allows an estimation of the risk of autosomal recessive syndrome for children of heterozygote for mutation). These suggestions and recommendations are based on current knowledge and would need to be further corrected in the future based on increasing knowledge of existing or as-yet-unidentified genes.

Key words

hereditary cancer syndromes – autosomal recessive inheritance – heterozygote – mutation – risk of cancer – predictive testing

Autorky práce děkují všem pracovníkům Molekulárně genetické laboratoře Centra lékařské genetiky a reprodukční medicíny GENNET za spolupráci.

The authors thank to all the staff of the Molecular Genetic Laboratory of the GENNET Medical Genetics and Reproductive Medicine Center for their cooperation.

Autorky 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. Monika Koudová
Centrum lékařské genetiky
a reprodukční medicíny GENNET
Kostelní 9
170 00 Praha 7
e-mail: monika.koudova@gennet.cz

Obdrženo/Submitted: 21. 3. 2019
Přijato/Accepted: 2. 5. 2019

doi: 10.14735/amko2019S14

Úvod

Hereditární nádorové syndromy představují okolo 3 % všech nádorových onemocnění a jsou způsobeny vrozenými nebo *de novo* vzniklými zárodečnými mutacemi v predisponujících, vysoce penetrantních genech. Vyšetřování germinálních nádorových dispozic je v současnosti prováděno metodou masivně paralelního sekvenování (next generation sequencing – NGS) a je cíleno na celé skupiny genů, které mohou být asociovány s rizikem rozvoje nádorového onemocnění, tzv. NGS onkopanely [1]. Většina genetických pracovišť v ČR využívá onkopanel CZECA (CZEch CAncer paNel for Clinical Application) vyvinutý Kleibem et al (Ústav biochemie a experimentální onkologie, 1. LF UK v Praze) [2], který zahrnuje targetové sekvenování 226 genů pro klinické a/nebo výzkumné účely. Pro komplexní vyšetření genů je kromě detekce jednonukleotidových polymorfizmů a krátkých indelů nutné vyhodnotit i větší přestavby genů nebo jednotlivých exonů, tzv. variabilitu v počtu kopií (copy number variations – CNV). Detekce CNV je standardně prováděna pomocí analýzy MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) s využitím komerčních kitů pro jednotlivé geny [3]. S rozvojem bioinformatické analýzy je vyhodnocení CNV možné také na základě principu normalizace vzorků amplikonového sekvenování panelu z hlediska hloubky sekvenování a výpočtu multifaktoriálních dat pro jednotlivé amplikony, jako např. ONCOCNV [4] nebo CNVkit [5]. Hodnocení klinického významu nalezených variant podléhá kodifikovaným pravidlům dle ACMG [6], ENIGMA [7] a Sherlock [8]. Od ledna 2018 je minimální počet reportovaných genů v souvislosti s úhradou genetického laboratorního vyšetření ze zdravotního pojištění pacienta ČR v rámci tzv. Stratifikace výkonů odbornosti 816 (Laboratoř lékařské genetiky) definován balíčkovým výkonem 94981 – Hereditární nádorové syndromy (NGS do 100 genů). Vykázání a úhrada tohoto výkonu ze zdravotního pojištění je podmíněna kompletním NGS vyšetřením vč. CNV předem definovaných 22 genů – *ATM*, *APC*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *EPCAM*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*,

MUTYH, *NBN*, *PALB2*, *PMS2*, *PTEN*, *RAD50*, *RAD51C*, *RAD51D*, *STK11*, *TP53* [9]. Tento výkon lze vykázat pouze jednou za život pojištěnce, ale vybrané geny nepokrývají veškeré potřeby klinické praxe, neboť nezahrnují všechny klinicky významné geny, jejichž vyšetření může být v indikovaných případech klinickým genetikem požadováno. Za optimální postup pro genetické laboratoře se proto v případě panelového sekvenování u pacienta doporučuje reportovat všechny zjištěné klinicky významné varianty class 4–5, tj. varianty suspektně patogenní a patogenní (dále v článku označené jako mutace) u všech klinicky významných genů daného onkopanelu. Laboratoř by měla ve svých standardních operačních postupech a na výsledné laboratorní zprávě vždy definovat seznam aktuálně hodnocených a reportovaných genů. Ten by měl být pravidelně aktualizován a postupně rozšiřován tak, jak budou k dispozici nová publikovaná guidelines a informace o klinickém významu dalších genů v asociaci s rizikem rozvoje nádorů.

S rozšířeným panelovým NGS testováním souvisí i vyšší záchyt tzv. neočekávaných nálezů, tj. nálezů patogenních variant v genech, které nemusí být vždy spojeny s daným nádorovým onemocněním vyskytujícím se u pacienta nebo v jeho rodině, ale jsou důležité z hlediska stanovení predispozice k jiným nádorům u pacienta nebo pro primární prevenci dědičného nádorového onemocnění dále v rodině. Mezi ně patří i prokázané heterozygotní mutace v genech pro autozomálně recesivně (AR) dědičné nádorové syndromy. Tyto geny patří do skupin genů většinou se střední až nízkou penetrancí (za arbitrárně stanovenou hranici se pro geny s nízkou penetrancí považuje relativní riziko ~2 a pro geny se střední penetrancí se relativní riziko vyskytuje v intervalu 2–5 [10]) a jejich mutace jsou v populaci relativně časté (1–30 %), na rozdíl od mutací vysoce penetrantních genů (~0,1–0,01 %). I když se tyto geny vyznačují klinicky méně závažným ovlivněním rizika onemocnění, jejich vysoká alelická frekvence umožňuje kooperativní účinek nízké či středně penetrantních alel, a tím mohou být příčinou zvýšeného výskytu nádorového onemocnění v rodinách [9]. Ke stano-

vení míry rizika rozvoje solidních nádorů a doporučení sledování heterozygotních nosičů mutací nejsou u většiny těchto genů v současnosti k dispozici klinická guidelines a není jasně definován postup vyšetřování dalších pokrevních příbuzných a partnerů k zajištění primární prevence AR dědičného onemocnění u dětí pacienta a v jeho rodině. Cílem tohoto článku je proto vytvořit „české guidelines“ pro tyto případy s ohledem na jejich četnost, abychom poskytovali těmto pacientům a jejich rodinám na všech genetických pracovištích optimální a srovnatelnou péči.

Autozomálně recesivně dědičné nádorové syndromy

AR dědičné nádorové syndromy jsou způsobeny bialelickými mutacemi genů kódujících enzymy zajišťující reparaci DNA. Důsledkem poruchy těchto reparačních procesů je hypersenzitivita k určitým genotoxickým agens a narušení strukturální integrity chromozomů, proto hovoříme o tzv. syndromech chromozomální nestability. V předkládané práci uvádíme přehled vybraných genů pro AR dědičné nádorové syndromy rozdělený do dvou skupin – geny pro Fanconiho anémii a geny pro ostatní AR dědičné nádorové syndromy. V každé části je vytvořena jedna souhrnná tabulka, která je pak doplněna podrobnějšími informacemi v textu. V tabulce je k danému genu uvedena frekvence heterozygotů v populaci, riziko nádorů u heterozygotů, doporučení dispenzarizace, predikce v rodině a vyšetření partnera.

Fanconiho anémie

Fanconiho anémie (FA) je heterogenní onemocnění, v současné době je popsáno až 22 genů, které jsou za toto onemocnění zodpovědné. Podle mutovaného genu je pacient zařazen do příslušné komplementační skupiny [11,12]. Dědičnost je AR, v důsledku bialelické mutace příslušného genu. Výjimkou je autozomálně dominantní dědičná FA-R v důsledku heterozygotní mutace genu *RAD51* a gonozomálně recesivní dědičná FA-B v důsledku hemizygotní mutace genu *FANCB*. Frekvence přenašečů FA v populaci je uváděna cca 1 z 181. Incidence FA v populaci je uváděna cca

Tab. 1. Komplementační skupiny Fanconio anémie, jejich geny, riziko nádorových onemocnění u heterozygotů, frekvence heterozygotů v populaci.

KS	Gen	% FA	Riziko nádorů	Dědičnost FA	Frekvence heterozygotů – populace	Predikce v rodině	Vyšetření partnera
FA-A	<i>FANCA</i>	60–70 %	střední riziko ca prsu	AR	1 : 235	ano	ano
FA-B	<i>FANCB</i>	cca 2 %	nepopsáno	X-linked		ne	ne
FA-C	<i>FANCC</i>	cca 14 %	střední riziko ca prsu, risk faktor ca pankreatu	AR	1 : 500	ano	ano
FA-D1	<i>BRCA2</i>	cca 3 %	popsaný syndrom hereditární nádorové predispozice (HBOC)	AR	1 : 1 000	ano	ne
FA-D2	<i>FANCD2</i>	cca 3 %	risk faktor pro nádory	AR	1 : 1 000	ne	ne
FA-E	<i>FANCE</i>	cca 3 %	nepopsáno	AR	1 : 1 000	ne	ne
FA-F	<i>FANCF</i>	cca 2 %	nepopsáno	AR	1 : 1 300	ne	ne
FA-G	<i>XRCC9</i>	cca 10 %	risk faktor ca pankreatu	AR	1 : 550	ne	ne
FA-I	<i>FANCI</i>	cca 1 %	risk faktor pro nádory	AR	1 : 1 800	ne	ne
FA-J	<i>BRIP1</i>	cca 2 %	ca ovaria, susp. ca prsu	AR	1 : 1 300	ano	ne
FA-L	<i>PHF9</i>	sporadické případy	nepopsáno	AR	< 1 : 2 000	ne	ne
FA-M	<i>FANCM</i>	sporadické případy	střední riziko ca prsu	AR	< 1 : 2 000	ano	ne
FA-N	<i>PALB2</i>	sporadické případy	ca prsu, pankreatu, ovaria, prostaty	AR	< 1 : 2 000	ano	ne
FA-O	<i>RAD51C</i>	sporadické případy	ca ovaria, susp. ca prsu	AR	< 1 : 2 000	ano	ne
FA-P	<i>SLX4</i>	sporadické případy	nepopsáno	AR	< 1 : 2 000	ne	ne
FA-Q	<i>ERCC4</i>	sporadické případy	nepopsáno	AR	< 1 : 2 000	ne	ne
FA-R	<i>RAD51</i>	sporadické případy	leukemie	AD	< 1 : 2 000	ano	ne
FA-S	<i>BRCA1</i>	tři popsané případy	popsaný syndrom hereditární nádorové predispozice (HBOC)	AR	1 : 600	ano	ne
FA-T	<i>UBE2T</i>	sporadické případy	nepopsáno	AR	< 1 : 2 000	ne	ne
FA-U	<i>XRCC2</i>	sporadické případy	susp. ca prsu	AR	< 1 : 2 000	ne	ne
FA-V	<i>MAD2L2</i>	sporadické případy	nepopsáno	AR	< 1 : 2 000	ne	ne
FA-W	<i>RFWD3</i>	sporadické případy	nepopsáno	AR	< 1 : 2 000	ne	ne

KS – komplementační skupina FA, FA – Fanconio anémie, ca – karcinom, susp. – suspektní, HBOC – hereditární karcinom prsu a vaječníků, AR – autozomálně recesivní, AD – autozomálně dominantní, X-linked – dědičnost vázaná na chromozom X

1 z 130 000. Nejvíce pacientů (60–70 %) je zařazeno do komplementační skupiny FA-A v důsledku mutace genu *FANCA*, frekvence přenašečů je cca 1 z 235. FA je charakterizována typickými klinickými projevy, jako je malý vzrůst, mikrocefalie, skeletální anomálie, abnormální kožní pigmentace, opoždění vývoje, vrozené srdeční vady, vrozené vady ledvin, u některých typů FA i vrozené vady mozku. V první dekádě života se manifestuje pancytopenií, která vede k selhání kostní dřeně. Pacienti s FA mají zvýšené riziko

hematologických malignit a solidních tumorů. Pro komplementační skupinu D1 není typickým projevem na rozdíl od ostatních skupin selhávání kostní dřeně, ale časně se manifestující leukemie a specifické solidní tumory, nejčastěji meduloblastom a Wilmsův tumor ledvin. Etiologicky vzniká v důsledku bílelické mutace genu *BRCA2* [13,14]. Pro komplementační skupinu FA-S jsou typické i faciální stigmatizace, vysoké riziko nádorů, především karcinomu prsu a vaječníků. Etiologicky je zodpovědná bílelická

mutace genu *BRCA1*, která bývá většinou letální, a dosud byly popsány jen ojedinělé případy [15,16]. U některých typů FA je zvýšené riziko nádorových onemocnění i u heterozygotů mutace příslušného genu (tab. 1). Frekvence heterozygotů mutace jednotlivých genů v populaci uvedená v tabulce je přibližná a je stanovena podle udávané frekvence FA v populaci 1 z 130 000 a je vypočtena podle odhadovaného zastoupení jednotlivých komplementačních skupin FA.

Nádorová onemocnění u nosičů mutace genů *BRCA1* a *BRCA2* a doporučená preventivní opatření jsou popsána v článku Foretové et al [17].

U nosiček mutace genu *BRIP1* (*BRCA1* interaction protein C-terminal helicase 1 gene) je podle NCCN (National Comprehensive Cancer Network) guidelines zvýšené riziko karcinomu ovaria stejného histologického typu jako u nosiček mutace *BRCA* genů [18–20]. Celoživotní riziko (do 80 let věku) je uváděno okolo 6 %. Jako preventivní opatření je uváděna preventivní adnexektomie, která by měla být provedena ve 45–50 letech života. V případě výskytu karcinomu ovaria v rodině v mladším věku se tato preventivní operace doporučuje i v mladším věku. Souvislost mutací genu *BRIP1* se zvýšeným rizikem karcinomu prsu nebyla jednoznačně prokázána, i když je v některých publikacích možná souvislost uváděna vč. databázi OMIM a ClinVar [21–23].

Gen *PALB2* (partner a lokalizátor of *BRCA2*) je tumor supresorový gen kódující *PALB2* protein, jehož funkcí je vázat a stabilizovat *BRCA2* protein. Patří mezi středně penetrantní geny vyššího řádu pro dědičnou predispozici ke vzniku karcinomu prsu. U nosiček mutace genu *PALB2* je výrazně zvýšené riziko vzniku karcinomu prsu, a to 2–6krát oproti běžné populaci – pro ženy ve věku 70 let se celoživotní kumulativní riziko karcinomu prsu pohybuje od 33 % (v případě negativní rodinné anamnézy) až po 58 % (v případě dvou a více pokrevních příbuzných s karcinomem prsu). Mírně zvýšené je také riziko vzniku dalších nádorů, především pankreatu, ovaria (u žen) a prostaty (u mužů).

S ohledem na funkční blízkost *PALB2* s *BRCA2* a podobné spektrum nádorové dispozice u nosičů mutací v těchto genech mají být nosičky patologických mutací genu *PALB2* zařazeny do sledovacích programů, stejně jako nosičky mutací v genu *BRCA2* a v případě vysoké rodinné zátěže, kdy patologické mutace segreguje s nádorovým onemocněním, i vč. doporučení preventivních chirurgických zákroků (preventivní adnexektomie a mastektomie) [18,19,22,24,25]. Asociace se zvýšeným rizikem karcinomu ovaria ne-

byla sice zatím u nosiček mutace genu *PALB2* jednoznačně prokázána, přesto je vhodné tuto preventivní operaci doporučit minimálně v těch rodinách, kde se karcinom ovaria vyskytuje.

Nosičky mutací v genu *RAD51C* mají zvýšené riziko karcinomu ovarii – celoživotní riziko je udáváno 5–10 %, vyšší riziko karcinomu prsu u nosiček mutace genu *RAD51C* nebylo zatím jednoznačně prokázáno, i když mutace genu *RAD51C* byly popsány i v rodinách s karcinomem prsu. Literatura neudává doporučené sledování pro nosičky mutace v tomto genu, plán preventivního sledování pro nosičky mutace genu *RAD51C* se stanovuje především podle empirických rizik nádorových onemocnění stanovených na základě anamnestických údajů v rodině. Sledování na mamologii je u nosiček mutace genu *RAD51C* doporučováno, stejně jako u žen se středním rizikem karcinomu prsu, pokud z genealogie nevyplývá empirické riziko karcinomu prsu vyšší. U nosiček mutace genu *RAD51C* by ale měla být zvažena preventivní adnexektomie ve 45–50 letech (event. dříve, věk posuzovat podle nejčasnějšího výskytu karcinomu ovaria v rodině, podobně jako u nosiček mutace genu *BRIP1*) [18,20,22,23].

Gen *XRCC2* se účastní v rámci 4dílného komplexu (*RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D*, *XRCC2*) opravy deoxyribonukleové kyseliny (DNA) – dvojvláknových zlomů homologní rekombinací – a je jedním z genů, které zřejmě zvyšují riziko karcinomu prsu. Asociace mutací tohoto genu s tímto nádorovým onemocněním a jinými nádory zatím ale není zcela jasná a bude v budoucnosti předmětem dalších studií. Literatura neudává doporučené sledování pro nosičky mutace v tomto genu, plán preventivního sledování pro nosičky mutace genu *XRCC2* se stanovuje především podle empirických rizik nádorových onemocnění stanovených na základě anamnestických údajů v rodině.

V některých dostupných publikacích byl popsán vyšší záchyt mutace genů *FANCA*, *FANCC*, *FANCD2*, *XRCC2*, *FANCI*, *FANCM* u pacientů s nádorovým onemocněním, především s karcinomem prsu a pankreatu ve srovnání s neselektovanou populací. Střední riziko karcinomu prsu je uváděno u nosiček heterozygotní mutace genů *FANCA*, *FANCC* a *FANCM* [26–28]. Heterozygotní nosičství mutace genů *FANCC* a *XRCC9* [27,29] je zřejmě rizikovým faktorem pro karcinom pankreatu. U heterozygotních nosičů mutace genů *FANCD2* a *FANCI* je uváděno obecně vyšší riziko nádorových onemocnění, zatím není blíže specifikováno [30]. Literatura neudává doporučení ohledně preventivního sledování u nosičů/ek mutace v těchto genech v heterozygotním stavu. V případě nosičství mutace genů *FANCA*, *FANCC*, *FANCM* je vhodné ženy sledovat podobně jako ženy se středním rizikem karcinomu prsu, pokud z genealogie nevyplývá riziko vyšší. Preventivní opatření z důvodu rizik dalších nádorových onemocnění je vhodné určit podle rizik plynoucích z rodinné anamnézy.

U ostatních genů, které jsou popisovány v souvislosti s AR dědičnou FA, nebylo zvýšené riziko nádorových onemocnění pro jejich nosiče heterozygotní mutace popsáno.

Prediktivní vyšetření členů rodiny je vhodné tam, kde je u nosičů heterozygotní mutace zvýšené riziko nádorových onemocnění a/nebo kde je předpoklad další reprodukce a frekvence heterozygotů v populaci vyšší než 1/500 (0,2 %), neboť v takovém případě nosičům mutace doporučujeme i vyšetření partnera. Vyšetření partnera by mělo zahrnovat vyšetření celého genu. U genů s frekvencí heterozygotů v populaci méně než 1/500 je reziduální riziko AR dědičného onemocnění méně než 1/2 000, tj. 0,05 %. Naše závěry a doporučení shrnuje tab. 1.

Geny pro ostatní AR dědičné nádorové syndromy

NBN

Gen *NBN* (*NBS1*; OMIM*602667) kóduje protein nibrin. Nibrin je spolu s proteiny *MRE11/RAD50* součástí heterotrimerního *MRN* komplexu, který má základní úlohu v reparaci dvouřetězcových zlomů a procesech rekonfigurace imunitních genů, telomer a meiotické rekombinace. Bialelické mutace v genu *NBN* způsobují AR onemocnění Nijmegen Breakage Syndrom (*NBS*, OMIM*251260) charakterizovaný mikrocefalií, růstovou retar-

dací, imunodeficienci, hypersenzitivitou na ionizující záření a zvýšeným rizikem vzniku lymfoidních malignit [31]. Většina NBS pacientů pochází z východní Evropy a je homozygotní pro mutaci c.657_661del (dřívější název c.657del5, p.Lys219Asnfs*16, rs587776650), která vede ke vzniku dvou truncačních fragmentů p26- a p70 nibrinu. Vysoká frekvence heterozygotních nosičů této mutace (1/130–1/177) byla popsána u slovanské populace v Polsku, České republice, Slovensku, Ukrajině a Německu, zvláště pak mezi pacienty s onkologickým onemocněním [31,32]. V literatuře je u nosičů této mutace opakovaně popsáno zvýšené riziko rozvoje nádorů (OR 2,79), především karcinomu prsu (OR 2,51), prostaty (OR 5,87) a lymfomů (OR 2,93) [33]. V publikované české studii se ale výskyt této mutace u pacientek s karcinomem prsu nelišil od výskytu v kontrolní populaci [34]. Dále byly v genu *NBN* ve zvýšené frekvenci prokázány dvě misense mutace. Mutace c.643C>T (p.Arg215Trp, rs34767364) je uváděna v databázi ClinVar jako patogenní ve vztahu k NBS a dle metaanalytických studií v heterozygotním stavu statisticky významně nezvyšuje riziko karcinomu prsu, ale může zvyšovat riziko jiných nádorů (OR 1,77) [33]. Místo mutace je lokalizováno mezi dvěma BRCT (C-terminální doména proteinu BRCA1) doménami a poškozuje jejich orientaci, tím je po indukci poškození DNA znemožněna vazba histonu γ -H2AX, což vede ke zpoždění v reparaci dvouřetězcových zlomů DNA (double strand break) [35]. Mutace c.511A>G (p.Ile171Val, rs61754966) genu *NBN* změnou struktury proteinu vede k poškození jedné z N-terminálních BRCT domén, což naruší interakci s dalšími proteiny DNA reparace a buněčné regulace. Mutace byla popsána u slovanských pacientů s NBS. Dle metaanalýz je u nosičů této mutace zvýšené riziko rozvoje nádorů (OR 3,93), především lymfomů (OR 25,98) [36], ale jedná se o mutaci s vysokou četností v evropské populaci – 0,2 % (ExAC). Ve vztahu k nádorovým onemocněním bychom za rizikovou alelu s mírnou až střední penetrancí mohli považovat mutaci c.657del5, ostatní dvě mutace c.643C>T a c.511A>G bychom ve vztahu k nádorům

v současnosti měli hodnotit spíše jako risk faktory a dát doporučení ke sledování dle empirického rizika vyplývajícího z rodinné anamnézy. Konkrétní plán sledování pro nosiče mutace c.657del5 *NBN* genu literatura neuvádí. Pro ženy platí doporučení jako u žen se středně zvýšeným rizikem karcinomu prsu, event. vyšším, pokud tomu bude odpovídat empirické riziko vyplývající z rodinné anamnézy (viz Clausovy tabulky k odhadu empirického rizika na www.linkos.cz):

- samovyšetření prsů každý měsíc;
- klinické vyšetření 1krát ročně;
- ultrazvukové vyšetření prsu nebo mamografie 1krát ročně (metodu určí radiodiagnostik podle charakteru prsní žlázy) od 40 let, u pozitivní rodinné anamnézy o 10 let dříve, než byl nejčasnější výskyt nádoru v rodině;
- gynekologické vyšetření 1krát ročně vč. transvaginálního ultrazvuku.

Pro muže doporučujeme populační screening karcinomu prostaty pohmatem skrz konečník a z krve stanovení prostatického antigenu 1krát ročně s časnějším začátkem, tj. od 45 let, event. se začátkem 5–10 let před výskytem karcinomu prostaty v rodině. Pro ženy i muže dále platí běžný populační screening kolorektálního karcinomu – test na okultní krvácení do stolice 1krát ročně od 50 let, od 55 let kolonoskopické vyšetření (při negativitě 1krát za 10 let) nebo test na okultní krvácení do stolice 1krát za 2 roky a event. další vyšetření s přihlédnutím k případným jiným onkologickým onemocněním v rodině. Nosiči mutací *NBN* genu mohou být více citliví na ionizující záření, proto je vhodné pokud možno snížit frekvenci rentgenového záření a vyvarovat se nadměrnému slunění (ultrafialové (UV) záření).

Vzhledem k tomu, že se všechny tři uvedené mutace genu *NBN* vyskytují v české populaci ve zvýšené frekvenci a současně patří mezi nejčastěji detekované, doporučujeme v případě jejich nálezu prediktivní vyšetření pokrevních příbuzných, tj. rodičů (k určení dědičné linie mutace), sourozenců a dětí. Pro nosiče mutace pak nastavení vhodné onkologické prevence, a pokud jsou ve fertilitním věku a plánují rodinu, pro-

vést vyšetření genu *NBN* u jejich partnerů k prevenci NBS v rodině. Za dostatečné lze považovat vyšetření partnerů na výše uvedené tři časté mutace *NBN* genu, neboť reziduální riziko přenašečství *NBN* mutace u partnera ze středo-evropské populace je při negativním výsledku takového vyšetření nevýznamné, u pacienta z ostatních populací je 1/514. Riziko postižení potomka NBS při negativním výsledku partnera ze středo-evropské populace pak je téměř zanedbatelné, u partnera z jiné než středo-evropské populace je 1/2 000.

RAD50

Gen *RAD50* (OMIM* 604040) kóduje další z proteinů, který je součástí již zmíněného MRN komplexu. Bialelické mutace v tomto genu způsobují AR dědičný NBS-like syndrom (OMIM *613078), který je charakterizován podobným fenotypem jako NBS, tj. mikrocefalií, poruchou růstu, chromozomální instabilitou a středně zvýšenou citlivostí na radiaci, ale bez imunodeficitu a rizika malignity. Heterozygotní nosičství mutací v genu *RAD50* bylo v literatuře spojováno s mírně zvýšeným rizikem rozvoje nádorových onemocnění, především karcinomu prsu a vaječníků, ale podle posledních studií jsou mutace spíše prediktorem horšího přežití pacientek s karcinomem prsu než zvýšeného rizika. Nosičství mutací v genu *RAD50* je v naší populaci vzácné, v čínské populaci je frekvence tří nejčastějších mutací zastoupena v 0,18 % [37]. Jedná se o vzácné mutace a vzhledem k zatím ne zcela jasné asociaci se zvýšeným rizikem rozvoje nádorů není nutné v případě nálezu mutace provádět další prediktivní vyšetření v rodině. Rizika pro pokrevní příbuzné a sledování doporučit dle empirického rizika vyplývajícího z RA, riziko onemocnění NBS-like syndromem pro budoucí dítě nosiče mutace je zanedbatelné a není důvodem k vyšetření partnera.

MRE11

Gen *MRE11* (OMIM*600814) kóduje další z proteinů MRN komplexu, který se vyznačuje endonukleázovou a 3'k 5' exonukleázovou aktivitou. Bialelické mutace v tomto genu jsou příčinou vzácného AR dědičného onemocnění ataxia te- leangiectasia-like disorder 1 (ATLD1,

OMIM*604391), které je klinicky velmi podobné onemocnění ataxia teleangiectasia, ale pacienti nemají teleangiectasia, ale pacienti nemají teleangiectasia. Homozygotní truncační mutace genu *MRE11* byly popsány také u AR onemocnění nephronophthisis-related ciliopathies (NPHP-RC), které patří mezi AR dědičné poruchy řasinek s multisystémovým postižením ledvin, sítnice, jater a mozečku [38]. Mutace v tomto genu jsou ještě vzácnější než v genu *RAD50*, v naší studii jsme tuto mutaci prokázali pouze u jedné pacientky. Jedná se o vzácné mutace a vzhledem k zatím ne zcela jasné asociaci se zvýšeným rizikem rozvoje nádorů není nutné provádět další prediktivní vyšetření v rodině nebo vyšetření partnera, podobně jako v případě mutace genu *RAD50*.

LIG4

Gen *LIG4* (OMIM*601837) kóduje DNA ligázu *LIG4*, která je nezbytná pro rekombinaci a opravu DSB pomocí nehomologního spojování konců vláken DNA. Bialelické mutace v genu *LIG4* způsobují vzácné AR onemocnění *LIG4* syndrom (OMIM*606593), který klinicky upomíná NBS. Na světě bylo popsáno jen několik pacientů s tímto syndromem, mutace tohoto genu jsou v naší populaci vzácné. Dle některých studií se mohou polymorfizmy genu *LIG4* podílet na multifaktoriálním „risk skóre“ rozvoje karcinomu prsu pravděpodobně z důvodu ovlivnění DNA reparace [39]. Vzhledem k uvedenému není v současnosti nutné provádět další prediktivní vyšetření v rodině nebo vyšetření partnera.

MUTYH

Gen *MUTYH* (*MYH*; OMIM*604933) kóduje enzym *MYH* glykosylázu, která se podílí na odstraňování chyb replikace DNA při přípravě k dělení buněk. Bialelické zárodečné mutace v genu *MUTYH* způsobují AR dědičnou polypózu střev (*MUTYH*-asociovaná polypóza, MAP, OMIM*608456) charakterizovanou mnohočetnými střevními polypy, s průměrným věkem diagnózy kolem 55 let (počet polypů je celkově menší než u FAP, pohybuje se od 5 do několika set). Pacienti s MAP mají zvýšené riziko rozvoje kolorektálního karcinomu a také polypózu horního gastrointestinálního traktu

(tubulární nebo tubulovilózní adenomy) [40]. Frekvence přenašečů mutace *MUTYH* genu je v evropské populaci odhadována na 1/80 (1–1,5 %), ale popsané mutace vykazují významnou populační specifitu. V severozápadní Evropě převažují dvě mutace – c.536A>G (p.Tyr179Cys, rs34612342, dříve označovaná jako Y165C) v exonu 7 a c.1187G>A (p.Gly396Asp, rs36053993, dříve G382D) v exonu 13, které tvoří až 80 % všech reportovaných mutací *MUTYH* genu, zatímco v asijské populaci nebyly tyto mutace zatím popsány [41].

U heterozygotů patogenní mutace *MUTYH* genu je popsáno asi 2krát zvýšené riziko rozvoje kolorektálního karcinomu (colorectal cancer – CRC) od 45 let (OR 1,5–2,1), které odpovídá riziku CRC u prvostupňových příbuzných pacienta se sporadickým časným CRC [41]. Některé studie uvádějí také 2krát zvýšené riziko karcinomu prsu, především ve specifických populacích (židovská, holandská) [42], v italské populaci dokonce i u mužů [43]. Mírně zvýšená nad běžné populační riziko jsou i rizika rozvoje dalších nádorových onemocnění (dělohy, žaludku, jater), sumárně jsou však tato rizika stále spíše nízká, bez speciálních doporučení stran preventivního sledování [44].

Pro nosiče mutace hodnotíme riziko CRC a doporučujeme sledování jako pokrevním příbuzným pacienta se sporadickým CRC ve věku do 45 let, tj. empirické riziko CRC je 5krát zvýšené nad populační riziko, které je v ČR 3,13 % pro ženy a 6,44 % pro muže. Pro ženy platí doporučení jako u žen se středně zvýšeným rizikem karcinomu prsu, event. vyšším, pokud tomu bude odpovídat empirické riziko vyplývajícího z rodinné anamnézy (viz Clausovy tabulky k odhadu empirického rizika na www.linkos.cz). Doporučené schéma sledování u nosičů mutace genu *MUTYH*:

- koloskopické vyšetření ve 2–5letých intervalech od 45 let (5letý interval v případě normálního nálezu v tlustém střevě, při nálezu benigních změn každé 2–3 roky dle typu změn, jako je četnost a velikost adenomů, dysplastické změny), u pozitivní rodinné anamnézy je vhodné začít se sledováním

ním o 5–10 let dříve před nejčasnějším výskytem nádoru v rodině;

- test na okultní krvácení do stolice 1krát ročně (mezi koloskopiemi), při makroskopickém výskytu krve ve stolici koloskopie okamžitě, test na okultní krvácení neprovádět;
- další vyšetření s přihlédnutím k případným jiným onkologickým onemocněním v rodině.

Pro ženy dále vhodné:

- samovyšetření prsů každý měsíc;
- klinické vyšetření 1krát ročně;
- ultrazvukové vyšetření prsu nebo mamografie 1krát ročně (metodu určí radiodiagnostik podle charakteru prsní žlázy) od 40 let, u pozitivní rodinné anamnézy o 10 let dříve, než byl nejčasnější výskyt nádoru v rodině;
- gynekologické vyšetření 1krát ročně vč. transvaginálního ultrazvuku.

Pro muže platí dále populační screening karcinomu prostaty.

Doporučujeme prediktivní vyšetření pokrevních příbuzných a pro nosiče mutace pak nastavení vhodné onkologické prevence a v případě plánování reprodukce vyšetření genu *MUTYH* u jejich partnerů k prevenci MAP v rodině. Za dostatečné lze považovat vyšetření partnerů na výše uvedené dvě nejčastější mutace *MUTYH* genu, neboť reziduální riziko přenašečství *MUTYH* mutace u partnera z evropské populace bude při negativním výsledku vyšetření nevýznamné.

ATM

Gen *ATM* (OMIM* 607585) kóduje protein, který je umístěn primárně v jádře buněk, kde pomáhá řídit rychlost růstu a dělení buněk. Hraje také důležitou roli v normálním vývoji a aktivitě několika tělesných systémů, vč. nervového a imunitního systému, kde pomáhá rozpoznávat vlákna DNA poškozená jak chemickými látkami, tak zářením. Bialelické zárodečné mutace v genu *ATM* způsobují onemocnění ataxia teleangiectasia (AT). Klinickému obrazu dominují neurologické příznaky (cerebelární ataxie s rozvojem již v době, kdy dítě začíná chodit) a teleangiectázie bulbů a v oblastech exponovaných slunečnímu záření (přítomné kolem 7. roku věku).

Pacienti mají defekt buněčné i protilátkové imunity a jsou infertilní. Dvě třetiny pacientů mají zvýšenou hladinu sérového alfa-fetoproteinu. Až 30 % pacientů s AT onemocní nádorem, nejčastěji se jedná o leukemie a lymfomy, v dospělosti je riziko rozvoje i jiných nádorů (např. žaludku, meduloblastomu, gliomu). V rámci léčby je u pacientů s AT nutné vyvarovat se zvýšené radiační zátěže, nelze používat konvenční dávky radioterapie ani radiomimetické chemoterapie. Frekvence přenašečů mutace *ATM* genu je odhadována v populaci až na 1 % a popsány jsou populačně specifické mutace (např. u Amišů nebo na Sardinii) [45]. Nosičky mutace *ATM* genu mají až 3–5krát zvýšené riziko karcinomu prsu (celoživotní kumulativní riziko je cca 38 %, celkově se pohybuje dle studií mezi 17–52 %) a měly by být sledovány od 40 let dle doporučení pro ženy s vysokým rizikem karcinomu prsu vč. každoroční magnetické rezonance prsou. Riziko rozvoje karcinomu prsu se zdá být závislé na typu mutace *ATM* genu, například missence mutace c.7271T>G (p.Val2424Gly, rs28904921) je díky dominantně negativnímu vlivu na funkci proteinu spojena až s 69% rizikem karcinomu prsu, tedy mnohem vyšším, než je udáváno u jiných trunkačních mutací [46]. Dle NCCN není u nosiček *ATM* mutace jasně prokázán benefit z provedení preventivní bilaterální mastektomie ke snížení rizika, ale na základě nálezu nebo rodinné anamnézy lze tento výkon i u těchto pacientek doporučit. Ačkoli je některými studii uváděno i mírně zvýšené riziko karcinomu vaječníků, není důvodem k preventivní operaci. Dle NCCN studie WECAR prokázala zvýšené riziko vzniku kontralaterálního karcinomu prsu po expozici radiaci u nosiček *ATM* mutace, ale jiná metaanalýza neprokázala kontraindikaci radiační terapie standardními dávkami záření, v současnosti tedy dle NCCN neexistují jednoznačné důkazy proti radiační terapii pacientek – nosiček *ATM* mutace, ale je vhodné k tomuto riziku v rámci léčby pacientky přihlídnout. Některé studie popisují asi 2–3krát vyšší riziko rozvoje i dalších nádorů, především gastrointestinálního traktu (karcinom slinivky, jícnu, žaludku a kolorekta), prostaty a lymfob-

lastických malignit, ale jasné schéma doporučeného sledování literatura neuvádí [45]. U nosičů mutace je popsána vyšší mortalita nejen z důvodu rizika rozvoje nádorů, ale i rizika rozvoje ischemické choroby srdeční [46].

Pro nosičky mutace *ATM* platí doporučení jako pro ženy s vysokým rizikem vzniku karcinomu prsu:

- samovyšetření prsu každý měsíc;
- klinické vyšetření 1krát ročně;
- harmonogram vyšetření prsů od 40 let (u pozitivní rodinné anamnézy o 10 let dříve, než byl nejčasnější výskyt nádoru v rodině) – střídat po půlročních intervalech ultrazvuk a magnetickou rezonanci, event. mamografii – vhodné individuálně posuzovat, zhodnotí radiodiagnostik podle typu žlázy, po profylaktické bilaterální mastektomii roční kontroly prsů vhodnou zobrazovací metodou;
- gynekologické vyšetření 2krát ročně vč. transvaginálního ultrazvuku.

Pro muže je vhodný populační screening karcinomu prostaty, ale s časnějším začátkem od 45 let. Dále pro muže i ženy doporučujeme:

- koloskopické vyšetření ve 3–5letých intervalech od 45 let (5letý interval v případě normálního nálezu v tlustém střevě, při nálezu benigních změn každé 2–3 roky dle typu změn, jako je četnost a velikost adenomů, dysplastické změny), u pozitivní rodinné anamnézy je vhodné začít se sledováním o 5–10 let dříve před nejčasnějším výskytem nádoru v rodině;
- test na okultní krvácení do stolice 1krát ročně (mezi koloskopiemi);
- další vyšetření s přihlédnutím k případným onkologickým onemocněním v rodině, vhodný ultrazvuk břišních orgánů každoročně od 30 let;
- ochranu před ionizujícím zářením – pokud možno eliminovat či snížit frekvenci rentgenového vyšetření nebo terapie a vyvarovat se nadměrného slunění (UV záření).

Doporučujeme prediktivní vyšetření pokrevních příbuzných a pro nosiče mutace pak nastavení vhodné onkologické prevence a v případě plánování reprodukce vyšetření celého genu *ATM* u partnerů heterozygotů k prevenci AT u jejich dětí.

BLM

Gen *BLM* (*RECQL3*; OMIM*604610) kóduje protein z rodiny RecQ helikáz. Tyto enzymy uvolňují obě vlákna molekuly DNA, což je nezbytné pro několik procesů v buněčném jádru, vč. replikace DNA při přípravě buněčného dělení a opravy poškozené DNA. Helikázy RecQ pomáhají udržovat strukturu a integritu DNA, proto jsou někdy označovány jako tzv. „správci genomu“. Bialelické zárodečné mutace v genu *BLM* způsobují vzácné AR dědičné onemocnění Bloomův syndrom (BS, OMIM* 210900), který se vyznačuje prenatální i postnatální růstovou retardací, mikrocefalií, typickými kožními příznaky (teleangiektázie, hypo- a hyperpigmentace), opakovanými infekty z důvodu defektu imunity, předčasným stárnutím a zvýšeným rizikem vzniku různých typů nádorů – v dětství lymfoidních malignit (leukemie, Hodgkinův lymfom) a Wilmsova tumoru a v dospělosti malignitami gastrointestinálního traktu (jícnu, tlustého střeva) a ledvin. Muži s BS jsou často neplodní a u žen s BS se rozvíjí menopauza již po 30. roce. Pacienti s BS jsou fotosenzitivní, tj. mají zvýšenou citlivost na sluneční záření (typický erytém v obličeji po oslunění) [47]. Frekvence přenašečů mutací *BLM* genu se odhaduje na 1/1 800, s významně vyšším výskytem až 1/100 v aškenázské židovské populaci [48]. Ve slovanské populaci je nejčastější mutace c.1642C>T (p. Gln548Ter, rs200389141). Heterozygotní nosičství této mutace je v literatuře spojováno se zvýšeným rizikem rozvoje karcinomu prsu (asi dvojnásobně oproti populačnímu riziku), event. dalších nádorů (karcinomu kolorekta a ovaria) [49]. Konkrétní plán sledování pro nosiče mutace *BLM* genu literatura neuvádí. Pro ženy platí doporučení jako u žen se středně zvýšeným rizikem karcinomu prsu, event. vyšším, pokud tomu bude odpovídat empirické riziko vyplývající z rodinné anamnézy.

WRN

WRN gen (*RECQL2*; OMIM*604611) kóduje multifunkční jaderný protein z rodiny RecQ helikáz s exonukleázovou a helikázovou aktivitou a patří (podobně jako *BLM*) mezi geny, které kódují protein z rodiny RecQ helikáz. Bialelické mutace způsobují AR dědičný Wernerův

Tab. 2. Geny pro autozomálně recesivní dědičné syndromy, frekvence heterozygotů v populaci, riziko nádorů u heterozygotů a dispenzarizace, predikce v rodině a vyšetření partnera.

Gen	Frekvence heterozygotů (populace)	Riziko nádorů	Dispenzarizace	Predikce v rodině	Vyšetření partnera a rozsah vyšetření (celý gen nebo nejčastější mutace)
<i>NBN</i>	1/140–1/200 (slovanská)	ca prsu, ca prostaty, lymfomy	mutace c.657del5 střední, riziko ca prsu, ochrana před ionizujícím zářením	ano	ano (3 mutace)
<i>RAD50</i>	vzácné (1/550 čínská)	nepopsáno	dle RA	ne	ne
<i>MRE11</i>	vzácné	nepopsáno	dle RA	ne	ne
<i>LIG4</i>	vzácné	multirisk skóre ca prsu	dle RA	ne	ne
<i>MUTYH</i>	1/70–1/100	CRC, ca prsu	10% riziko CRC, střední riziko ca prsu	ano	ano (2 mutace)
<i>ATM</i>	1/100	ca prsu u žen, ca GIT (pankreas jícen, žludek, kolorektum), ca prostaty, leukemie	vysoké riziko ca prsu u žen (průměr 38 %), 2–3× vyšší riziko ca GIT a prostaty, ochrana před ionizujícím zářením	ano	ano (celý gen)
<i>BLM</i>	1/1 800 (1/100 aškenázská židovská)	ca prsu	střední riziko ca prsu	ano	ano (1 mutace slovanská populace, celý gen aškenázské židovské populace)
<i>WRN</i>	1/300–1/500 (1/140 Itálie, Sardinie, Japonsko)	ca prsu	střední riziko ca prsu, ochrana kůže před ionizujícím zářením a sluněním	ano	ano (1 mutace, u japonské populace 2 mutace)
<i>SBDS</i>	1/250 (10 % mutací vznik <i>de novo</i>)	aplastická anémie (risk faktor)?	dle RA	ano	ano (2 mutace)
<i>ERCC2</i>	< 1/3 300	nepopsáno	dle RA, kontrola kůže 1× ročně, ochrana před ultrafialovým zářením, nekuřáctví	ne	ne

ca – karcinom, CRC – kolorektální karcinom, GIT – gastrointestinální trakt, RA – rodinná anamnéza

syndrom (WS; OMIM* 277700), jehož klinické projevy předčasného stárnutí (katarakta, subkutánní kalcifikace, poruchy kožního pigmentu a vředy, předčasné šedivění a plešatost, předčasná arterioskleróza, předčasná menopauza, poruchy cyklu a neplodnost) se manifestují od puberty. U pacientů je významně zvýšené riziko rozvoje nádorů kůže (melanom, bazocelulární karcinom), mezenchymálních nádorů (liposarkom, fibrosarkom) a leukemie [50]. Frekvence přenašečů v populaci je odhadována na 1/300–500, v Japonsku, na Sardinii a v Itálii je WS častější, s frekvencí nosičů 1/150. Nejčastěji je v japonské populaci detekována splicing mutace c.3139-1G>C (rs113993961), u pacientů nejaponské populace mutace c.1105C>T (p.Arg369Ter, rs17847577), která je současně druhou nejčastější mutací v japonské populaci, proto se předpokládá, že jde o „mutační hotspot“ napříč všemi

etnickými skupinami [51]. U heterozygotních nosiček mutací a variant v genu *WRN* byla v několika studiích popsána asociace se zvýšeným rizikem rozvoje karcinomu prsu [52,53]. Za současného stavu poznání považujeme mutaci genu *WRN* za variantu s mírnou až střední penetrancí ve vztahu ke karcinomu prsu a pro pacientky doporučujeme sledování jako u žen se středně zvýšeným celoživotním rizikem vzniku karcinomu prsu, event. vyšším, pokud tomu bude odpovídat empirické riziko vyplývající z rodinné anamnézy. Lze doporučit ochranu kůže před ionizujícím zářením a nadměrným sluněním (UV záření).

SBDS

SBDS gen (OMIM*607444) kóduje *SBDS* protein, jehož funkce není zatím přesně známa, dle studií má význam pro zpracování RNA a tvorbu ribozomů. Bialelické mutace způsobují AR dědičný Shwachman-

-Diamond syndrom (SDS; OMIM*260400), který se manifestuje chronickou leukopenií, poruchou zevně sekretorické funkce pankreatu, anomáliemi skeletu a dysfunkcí kostní dřene vč. zvýšeného rizika rozvoje myelodysplastického syndromu / akutní myeloidní leukemie. Neutropenie se manifestuje často již v kojeneckém věku. U části pacientů se rozvíjí selhání kostní dřene. Popisovány jsou také metafyzární dysostózy, anomálie žeber a hrudního koše, osteoporóza, neprospívání, porucha růstu. Frekvence přenašečů mutací *SBDS* v populaci je odhadována na 1/224 [54]. Nejčastěji detekovanými mutacemi u pacientů jsou c.258+2T>C(rs113993993) a c.183_184delinsCT (p.Lys62Ter, rs120074160) [55]. Byla popsána i komplexní alela c.[183_184delinsCT; 258+2T>C], která vzniká konverzí genu *SBDS* s jeho pseudogenem *SBDSP*, proto je nutné u pacienta s těmito mutacemi provést vyšetření rodičů k určení pozice mutací

trans/cis. Ačkoli podle některých studií heterozygoti s jednou patogenní alelou *SBDS* mohou mít vyšší než průměrné riziko pro aplastickou anémii [56], tak dle jiných studií aplastická anémie nebyla pozorována u nosičů mutace z více než 200 rodin se SDS v Severní Americe a frekvence heterozygotní mutace byla stejná u pacientů s akutní myeloidní leukémií jako u zdravých kontrol [57]. Prediktivní vyšetření příbuzných doporučujeme z důvodu prevence SDS v rodině, ale při genetické konzultaci je nutné zdůraznit, že i když se jedná o AR dědičné onemocnění, tak v 10 % případů postižený jedinec nese jednu patogenní mutaci od rodiče a druhá vznikla *de novo* [58]. V případě plánování rodiny doporučujeme vyšetření partnera na výše uvedené dvě nejčastější mutace *SBDS* genu.

ERCC2

Gen *ERCC2* (OMIM* 126340) kóduje XPD protein, který je podjednotkou skupiny proteinů TFIIH komplexu, jehož hlavní funkcí je genová exprese a reparace poškozené DNA vlivem UV záření, ale i radiací, chemickými látkami a volnými radikály. Bialelické mutace v genu *ERCC2* způsobují vzácná AR dědičná onemocnění, Xeroderma pigmentosum, skupina D (XP typ D, OMIM*278730) a fotosenzitivní trichothiodystrofií 1 (OMIM*601675), ale popisovány jsou také kombinované klinické projevy XP s trichothiodystrofií (XP/TTD komplex) nebo s Cockaynovým syndromem (XP/CS komplex). Tato onemocnění jsou charakterizována hypersenzitivitou k UV záření s kožními a neurologickými projevy. Pacienti s XP mají kožní změny v oblastech exponovaných slunečnímu záření a rozvíjejí mnohočetné kožní malignity (bazocelulární a squamózní karcinomy, melanomy) s průměrným věkem manifestace prvního nádoru v 8 letech a zvýšené je riziko i dalších nádorů (melanomu oka, karcinomu jazyka, plic, žaludku, nádorů mozku a leukemie). Buňky pacientů s XP jsou hypersenzitivní i k mutagenům typu benzopyrenů obsažených v cigaretovém kouři, proto by pacienti měli být chráněni před pasivním kouřením. Na světě bylo popsáno jen několik pacientů s těmito syndromy. Mutace genu *ERCC2* jsou v naší populaci vzácné, frekvence nosičů mutací ve všech genech asociovaných s XP (*XPA*, *ERCC3*, *XPC*, *ERCC4*, *ERCC5*) se odha-

duje na 1/330 [59]. Heterozygotní mutace genu *ERCC2* byly prokázány ve skupině pacientů s HBOC, vč. českých pacientů, nicméně také u kontrolní populace [60]. Asociace mutací *ERCC2* v heterozygotním stavu s nádorovým onemocněním není zcela jasná a bude v budoucnosti předmětem dalších studií. Za současného stavu poznání se tedy nelze k jejich významu přesněji vyjádřit a ani je pro klinické účely dále v rodině nebo u partnerů nosičů vyšetřovat. Nosičům mutací genu *ERCC2* lze mimo sledování dle empirických rizik doporučit roční kontroly kůže, ochranu proti UV záření (oděv, krémy s vysokým faktorem, brýle s UV filtrem, minimalizovat denní pobyt venku) a nekuřáctví.

Naše závěry a doporučení shrnuje tab. 2.

Závěr

V případě onkogenetického vyšetření pacienta metodou NGS a nálezu mutace nebo suspektně patogenní varianty (class 4) v genu pro některý z AR dědičných nádorových syndromů, i mimo oblast naší indikace, bychom o tomto nálezu měli pacienta informovat a doporučit vhodné preventivní onkologické sledování dle rizika. Současně je nutné řešit i otázku prediktivního testování ostatních členů rodiny. Důležitými aspekty pro rozhodnutí, zda provádět prediktivní vyšetření dále v rodině nebo u partnerů pacienta, jsou jednak rizika nádorových onemocnění u heterozygotů mutace příslušného genu a jednak výše rizika onemocnění AR dědičným syndromem pro potomky, které se odvíjí od frekvence nosičů mutace příslušného genu v populaci. Prediktivní vyšetření členů rodiny na přítomnost mutace příslušného genu je proto vhodné nabídnout tam, kde je u nosičů heterozygotní mutace zvýšené riziko nádorových onemocnění a výsledek tohoto vyšetření ovlivní preventivní péči o tyto pacienty (preventivní sledování, operace). Pokud u heterozygotů určitého genu není zatím jasná asociace s nádory a je teprve předmětem dalšího zkoumání, není nyní přínosné prediktivní vyšetření v rodině dále provádět. V případě nálezu mutace u osob plánujících reprodukci je vhodné vyšetřit i jejich partnera, ale doporučení a rozsah tohoto vyšetření závisí na frekvenci he-

terozygotů v populaci partnera a zda se v daném genu vyskytují určité specifické mutace ve vysoké frekvenci, či nikoli. Vyšetření partnera tedy může zahrnovat celý gen (např. geny *FANCA*, *ATM*) nebo jen nejčastější mutace daného genu (např. geny *NBN*, *SBDS*, *MUTYH* apod.), neboť reziduální riziko nosičství mutace a riziko AR syndromu pro budoucí dítě po vyloučení těchto nejčastějších mutací u partnera bude velmi významně snížené až zanedbatelné. U partnerů – nosičů mutace genu *BRCA1* – toto není obecně nabízeno i z důvodu převážně letálního efektu bialelické mutace genu *BRCA1*. V případě konsanguinity mezi partnery doporučujeme vyšetření partnera cíleně jen na zjištěnou mutaci příslušného genu, i u genů s nízkou frekvencí heterozygotů v populaci.

V souvislosti s přibývajícím znalostmi o daných genech a mutacích v rámci budoucího poznání a na základě výsledků dalšího zkoumání bude nutné námi uvedená doporučení a návrhy dále revidovat a zpřesňovat. V současné éře exomového a genomového sekvenování lze očekávat nové poznatky nejen k stávajícím, ale i dalším, dosud neprozkoumaným genům, kde bude také potřeba sjednotit postupy v rámci reportování nálezů a doporučení ke sledování a dalšímu testování v rodině pacienta.

Literatura

1. Rahman N. Mainstreaming genetic testing of cancer predisposition genes. *Clin Med* 2014; 14(4): 436–439. doi: 10.7861/clinmedicine.14-4-436.
2. Soukupova J, Zemankova P, Lhotova K et al. Validation of CZECANCA (CZEch CAncer paNel for Clinical Application) for targeted NGS-based analysis of hereditary cancer syndromes. *PLoS One* 2018; 13(4): e0195761. doi: 10.1371/journal.pone.0195761.
3. MRC-Holland. [online]. Available from: <https://www.mlpa.com>.
4. ONCOCNV: Detection of copy number changes in deep sequencing data. [online]. Available from: <http://boeva-lab.com/ONCOCNV>.
5. CNVkit 0.9.6. [online]. Available from: <https://pypi.org/project/CNVkit/>.
6. 3. Richards S, Aziz N, Bale S et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015; 17(5): 405–424. doi: 10.1038/gim.2015.30.
7. 4. Eccles DM, Mitchell G, Monteiro AN et al. BRCA1 and BRCA2 genetic testing-pitfalls and recommendations for managing variants of uncertain clinical significance. *Ann Oncol* 2015; 26(10): 2057–2065. doi: 10.1093/annonc/mdv278.
8. 5. Nykamp K, Anderson M, Powers M et al. Sherlock: a comprehensive refinement of the ACMG-AMP variant

- classification criteria. *Genet Med* 2017; 19(10): 1105–1117. doi: 10.1038/gim.2017.37.
9. Informace pro poskytovatele hrazených služeb – laboratoř lékařské genetiky a sdílené odbornosti pro rok 2018. [online]. Dostupné na: <https://www.vzp.cz/o-nas/aktuality/informace-pro-poskytovatele-hrazenych-sluzeb-laborator-lekarske-genetiky-a-sdilene-odbornosti-pro-rok-2018>.
10. Pohlreich P, Kleibl Z, Kleiblová P et al. Klinický význam analýz genů středního rizika pro hodnocení rizika vzniku karcinomu prsu a dalších nádorů v České republice. *Klin Onkol* 2012; 25(Suppl): S59–S66. doi: 10.14735/amko20121559.
11. Fanconi anemia. [online]. Dostupné z: https://www.omim.org/search/?index=entry&start=1&limit=10&sort=score+desc%2C+prefix_sort+desc&search=FANCONI+ANEMIA.
12. Mehta PA, Tolar J. Fanconi Anemia. *GeneReviews*® 2018. [online]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1401/>.
13. Svojič K, Sumerauer D, Puchmajerová A et al. Fanconi anemia with biallelic FANCD1/BRCA2 mutations – case report of a family with three affected children. *Eur J Med Genet* 2016; 59(3): 152–157. doi: 10.1016/j.ejmg.2015.11.013.
14. Puchmajerová A, Svojič K, Novotná D et al. Fanconi Anemia, Complementation Group D1 Caused by Biallelic Mutations of BRCA2 Gene – Case Report. *Klin Onkol* 2016; 29(Suppl 1): S89–S92. doi: 10.14735/amko2016S89.
15. Freire BL, Homma TK, Funari MF et al. Homozygous loss of function BRCA1 variant causing a Fanconi-anemia-like phenotype, a clinical report and review of previous patients. *Eur J Med Genet* 2018; 61(3): 130–133. doi: 10.1016/j.ejmg.2017.11.003.
16. Sawyer SL, Tian L, Kähkönen M et al. Biallelic mutations in BRCA1 cause a new Fanconi anemia subtype. *Cancer Discov* 2014; 5(2): 135–142. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-1156.
17. Foretová L, Navrátilová M, Svoboda M et al. Doporučení pro sledování žen se vzácnějšími genetickými příčinami nádorů prsu a ovarií. *Klin Onkol* 2019; 32 (Suppl 2): 256–2513. doi: 10.14735/amko201956.
18. NCCN Guidelines 2019. Genetic/familial high-risk assessment: breast and ovarian. [online]. Available from: https://www2.tri-kobe.org/nccn/guideline/gynecological/english/genetic_familial.pdf.
19. Ramus SJ, Song H, Dicks E et al. Germline mutations in the BRIP1, BARD1, PALB2, and NBN genes in women with ovarian cancer. *J Natl Cancer Inst* 2015; 107(11). doi: 10.1093/jnci/djv214.
20. Eoh KJ, Kim JE, Park HS et al. Detection of germline mutations in patients with epithelial ovarian cancer using multi-gene panels: beyond BRCA1/2. *Cancer Res Treat* 2018; 50(3): 917–925. doi: 10.4143/crt.2017.220.
21. Easton DF, Lesueur F, Decker B et al. No evidence that protein truncating variants in BRIP1 are associated with breast cancer risk: implications for gene panel testing. *J Med Genet* 2016; 53(5): 298–309. doi: 10.1136/jmedgenet-2015-103529.
22. Lu HM, Li S, Black MH et al. Association of breast and ovarian cancers with predisposition genes identified by large-scale sequencing. *JAMA Oncol* 2018. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.2956.
23. Sato K et al. Mutation status of RAD51C, PALB2 and BRIP1 in 100 Japanese familial breast cancer cases without BRCA1 and BRCA2 mutations. *Cancer Sci* 2017; 108(11): 2287–2294. doi: 10.1111/cas.13350.
24. Shimelis H, LaDuca H, Hu C et al. Triple-negative breast cancer risk genes identified by multigene hereditary cancer panel testing. *J Natl Cancer Inst* 2018. doi: 10.1093/jnci/djy106.
25. Piffer A, Luporsi E, Mathelin C. PALB2, a major susceptibility gene for breast cancer. *Gynecol Obstet Fertil Senol* 2018; 46(10–11): 701–705. doi: 10.1016/j.gofs.2018.08.006.
26. Litim N, Labrie Y, Desjardins S et al. Polymorphic variations in the FANCA gene in high-risk non-BRCA1/2 breast cancer individuals from the French Canadian population. *Mol Oncol* 2013; 7(1): 85–100. doi: 10.1016/j.molonc.2012.08.002.
27. Thompson ER, Doyle MA, Ryland GL et al. Exome sequencing identifies rare deleterious mutations in DNA repair genes FANCC and BLM as potential breast cancer susceptibility alleles. *PLoS Genet* 2012; 8(9): e1002894. doi: 10.1371/journal.pgen.1002894.
28. Kiiski JI, Peltari LM, Khan S. Exome sequencing identifies FANCM as a susceptibility gene for triple-negative breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(42): 15172–15177. doi: 10.1073/pnas.1407909111.
29. van der Heijden MS, Yeo CJ, Hruban RH et al. Fanconi anemia gene mutations in young-onset pancreatic cancer. *Cancer Res* 2003; 63(10): 2585–2588.
30. Seguí N, Mina LB, Lázaro C. Germline mutations in FAN1 cause hereditary colorectal cancer by impairing DNA repair. *Gastroenterology* 2015; 149(3): 563–566. doi: 10.1053/j.gastro.2015.05.056.
31. Seemanova E, Varon R, Vejvalka J et al. The Slavic NBN Founder Mutation: a role for reproductive fitness? *PLoS One* 2016; 11(12): e0167984. doi: 10.1371/journal.pone.0167984.
32. Maurer MH, Hoffmann K, Sperling K et al. High prevalence of the NBN gene mutation c.657-661del5 in Southeast Germany. *J Appl Genet* 2010; 51(2): 211–214.
33. Gao P, Ma N, Li M et al. Functional variants in NBS1 and cancer risk: evidence from meta-analysis of 60 publications with 111 individual studies. *Mutagenesis* 2013; 28(6): 683–697. doi: 10.1093/mutage/get048.
34. 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: 809–811. doi: 10.1007/s10549-012-2049-x.
35. di Masi A, Viganotti M, Polticelli F et al. The R215W mutation in NBS1 impairs gamma H2AX binding and affects DNA repair: molecular bases for the severe phenotype of 657del5/R215W Nijmegen breakage syndrome patients. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 369(3): 835–840. doi: 10.1016/j.bbrc.2008.02.129.
36. Zhang Y, Zhou J, Lim CU. The role of NBS1 in DNA double strand break repair, telomere stability, and cell cycle checkpoint control. *Cell Res* 2006; 16(1): 45–54. doi: 10.1038/sj.cr.7310007.
37. Fan C, Zhang J, Ouyang T et al. RAD50 germline mutations are associated with poor survival in BRCA1/2-negative breast cancer patients. *Int J Cancer* 2018; 143(8): 1935–1942. doi: 10.1002/ijc.31579.
38. Hildebrandt F. Exome resequencing identifies novel NPHP genes, implicating DNA damage response signaling in the pathogenesis of ciliopathies. *Cilia* 2012; 1 (Suppl 1) O2. doi: 10.1186/2046-2530-1-S1-O2.
39. Xie S, Shan XF, Shang K et al. Relevance of LIG4 gene polymorphisms with cancer susceptibility: evidence from a meta-analysis. *Sci Rep* 2014; 4: 6630. doi: 10.1038/srep06630.
40. Plevová P, Štekrova J, Kohoutova M et al. Familiární adenomatózní polypóza. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl): S16–S19.
41. Aretz S, Genuardi M, Hes FJ et al. Clinical utility gene card for: MUTYH-associated polyposis (MAP), autosomal recessive colorectal adenomatous polyposis, multiple colorectal adenomas, multiple adenomatous polyps (MAP) – update 2012. *Eur J Hum Genet* 2013; 21(1). doi: 10.1038/ejhg.2012.163.
42. Rennert G, Lejbkowitz F, Cohen I et al. MutYH mutation carriers have increased breast cancer risk. *Cancer* 2012; 118(8): 1989–1993. doi: 10.1002/cncr.26506.
43. Rizzolo P, Silvestri V, Bucalo A et al. Contribution of MUTYH variants to male breast cancer risk: results from a multicenter study in Italy. *Front Oncol* 2018; 8: 583. doi: 10.3389/fonc.2018.00583.
44. Win AK, Reece JC, Dowty JG. Risk of extracolonic cancers for people with biallelic and monoallelic mutations in MUTYH. *Int J Cancer* 2016; 139(7): 1557–1563. doi: 10.1002/ijc.30197.
45. Gatti R, Perlman S. Ataxia-telangiectasia. *GeneReviews* 2016. [online]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26468>.
46. van Os NJ, Roeleveld N, Weemaes C M et al. Health risks for ataxia-telangiectasia mutated heterozygotes: a systematic review, meta-analysis and evidence-based guideline. *Clin Genet* 2016; 90(2): 105–117. doi: 10.1111/cge.12710.
47. Cunniff C, Bassetti JA, Ellis NA. Bloom's syndrome: clinical spectrum, molecular pathogenesis, and cancer predisposition. *Mol Syndromol* 2017; 8(1): 4–23. doi: 10.1159/000452082.
48. Fu W, Ligabue A, Rogers KJ et al. Human RECQ9 helicase pathogenic variants, population variation and „missing“ diseases. *Hum Mutat* 2017; 38(2): 193–203. doi: 10.1002/humu.23148.
49. Sokolenco AP, Iyevleva AG, Preobrazhenskaya EV et al. High prevalence and breast cancer predisposing role of the BLM c.1642 C>T (Q548X) mutation in Russia. *Int J Cancer* 2012; 130(12): 2867–2873. doi: 10.1002/ijc.26342.
50. Oshima J, Martin GM, Hisama FM. Werner Syndrome. *GeneReviews*® 2016. [online]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1514>.
51. Yokote K, Chanprasert S, Lee L. WRN mutation update: mutation spectrum, patient registries, and translational prospects. *Hum Mutat* 2017; 38(1): 7–15. doi: 10.1002/humu.23128.
52. Wang Z, Xu Y, Tang J et al. A polymorphism in Werner syndrome gene is associated with breast cancer susceptibility in Chinese women. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 118(1): 169–175. doi: 10.1007/s10549-009-0327-z.
53. Ding SL, Yu JC, Chen ST et al. Genetic variation in the premature aging gene WRN: a case-control study on breast cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16(2): 263–269. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-06-0678.
54. Orphanet. The portal for rare diseases and orphan drugs. [online]. Available from: <https://www.orpha.net>.
55. Nelson A, Myers K. Shwachman-Diamond Syndrome. *GeneReviews* 2018. [online]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1756/>.
56. Calado RT, Graf SA, Wilkerson KL et al. Mutations in the SBDS gene in acquired aplastic anemia. *Blood* 2007; 110(4): 1141–1146. doi: 10.1182/blood-2007-03-080044.
57. Aalbers AM, Calado RT, Young NS et al. Absence of SBDS mutations in sporadic paediatric acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 2013; 160(4): 559–561. doi: 10.1111/bjh.12134.
58. Baskin B, Steele L, Rommens JM et al. De novo mutations causing shwachman-diamond syndrome and a founder mutation in SBDS in the French Canadian population. *J Invest Genom* 2014. [online]. Available from: <https://medcraveonline.com/JIG/JIG-01-00008.php>.
59. Rump A, Benet-Pages A, Schubert S et al. Identification and functional testing of ercc2 mutations in a multi-national cohort of patients with familial breast- and ovarian cancer. *PLoS Genet* 2016; 12(8): e1006248. doi: 10.1371/journal.pgen.1006248.
60. Lehmann AR, McGibbon D, Stefanini M. Xeroderma pigmentosum Orphanet. *J Rare Dis* 2011; 6: 70. doi: 10.1186/1750-1172-6-70.

Karcinom prsu u nosiček mutací v genu *BRCA1/2* – léčíme ho jinak? Zaměřeno na systémovou terapii u mutací v genu *BRCA1/2*

Breast Cancer in *BRCA1/2* Mutation Carriers – Do We Treat It Differently? Focus on Systemic Therapy for *BRCA1/2* Associated Breast Cancer

Palácová M.

Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn

Hereditární syndrom karcinomu prsu je spojen s vyšším rizikem vzniku karcinomu prsu a tvoří 5–10 % všech nádorů prsu. Je možné mutace v genech *BRCA1/2*, které jsou reparačními geny, využít cíleně v systémové terapii rozdílné od sporadického karcinomu prsu? Kromě antracyklinů byl prokázán benefit taxanů, především u nádorů s *BRCA2* mutací. Výrazný efekt platino-vých derivátů byl prokázán především u metastatického karcinomu prsu ve studii TNT. Data z neadjuvantních klinických studií u triple negativních nádorů potvrzují větší efekt neadjuvantní chemoterapie ve srovnání se sporadickými nádory, ale efekt karboplatiny nebyl na rozdíl od sporadického karcinomu statisticky signifikantní. Novou léčebnou skupinou, speciálně u nádorů s mutací v genu *BRCA1/2*, jsou PARP inhibitory, u nichž byl prokázán efekt nejenom u triple negativních nádorů, ale i u luminálních nádorů.

Klíčová slova

karcinom prsu – mutace *BRCA1/2* – genomické testy – platinové deriváty – PARP inhibitory

Summary

Hereditary breast cancer syndrome is associated with a higher risk of developing breast cancer and accounts for 5–10% of all breast tumors. Is it possible that mutations in *BRCA1/2* genes (which are involved in DNA repair genes) should be treated differently from sporadic breast cancer? In addition to anthracyclines, taxanes are effective against tumors with a *BRCA2* mutation. A TNT trial showed that platinum derivatives have marked effects against metastatic breast cancer. Data from neoadjuvant trials testing efficacy in triple negative cancer confirm that neoadjuvant chemotherapy is more effective against sporadic tumors, whereas the effect of carboplatin is not statistically significant, as opposed to sporadic cancer. A new group of therapeutics, particularly for tumors with mutations in *BRCA1/2* genes, is PARP inhibitors. These treatments were effective not only against triple negative tumors but also against luminal tumors.

Key words

breast cancer – *BRCA1/2* mutation – genomic tests – platinum salts – PARP inhibitors

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

Obdrženo/Submitted: 5. 6. 2019

Přijato/Accepted: 12. 6. 2019

doi: 10.14735/amko2019S24

Úvod

Mutace genů *BRCA1/2* způsobují zvýšené riziko vzniku různých malignit, především karcinomu prsu a ovarií. 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 genu *BRCA1* je 22–65 % a u nosiček mutací *BRCA2* 10–35 %. 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 [1].

Histopatologická charakteristika karcinomů prsu spojených s mutací v genu *BRCA1/2*

Histopatologie je u nádorů s mutací v genu *BRCA1* rozdílná ve srovnání se sporadickými karcinomy. Většina nádorů jsou invazivní adenokarcinomy (74 %). Častěji se vyskytují nádory medulární (9 vs. 2 %) [2]. Lobulární karcinomy se vyskytují u nádorů s *BRCA1* mutací výjimečně (0,58 %), u nádorů s mutací v genu *BRCA2* u 10 % a u nádorů sporadických se jejich výskyt popisuje v 5–10 % [3]. Ostatní histologické typy se vyskytují přibližně srovnatelně se sporadickými nádory. U nádorů s mutací v genu *BRCA1* je často popisován vysoký grade, vysoká mitotická aktivita, nízká exprese ER, PR a HER2 neu. U nádorů s *BRCA2* mutací je nejčastějším histologickým typem také invazivní ductální karcinom. Častěji se vyskytují i nádory kribriiformní, pleomorfní lobulární a tubulární ve srovnání se sporadickými nádory. Nádory jsou častěji s vyšším gradem – 2 nebo 3. Imunofenotyp nádorů u *BRCA2* mutací je podobný sporadickému imunofenotypu. Dle dat velké epidemiologické studie zahrnující téměř 6 000 pacientek s germinální *BRCA1/2* mutací je u nosiček *BRCA1* mutace 78 % nádorů ER (estrogenový receptor) negativních, 79 % PR (progesteronový receptor) negativních, 90 % HER2 negativních a triple negativní imunofenotyp byl popsán u 69 % nádorů. U nosiček *BRCA2* mutace je pouze 23 %

nádorů ER negativních, 36 % PR negativních, 87 % HER2 negativních a 16 % triple negativních. U nádorů s mutací v genu *BRCA1* převažuje vysoký grade, který ale klesá s narůstajícím věkem. Tento trend nebyl pozorován u nádorů s mutací v genu *BRCA2*. Frekvence ER negativních nádorů klesá u nosiček mutace v genu *BRCA1* s věkem, a naopak stoupá s věkem u nosiček s mutací v genu *BRCA2*. Tento efekt nebyl pozorován u HER2 statusu. Výskyt triple negativních nádorů (triple negative breast cancer – TNBC) klesá s věkem u nosiček *BRCA1*, narůstá u nosiček *BRCA2*. Při srovnání věku – u žen mladších 50 let se jednoznačně vyskytuje vyšší grade, vyšší je i výskyt medulárního histologického typu [2]. Letos byla publikována práce dánských autorů, kteří zkoumali rozložení subtypů u geneticky podmíněných karcinomů prsu. Z celkového počtu 413 nádorů bylo 20 % luminal-A, 28 % luminal-B, 6 % HER2 pozitivních a 46 % basal-like. Většina nádorů u nosiček mutace v genu *BRCA1* měla basal-like podtyp (65 %), zatímco většina nádorů u nosiček mutace v genu *BRCA2* patřila mezi lumenální nádory (75 %). Nádory luminal-A se vyskytovaly u mutace v genu *BRCA1* pouze v 9 vs. 35 % u mutace v genu *BRCA2*. Většina luminal-B nádorů byla grade 3 [4].

Genomické testy

Nádory spojené s mutací v genu *BRCA1* a *BRCA2* mají rozdílný profil genové exprese ve srovnání se sporadickými nádory. Doposud existují limitovaná data týkající se genomických vyšetření u nádorů spojených s těmito mutacemi. Až v posledních 3 letech byly publikovány tři práce srovnávající výsledky genomického testu Oncotype DX u geneticky podmíněného a sporadického karcinomu prsu. Všechny tři soubory byly s limitovaným počtem pacientek. Ve všech třech byly výsledky recurrence score (RS) srovnatelné – podstatně nižší procento nízkého RS u mutací v obou genech (kolem 15 % ve srovnání s 50–53 % u sporadického), naopak vyšší výskyt vysokého rizika RS – kolem 28 % – ve srovnání s nízkým rizikem (7–9 %) u sporadického karcinomu. V jedné z prací byly samostatně vyšet-

řeny pacientky s *BRCA1* mutací, kde byl nález vysokého RS 50 %. Všechny práce jednoznačně prokázaly u nádorů geneticky podmíněných horší biologické vlastnosti ve srovnání se sporadickým karcinomem [5–7].

Lokální terapie a role profylaktických operací

Riziko lokální recidivy karcinomu prsu u nádorů nosiček mutace *BRCA1/2* je po konzervativním operačním výkonu a následné radioterapii (RT) podobné jako u sporadických karcinomů prsu [8–10]. Na základě informací o schopnosti ionizujícího záření indukovat zlomy v DNA a zapojení *BRCA1* a *BRCA2* genu do reparace dvojšroubovice DNA byla diskutována náchylnost nádorů s *BRCA1/2* mutací k vyšší toxicitě RT. V klinické praxi nebyla potvrzena vyšší lokální toxicita u nádorů prsu u nosiček mutací v genu *BRCA1/2*. V současné době by neměla být u těchto pacientek indikována akcelerovaná parciální RT prsu, a to především kvůli chybějícím datům než z důvodu vyšší toxicity RT. Jediná práce na toto téma byla publikována nedávno. Nebyl prokázán nižší efekt akcelerované parciální RT prsu v parametru lokální rekurence ani sekundární malignity, ale práce zahrnovala pouze 11 žen s mutací v *BRCA1/2* genech (z celkového počtu 341) [11].

Efekt preventivní salpingo-oophorektomie (SOE) na prevenci vzniku karcinomu prsu u premenopauzálních pacientek s mutací v genu *BRCA1* zůstává kontroverzní [12,13]. U premenopauzálních pacientek s karcinomem prsu a mutací v genu *BRCA1/2* bylo několika velkými studii prokázáno, že provedení oophorektomie výrazně redukuje vznik karcinomu prsu i mortalitu [14–16]. V práci, kde zkoumali efekt brzy provedené SOE po diagnóze karcinomu prsu, prokázali redukcii rizika úmrtí spojeného s karcinomem prsu. Větší efekt byl překvapivě prokázán u žen se SR negativním karcinomem prsu než u žen se SR pozitivním nádorem. Na základě těchto výsledků autoři doporučují, že by v případě nově diagnostikovaného karcinomu prsu u žen s mutací v genu *BRCA1/2* měla být provedena následně SOE jako část jejich léčebného plánu,

nicméně tento přístup je kontroverzní a doposud není široce akceptován [17].

Systémová terapie

Je potřeba se na geneticky podmíněný karcinom prsu dívat z hlediska systémové terapie jinak než na sporadický karcinom prsu? Prognostická informace spojená s přítomností mutace v genu *BRCA1/2* je doposud nejasná. Bylo publikováno velké množství prací, které srovnávají výsledky terapie sporadického a geneticky podmíněného karcinomu prsu a ty jsou rozporuplné [18–21]. Systematické review a metaanalýza 60 studií prokázala lepší celkové přežití pouze u nádorů TNBC u nosiček mutace ve srovnání se sporadickými nádory. Pro všechny podtypy nádorů u mutace v genu *BRCA1* bylo horší nejenom celkové přežití (overall survival – OS), ale i specifické přežití karcinomu prsu u klinického stadia I–III, u *BRCA2* mutace byly horší výsledky pouze v parametru specifického přežití karcinomu prsu, celkové přežití bylo srovnatelné se sporadickými nádory [22]. V loňském roce byly publikovány výsledky prospektivní práce anglických autorů u mladých pacientek do 40 let. Při mediánu sledování 8,2 roku nebyl nalezen statisticky signifikantní rozdíl v parametru celkového přežití mezi nosičkami mutace a pacientkami se sporadickým karcinodem prsu. Hodnocení proběhlo po 2, 5 a 10 letech. Při srovnání pouze triple negativního imunofenotypu nádoru měly nosičky mutace lepší přežití ve 2 letech, ale ne v 5 a 10 letech sledování [23].

Geny *BRCA1* a *BRCA2* hrají roli v procesu reparace DNA, proto germinální mutace v těchto genech vede k poškození homologní reparace zlomů dvojitě šroubovice DNA. Toto predisponuje pacientky k chromozomální instabilitě a současně to umožňuje využít v terapii cytostatika poškozující DNA, ionizující záření a PARP (poly(ADP-ribóza)) inhibitory [24–25].

Systémová terapie u nádorů s mutací v genu *BRCA1/2*

Platinové deriváty a časný karcinom prsu

Platinové deriváty cisplatina (cDDP) a karboplatina (CBDCA) se v terapii kar-

cinomu prsu používají limitovaně vzhledem k jejich minimálnímu efektu u SR pozitivních nádorů [26]. Jejich mechanismem účinku je poškození šroubovice DNA a tím indukce vzniku apoptózy. Proto se předpokládá, že právě u onemocnění, kde je porucha reparace DNA – u genů *BRCA1* a *BRCA2* – mohou být tyto látky neefektivnější. První data o možné efektivitě platinových derivátů u nádorů spojených s mutací v genu *BRCA1/2* z *in vitro* prací byla publikována v roce 2000 a následně v dalších letech. Prokázán byl právě benefit platinových derivátů a antracyklinů, nebyl prokázán benefit inhibitorů mikrotubulů (taxany) [27–29]. První studií, která se zabývala podáním platiny – konkrétně cDDP u pacientek s mutací v genu *BRCA1* – byla studie polských autorů. Jednalo se o velmi selektovanou populaci 107 pacientek s časným karcinodem prsu s mutací pouze v genu *BRCA1*, které byly léčeny neoadjuvantní chemoterapií, kromě jiných režimů i pouze čtyřmi sériemi cDDP s následným operačním řešením. Patologické komplexní remise (pathological complete remission – pCR) bylo dosaženo u 61 % žen. Studie je bohužel pouze jednoramenná, s velmi limitovaným počtem pacientek léčených pouze cDDP, bez srovnání se standardním režimem [30]. Ve velké retrospektivní analýze kohorty čínských pacientek s TNBC byl prokázán větší výskyt pCR u nosiček mutace v genu *BRCA1* ve srovnání se sporadickým karcinodem (53,8 vs. 29,7 %); *BRCA1* status byl příznivým nezávislým prediktorem pCR. Pacientky s mutací v genu *BRCA1* dosáhly lepší odpovědi na neoadjuvantní chemoterapii založenou na antracyklinech ve srovnání se sporadickými nádory. V rameni taxan/karboplatina bylo dosaženo nižšího procenta pCR ve srovnání s chemoterapií (CHT) založenou na antracyklinech (40 vs. 57 %), ale efektivita CBDCA u nosiček mutace *BRCA1* vs. pacientek se sporadickým karcinodem byla bez rozdílu [31]. Dále byla efektivita platiny u pacientek s mutací v genu *BRCA1/2* zkoumána také v randomizované studii GeparSixto. Z celkového počtu 291 hodnocených pacientek s TNBC byla mutace v jednom z genů nalezena u 50 z nich. Pacientky byly lé-

čeny kombinací paclitaxelu a lipozomálního doxorubicinu podávaných jednou týdně spolu s bevacizumabem, s randomizací do ramene s CBDCA v týdenním podání. Při srovnání bylo překvapující, že větší benefit přidání CBDCA byl prokázán u pacientek se sporadickým karcinodem ve srovnání s nádory s přítomností mutace – u sporadického karcinomu byl nalezen rozdíl v pCR 19 %, u nádorů geneticky podmíněných pouze 2 %. V roce 2017 byla publikována již i data týkající se přežití bez nemoci (disease-free survival – DFS). U nádorů s mutací v genu *BRCA1* a *BRCA2* nebyl přidáním CBDCA nalezen statisticky signifikantní rozdíl (82,5 vs. 86,3 % při mediánu sledování 35 měsíců). Výsledek se nejčastěji vysvětluje vyšší chemosenzitivitou geneticky podmíněných nádorů [32]. Rozdílných výsledků efektivit CBDCA v neoadjuvantním podání bylo dosaženo ve dvou velkých randomizovaných klinických studiích – CALGB 40603 a GEICAM 2006-03. Ve studii CALGB 40603 bylo 433 pacientek randomizováno do čtyř ramen – paclitaxel jednou týdně v monoterapii, paclitaxel jednou týdně v kombinaci s bevacizumabem, dále kombinace paclitaxel jednou týdně a CBDCA AUC6 a kombinace paclitaxel + CBDCA AUC 6 + bevacizumab. Následně byla všem pacientkám podána dose dense kombinace AC (doxorubicin/cyklofosfamid). Po dokončení CHT následovalo operační řešení a dále adjuvantní RT. Přidání CBDCA zvýšilo množství dosažených pCR ze 41 na 54 %. Ve studii CALGB 40603 nebyl nalezen statisticky signifikantní rozdíl v parametru DFS (71 vs. 76 %) na rozdíl od studie GeparSixto, kde byl potvrzen 3letý benefit v parametru DFS ve skupině pacientek léčených i CBDCA ze 76,1 na 85,8 % [33]. Ve studii GEICAM nebyl potvrzen benefit přidání CBDCA [34]. Bohužel v žádné z těchto studií nejsou data specifická pro nosičky mutací *BRCA1/2* genu. Efektivita platiny spolu s PARP inhibitorem u TNBC s mutací v genu *BRCA1/2* byla zkoumána také ve studii BrighTNess, kde byla mutace nalezena u 46 žen. Taktéž v této studii nebyl prokázán statisticky signifikantní benefit přidání CBDCA do kombinace. Rozdíl v parametru pCR byl 23 % ve prospěch CBDCA u sporadického TNBC,

u geneticky podmíněného nádoru rozdíl činil pouze 9 % [35,36].

Platinové deriváty u metastatického karcinomu prsu

Efektivita platiny u metastatického karcinomu prsu (metastatic breast cancer – MBC) je podstatně méně prozkoumána ve srovnání s časným karcinomem prsu. Jedna z prvních prací byla Byrskim publikována v roce 2012. Jednalo se o skupinu 20 pacientek s *BRCA1* mutací, které byly léčeny cDDP v monoterapii. Objektivní odpověď byla zaznamenána u 80 % žen, 45 % dosáhlo kompletní remise, 35 % parciální remise; nebyl pozorován rozdíl mezi 1. a dalšími liniemi léčby (89 vs. 73 %), stejně tak jako nebyl rozdíl v efektivitě mezi TNBC a lumenálními typy nádorů (80 % u obou), ačkoliv počet kompletních remisí byl vyšší u TNBC. Podáno bylo šest cyklů CHT a doba do progresu byla 12 měsíců; 17 měsíců u pacientek, které dosáhly kompletní remise. Medián OS byl 30 měsíců a u 4 pacientek bylo dosaženo 4 let přežití [37]. Nicméně tato data je nutno brát s rezervou s ohledem na velmi malý soubor pacientek a nemožnost oddělit efekt platiny od jiných preparátů, kterými byly pacientky léčeny následně. V roce 2015 byly publikovány výsledky další studie fáze II, ve které bylo 86 pacientek léčeno cDDP nebo CBDCA v 1. nebo 2. linii pro MBC. Odpovědi bylo dosaženo ve 29 % v 1. linii a pouze u 12 % pacientek ve 2. linii. Efektivita cDDP byla téměř dvojnásobná (32,6 vs. 18,6 %). Pouze 11 pacientek mělo mutaci v genu *BRCA1/2*, u nich byla objektivní odpověď 54 %. Nebyl bohužel zaznamenán signifikantní zásadní rozdíl v parametru přežití bez progresu (progression-free survival – PFS) (3,3 vs. 2,8 měsíce) a OS (13,7 vs. 10,9 měsíce) mezi geneticky podmíněným a sporadickým karcinomem [38]. Největší studie věnovaná MBC byla studie TNT, kde byly pacientky s TNBC randomizovány do ramene s CBDCA nebo s docetaxelem; v případě progresu byl povolený crossover. Pacientky s mutací v genu *BRCA1/2* dosáhly v rameni s CBDCA vyšší léčebné odpovědi (68 vs. 33 %) a delšího PFS (6,8 vs. 4,4 měsíce), benefit v přežití ale tato studie neprokázala [39].

Látky ovlivňující mikrotubuly

Do této skupiny léků patří především taxany – paclitaxel a docetaxel, které se reverzibilně vážou na mikrotubuly, tím je stabilizují, interferují s normálním procesem reorganizace a vedou k disrupci mitózy. Několik studií zkoumalo efektivitu taxanů u pacientek s mutací genu *BRCA1/2* a jejich efekt byl u této skupiny pacientek menší. Tento nižší efekt byl také prokázán v již zmiňované studii TNT. Některé studie prokazují, že nižší efekt taxanů je vázán pouze na mutace v genu *BRCA1*. V roce 2010 byly na ASCO publikovány výsledky efektivitu taxanů u pacientek s *BRCA2* mutací, kde bylo dosaženo většího efektu ve srovnání se sporadickým karcinomem (léčebná odpověď (response rate – RR) – 75 vs. 36 %), PFS bylo ale stejné (4,6 vs. 4,7 měsíce) [40]. V San Antoniu 2015 byla prezentována práce, ve které byly pacientky léčeny v neoadjuvanci v úvodu taxanem, následně režimem AC nebo FEC (5-fluorouracil, epirubicin, cyklofosfamid). Po úvodním podání taxanu byly přešetřeny pomocí magnetické rezonance a dosáhly následujících výsledků – ve skupině 4 pacientek s mutací *BRCA1* nebyl zaznamenán žádný efekt, ve skupině 8 žen s *BRCA2* mutací byl efekt 25 % a u sporadického karcinomu prsu 16 % [41]. Tato data naznačují, že *BRCA* status predikuje rezistenci na taxany, ale je rozdíl v efektivitě mezi mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2*.

PARP inhibitory v monoterapii, kombinaci

Další z léků, které jsou zkoumány u nádorů prsu spojených s mutací v genu *BRCA1/2*, jsou PARP inhibitory. Proteiny rodiny PARP polymerázy, především PARP1 a PARP2 hrají významnou roli v opravě jednovláknových zlomů DNA mechanismem nahrazování jednotlivých bází (base excision repair). S největší pravděpodobností se podílejí i na regulaci dalších druhů reparace, především homologní rekombinace. Inhibice PARP vede ke kumulaci jednovláknových zlomů DNA a v důsledku kolapsu replikační vidlice k nahromadění dvouváknových zlomů DNA. Tyto zlomy jsou standardně opravovány jiným reparačním mechanismem – ho-

mologní rekombinací, kde hrají významnou roli právě geny *BRCA1* a *BRCA2*. Klinické využití PARP inhibitorů v monoterapii u nádorů spojených s mutací v genu *BRCA1/2* bylo založeno na principu buněčné letality, kde pouze kombinace uvedené mutace a inhibice PARP vede k buněčné smrti [42]. Tento koncept není ale jediný. Při kombinaci PARP inhibitoru s CHT zvyšuje PARP inhibitor efektivitu konvenční terapie tím, že zabrání reparaci poškozené DNA, která vznikla v důsledku podané terapie (nejčastěji platinových derivátů) [43]. Nově jsou k dispozici již data na buněčných modelech, která prokazují synergistický účinek PARP inhibitoru s inhibitorem PI3K nejenom u nádorů s mutací v genu *BRCA1/2*, ale i u sporadických TNBC [44]. Zkoumáno je pět PARP inhibitorů – olaparib, rucaparib, niraparib, talazoparib a velaparib. Klinické studie probíhají nejenom v monoterapii, ale i v léčebných kombinacích.

Schválení Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) a Evropskou lékovou agenturou (EMA) pro klinickou praxi u karcinomu prsu má zatím pouze olaparib na základě registrační studie OlympiAD. Jednalo se o randomizovanou, nezaslepenou klinickou studii fáze III, kde byl olaparib srovnáván s CHT. Dvě třetiny pacientek s mutací v genu *BRCA*, *HER2* negativních, byly předléčeny 1 nebo 2 liniemi CHT. Ve studii byly pacientky léčeny olaparibem v dávce 300 mg 2krát denně nebo standardní CHT (monoterapii) dle výběru ošetřujícího lékaře (kapecitabin, eribulin nebo vinorelbin). Olaparib byl ve srovnání se standardní CHT efektivnější v parametru PFS (7,0 vs. 4,2 měsíce; $p < 0,001$) a v procentu dosažených léčebných odpovědí (RR – 59,9 vs. 28,8 %) [45].

Nově byla v letošním roce publikována již data týkající se celkového přežití, kde nebylo v rameni s olaparibem dosaženo statisticky významného rozdílu oproti standardní CHT v monoterapii; medián OS byl 19,3 měsíce ve skupině s olaparibem vs. 17,1 měsíce ve skupině s CHT (HR 0,90; 95% CI 0,66–1,23; $p = 0,513$) [46]. Vliv předchozího podání platinových derivátů na efektivitu PARP inhibitorů zůstává doposud nejasný (PARP inhibitory mohou indukovat zkří-

ženou rezistenci k předchozí CHT u látek ovlivňujících poškození DNA).

Dalším z PARP inhibitorů je talazoparib, u kterého byla také prokázána efektivita u MBC u pacientek s *BRCA1/2* mutací. V podobně designované studii fáze III EMBRACA byla srovnávána efektivita talazoparibu s terapií dle volby lékaře (kapecitabin, eribulin, gemcitabin nebo vinorelbin) u 431 pacientek s *BRCA1* nebo *BRCA2* mutací. Talazoparib signifikantně prodloužil PFS – 8,6 vs. 5,6 měsíce (HR 0,542; $p < 0,001$) [47].

Veliparib (inhibitor PARP1/2) byl zkoumán jak ve studiích pro metastatické onemocnění, tak ve studiích u časného karcinomu prsu, nejčastěji v kombinaci s CHT. U metastatického onemocnění ve studii fáze II BROCADE II byl podáván v kombinaci s CBDCA a paclitaxelem, v jednom z ramen byl kombinován s temozolomidem. V rameni s temozolomidem benefit prokázán nebyl (PFS 7,4, měsíce; OS 19,1 měsíce), v rameni s kombinovanou CHT byl prokázán statisticky nesignifikantní benefit pro kombinaci s veliparibem – medián PFS 14,1 vs. 12,3 měsíce (HR 0,789; $p = 0,227$), medián OS 28,3 vs. 25,9 měsíce (HR 0,71; $p = 0,156$) [48]. Studie fáze III BROCADE III probíhala také u metastatického onemocnění; pacientky byly léčeny kombinací paclitaxel týdně / CBDCA ± veliparib, data doposud nejsou k dispozici. Veliparib byl zkoumán i v neadjuvantním podání – ve studii I-SPY2, kde byly léčeny pacientky s klinickým stadiem II a III. Jedno z experimentálních ramen zahrnovalo veliparib a CHT (CBDCA s paclitaxelem, následně kombinaci AC) nebo pouze standardní CHT (paclitaxel v monoterapii, následně kombinace AC). V rameni s CBDCA a veliparibem bylo dosaženo pCR 51 % ve srovnání s pCR 26 % ve standardním léčebném rameni. U pacientek s mutací v genu *BRCA* bylo dosaženo v experimentálním rameni pCR 17 vs. 5 % ve standardním léčebném rameni [49].

Rucaparib je zkoumán v monoterapii nebo v kombinaci s cDDP u pacientek s TNBC nebo s mutací v genu *BRCA1/2*, HER2 negativních, po předchozí neadjuvantní CHT založené na antracyklinech a taxanech (studie BRE09-146). Primární cíl, 2letý DFS, byl srovnatelný v obou

ramenech – 28,3 % s cDDP vs. 63,1 % u kombinace cDDP/rucaparib. *BRCA* status neměl vliv na výsledky v jednotlivých ramenech (pouze 22 pacientek s *BRCA* mutací ze 128 všech TNBC) [50].

V současnosti zůstává nejasné, jak nejlépe identifikovat pacientky s karcinomem prsu, které budou nejlépe profitovat z terapie s PARP inhibitory kromě vyšetření *BRCA* mutace. Jedním z prediktivních faktorů může být samotný fenotyp nádoru, vzhledem k efektivitě i u sporadických TNBC, ale celková odpověď je menší ve srovnání s nádory, které mají mutaci v genu *BRCA1/2*. Do některých studií s PARP inhibitory již byly zařazeny i pacientky s pozitivitou hormonálních receptorů (studie ICEBERG 1, Study 42, OlympiAD) a ve všech byl nalezen benefit PARP inhibitorů i u nádorů SR pozitivních. Stejně tak i ve studii ABRAZO s talazoparibem byla prokázána téměř srovnatelná efektivita u SR pozitivních nádorů a TNBC – 29 vs. 26 % [51]. Je určitě potřeba ještě dalších dat, nicméně již teď lze říci, že PARP inhibitory jsou efektivní i u SR pozitivních nádorů s mutací *BRCA1/2* genu. Perspektivní se mohou jevit i v terapii mozkových metastáz, především u TNBC vzhledem k jejich průniku hemato-encefalickou bariérou [52]. Ač jsme se zatím v klinické praxi setkali s PARP inhibitory pouze v rámci klinických studií, jsou již známé i mechanismy rezistence. Jedním z nich je reverzní mutace v genu *BRCA1/2*, dále inaktivace DNA reparačních proteinů (53 BP1 a REV7) nebo zvýšená aktivita RAD51, což jsou všechny, které obnovují funkci homologní rekombinace.

Jednou z možností překonání rezistence bude volba léčebných kombinací, např. s imunoterapií (durvalumabem) a dalšími [53].

Jak tedy přistupovat k systémové terapii geneticky podmíněného karcinomu prsu v každodenní klinické praxi?

Současné studie prokazují vysokou chemosenzitivitu nádorů spojených s mutací v genu *BRCA1/2*. Byla zde prokázána vysoká efektivita platinových derivátů především v neadjuvantním podání a u MBC, především u TNBC spojeného

s mutací v genu *BRCA1/2*. U metastatického onemocnění lze na základě klinické studie TNT podávat platinový derivát u TNBC hned v 1. linii onemocnění, v dalších liniích pak taxany a jiná cytostatika. V neoadjuvanci jsou překvapivá data, kde benefit CBDCA zásadně nezvýšil dosažení pCR u nádorů spojených s mutací. Tudíž lze TNBC u *BRCA1/2* nosiček léčit stejně jako sporadický TNBC chemoterapií založenou na antracyklinech a taxanech v sekvenčním podání u pacientek s výbornou odpovědí na CHT. Při nevýrazné odpovědi lze stejně jako u sporadického nádoru volit po antracyklinech kombinaci taxanu s platinovým derivátem. Dále lze primárně přidání platinového derivátu v neoadjuvanci zvažovat u pacientek s pozitivními axilárními uzlinami, stejně jako je současné doporučení pro pacientky se sporadickým TNBC. Zda existuje skupina pacientek, u kterých bude dostačující pouze podání platinového derivátu, popř. jeho kombinace s PARP inhibitorem, zatím není jasné. To nám ukážou výsledky právě probíhajících klinických studií. V adjuvanci data podporující podání platinového derivátu nejsou, lze jej zvažovat ve výjimečných situacích, např. u pacientek, u kterých nelze podat antracyklin, popř. u pacientek s HER2 pozitivním nádorem, kde lze zvolit režim TCH (docetaxel/CBDCA/trastuzumab). U nádorů s pozitivními SR by měla být zvažována standardní CHT, dokud nebudou k dispozici data, která prokazují benefit platiny i u těchto podtypů nádorů. U drobných nádorů I. klinického stadia při mutaci v genu *BRCA1* je vhodné indikovat CHT již i u velikosti nádorů pT1b (u nádorů nad 5 mm). Podání CHT i u velmi malých nádorů podporují data z retrospektivní analýzy z roku 2014, kde pacientky léčené CHT u pT1b a pT1c – především SR negativní – měly při mediánu sledování téměř 15 let lepší přežití ve srovnání s pacientkami, u kterých CHT nebyla podána [54,55]. Co se týká podání hormonální léčby, nejsou k dispozici specifická data, která by podporovala podání určitého preparátu u určitého subtypu nádoru u geneticky podmíněných nádorů, proto platí pro podání hormonální léčby stejná doporučení jako u sporadického karcinomu.

nomu prsu. PARP inhibitor (olaparib) v monoterapii lze podat u metastatického, HER2 negativního nádoru prsu u pacientek předléčených maximálně 2 liniemi paliativní CHT – na základě dat z klinické studie OlympiAD. Pouze olaparib má v současné době EMA registraci, u nás není doposud schválena úhrada.

Závěr

Než budou zcela zřejmé indikace podání platinového derivátu u nádorů nosiček *BRCA1/2* na základě probíhajících klinických studií, benefit podání platinového derivátu by měl být zvažován ve světle vyšší chemosenzitivity těchto nádorů a vyšší toxicity platinových derivátů. Hledání prediktivních markerů nám snad do budoucna pomůže lépe identifikovat skupinu pacientek, u kterých by podání platinového derivátu zásadně ovlivnilo léčebný efekt i za cenu vyšší toxicity. Dokud nebude k dispozici více informací, přidání platinového derivátu do neadjuvantního CHT režimu by mělo být individualizováno. Taktéž není zcela zřejmé optimální dávkování platinových derivátů, sekvence podávání a CHT režim, kam nejlépe preparát inkorporovat. V současné době je akceptovatelné podání platinového derivátu u pacientek s časným karcinomem prsu s triple negativním fenotypem nádoru u nosiček mutace v genu *BRCA1/2*, u inflamatorního karcinomu, u lokálně pokročilého onemocnění a tam, kde úvodní podání antracyklinů přineslo jen minimální efekt. Současně je ale potřeba brát v úvahu i větší výskyt vedlejších účinků, který byl potvrzen ve všech studiích zkoumajících efekt platinových derivátů. Zatím ještě nenastal čas, kdy by mohl být antracyklin zcela nahrazen platinovým derivátem.

Literatura

- Gronwald J, Robidoux A, Tung N et al. Duration of tamoxifen use and the risk of contralateral breast cancer in *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers. *Breast Cancer Res Treat* 2014; 146(2): 421–427. doi: 10.1007/s10549-014-3026-3.
- Mavaddat N, Barrowdale D, Andrulis IL et al. Pathology of breast and ovarian cancers among *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers: results from the consortium of investigators of modifiers of *BRCA1/2*(CIMBA). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012; 21(1): 134–147. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-11-0775.
- Ditchi Y, Broudin C, El Dakdouki Y et al. Low risk of invasive lobular carcinoma of the breast in carriers of *BRCA1* and TP53 germline mutations. *Breast J* 2019; 25(1): 16–19. doi: 10.1111/tbj.13154.
- Sønderstrup IM, Jensen MB, Ejlersen B et al. Subtypes in *BRCA*-mutated breast cancer. *Human Pathology* 2019; 84: 192–201. doi: 10.1016/j.humpath.2018.10.005.
- Shah PD, Patil S, Dickler LN et al. Twenty-one-gene recurrence score assay in *BRCA*-associated versus sporadic breast cancers: differences based on germline mutation status. *Cancer* 2016; 122(8): 1178–1184. doi: 10.1002/cncr.29903.
- Lewin R, Sulkes A, Shochat T et al. Oncotype – DX recurrence score distribution in breast cancer patients with *BRCA1/2* mutations. *Breast Cancer Res Treat* 2016; 157(3): 511–516. doi: 10.1007/s10549-016-3836-6.
- Halpern N, Sonnenblick A, Uziely B et al. Oncotype DX recurrence score among *BRCA1/2* germline carriers with hormone receptors positive breast cancer. *Int J Cancer* 2017; 140(9): 2145–2149. doi: 10.1002/ijc.30616.
- Breklemans CT, Tilanus-Linthorst MM, Seynaeve C et al. Tumour characteristics, survival and prognostic factors of hereditary breast cancer from *BRCA1*, *BRCA2* and non-*BRCA1/2* families as compared to sporadic breast cancer cases. *Eur J Cancer* 2007; 43(5): 867–876. doi: 10.1016/j.ejca.2006.12.009.
- Pierce LJ, Levin AM, Rebbeck RT et al. Ten-years multi-institutional results of breast-conserving surgery and radiotherapy in *BRCA1/2*-associated stage I/II breast cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24(16): 2437–2443. doi: 10.1200/JCO.2005.02.7888.
- Pierce LJ, Phillips KA, Griffith KA et al. Local therapy in *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers with operable breast cancer: comparison of breast conservation and mastectomy. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 121(2): 389–398. doi: 10.1007/s10549-010-0894-z.
- Ahmed F, Christos PJ, Singh P et al. Analysis of outcomes in patients with *BRCA1/2* breast cancer mutations treated with accelerated partial breast irradiation (APBI). *Am J Clin Oncol* 2019; 42(5): 446–453. doi: 10.1097/COC.0000000000000542.
- 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(5): djv033. doi: 10.1093/jnci/djv033.
- Kotsopoulos J, Huzarski T, Gronwald J et al. Bilateral oophorectomy and breast cancer risk in *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2017; 109(1): 1–7. doi: 10.1093/jnci/djw177.
- Domchek SM, Friebel TM, Singer CF et al. Association of risk-reducing surgery in *BRCA1* or *BRCA2* mutation carriers with cancer risk and mortality. *JAMA* 2010; 304(9): 967–975. doi: 10.1001/jama.2010.1237.
- Finch AP, Lubinski J, Moller P et al. Impact of oophorectomy on cancer incidence and mortality in women with a *BRCA1* or *BRCA2* mutation. *J Clin Oncol* 2014; 32(15): 1547–1553. doi: 10.1200/JCO.2013.53.2820.
- Mavaddat N, Peock S, Frost D et al. Cancer risk 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.
- Metcalfe K, Lynch HT, Foulkes WD et al. Effect of oophorectomy on survival after breast cancer in *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers. *JAMA Oncol* 2015; 1(3): 306–313. doi: 10.1001/jamaoncol.2015.0658.
- Cortesi L, Masini C, Cirilli C et al. Favourable ten-year overall survival in a Caucasian population with high probability of hereditary breast cancer. *BMC Cancer* 2010; 10(1): 90. doi: 10.1186/1471-2407-10-90.
- Bordeleau L, Panchal S, Goodwin P et al. Prognosis of *BRCA*-associated breast cancer: a summary of evidence. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 119(1): 13–24. doi: 10.1007/s10549-009-0566-z.
- Musolino A, Bella MA, Bortesi B et al. *BRCA* mutations, molecular markers, and clinical variables in early-onset breast cancer: a population-based study. *Breast* 2007; 16(3): 280–292. doi: 10.1016/j.breast.2006.12.003.
- Schmidt MK, van den Broek AJ, Tollenaar RA et al. Breast cancer survival of *BRCA1/BRCA2* mutation carriers in a hospital-based cohort of young women. *J Natl Cancer Inst* 2017; 109(8). doi: 10.1093/jnci/djw329.
- Baretta Z, Mosellin S, Goldin E et al. Effect of *BRCA* germline mutations on breast cancer prognosis: a systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95(40): e4975. doi: 10.1097/MD.0000000000004975.
- Copson ER, Maishman TC, Tapper WJ et al. Germline *BRCA* mutation and outcome in young-onset breast cancer (POSH): a prospective cohort study. *Lancet Oncol* 2018; 19(2): 169–180. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30891-4.
- Welsh PL, Owens KN, King MC et al. Insights into functions of *BRCA1* and *BRCA2*. *Trends Genet* 2000; 16(2): 69–74.
- Patel KJ, Yu VP, Lee H et al. Involvement of *BRCA2* in DNA repair. *Mol Cell* 1998; 1(3): 347–357.
- Decatris MP, Sundar S, O'Byrne KJ et al. Platinum-based chemotherapy in metastatic breast cancer: current status. *Cancer Treat Rev* 2004; 30(1): 53–81. doi: 10.1016/S0305-7372(03)00139-7.
- Tassone P, Tagliaferri P, Perricelli A et al. *BRCA1* expression modulates chemosensitivity of *BRCA1*-defective HCC1937 human breast cancer cells. *Br J Cancer* 2003; 88(8): 1285–1291. doi: 10.1038/sj.bjc.6600859.
- Lafarge S, Sylvain V, Ferrara M et al. Inhibition of *BRCA1* leads to increased chemoresistance to mikrotubule-interfering agents, an effect that involves the JNK pathway. *Oncogene* 2001; 20(45): 6597–6606. doi: 10.1038/sj.onc.1204812.
- Bhattacharyya A, Ear US, Koller BH et al. The breast cancer susceptibility gene *BRCA1* is required for subnuclear assembly of Rad51 and survival following treatment with the DNA cross-linking agent cisplatin. *J Biol Chem* 2000; 275(31): 23899–23903. doi: 10.1074/jbc.C000276200.
- Byrski T, Huzarski T, Dent R et al. Pathologic complete response to neoadjuvant cisplatin in *BRCA1*-positive breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2014; 147(2): 401–405. doi: 10.1007/s10549-014-3100-x.
- Wang C, Zhang J, Wang Y et al. Prevalence of *BRCA1* mutations and responses to neoadjuvant chemotherapy among *BRCA1* carriers and non-carriers with triple-negative breast cancer. *Ann Oncol* 2015; 26(3): 523–528. doi: 10.1093/annonc/mdl559.
- Hahnen E, Lederer B, Hauke J et al. Germline mutation status, pathological complete response and disease-free survival in triple-negative breast cancer: secondary analysis of the GeparSixto randomized clinical trial. *JAMA Oncol* 2017; 3(10): 1378–1385. doi: 10.1001/jamaoncol.2017.1007.
- Sikov WM, Berry DA, Perou CM et al. Impact of the addition of carboplatin and/or bevacizumab to neoadjuvant once-per-week paclitaxel followed by dose-dense doxorubicin and cyclophosphamide on pathological complete response rates in stage II to III triple negative breast cancer: CALGB 40603(Alliance). *J Clin Oncol* 2015; 33(1): 13–21. doi: 10.1200/JCO.2014.57.0572.
- Alba E, Chacon JI, Lluch A et al. A randomized phase II trial of platinum salts in basal-like breast cancer patients in the neoadjuvant setting. Results from the GEL-CAM/2006-03, multicenter study. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 136(2): 487–493. doi: 10.1007/s10549-012-2100-y.
- Loibl S, O'Shaughnessy J, Untch M et al. Addition of the PARP inhibitor veliparib plus carboplatin or carboplatin alone to standard neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer (BrightNess): a randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2018; 19(4): 497–509. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30111-6.
- Byrski T, Dent R, Blecharz P et al. Results of a phase II open-label, non-randomized trial of cisplatin

- chemotherapy in patient with BRCA1-positive metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res* 2012; 14(4): 110. doi: 10.1186/bcr3231.
37. Isakoff SJ, Mayer EL, He L et al. TBCRC009: a multi-center phase II clinical trial of platinum monotherapy with biomarker assessment in metastatic triple negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2015; 33(17): 1902–1909. doi: 10.1200/JCO.2014.57.6660.
38. Tutt A, Tovey H, Cheang MC et al. Carboplatin in BRCA1/2-mutated and triple-negative breast cancer BRCAness subgroups: the TNT trial. *Nat Med* 2018; 24(5): 628–637. doi: 10.1038/s41591-018-0009-7.
39. Seynaeve C, Jager A, Hoening M et al. Activity of taxane chemotherapy for metastatic breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers compared to sporadic BC patients. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1020a.
40. Boughney JC, Kalari KR, Suman VJ et al. Role of germline BRCA status and tumor homologous recombination (HR) deficiency in response to neoadjuvant weekly paclitaxel followed by anthracycline-based chemotherapy. *Cancer Res* 2016; 76 (Suppl 4): P3–07–29a.
41. Murai J, Huang S, Das BB et al. Trapping of PARP1 and PARP2 by clinical inhibitors. *Cancer Res* 2012; 72(21): 5588–5599. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2753.
42. Rottenberg S, Jaspers JE, Kersbergen A et al. High sensitivity of BRCA1-deficient malignant tumors to the PARP inhibitor AZD2281 alone and in combination with platinum drugs. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(44): 17079–17084. doi: 10.1073/pnas.0806092105.
43. Juvekar A, Burga LN, Hu H et al. Combining a PI3K inhibitor with a PARP inhibitor provides an effective therapy for BRCA1-related breast cancer. *Cancer Discov* 2012; 2(11): 1048–1063. doi: 10.1158/2159-8290.CD-11-0336.
44. Robson M, Im SA, Senkus E et al. Olaparib for metastatic breast cancer in patients with a germline BRCA mutation. *N Engl J Med* 2017; 377(6): 523–533. doi: 10.1056/NEJMoa1706450.
45. Robson ME, Tung N, Conte P et al. OlympiAD final overall survival and tolerability results: Olaparib versus chemotherapy treatment of physician's choice in patients with a germline BRCA mutation and HER2-negative metastatic breast cancer. *Ann Oncol* 2019; 30(4): 558–566. doi: 10.1093/annonc/mdz012.
46. Litton JK, Rugo HS, Ettl J et al. Talazoparib in patients with advanced breast cancer and a germline BRCA mutation. *N Engl J Med* 2018; 379(8): 753–763. doi: 10.1056/NEJMoa1802905.
47. Han HS, Dieras V, Robson M et al. Veliparib with temozolomide or carboplatin/paclitaxel versus placebo with carboplatin/paclitaxel in patients with BRCA1/2 locally recurrent/metastatic breast cancer: randomized phase II trial. *Ann Oncol* 2018; 29(1): 154–161. doi: 10.1093/annonc/mdx505.
48. Rugo HS, Olopade OI, de Michele A et al. Adaptive randomization of veliparib-carboplatin treatment in breast cancer. *N Engl J Med* 2016; 375(1): 23–34. doi: 10.1056/NEJMoa1513749.
49. Miller K, Tong Y, Jones DR et al. Cisplatin with or without rucaparib after preoperative chemotherapy in patient with triple-negative breast cancer: final efficacy results of Hoosier oncology group BRE09-146. *J Clin Oncol* 2015; 33(15): 1082a.
50. Turner NC, Telli ML, Rugo HS et al. Final results of a phase 2 study of talazoparib following platinum or multiple cytotoxin regimen in advanced breast cancer patients with germline BRCA1/2 mutations (ABRAZO). *J Clin Oncol* 2017; 35 (Suppl 1): abstr. 107.
51. Mehta MP, Wang D, Wang F et al. Veliparib in combination with whole brain radiation therapy in patients with brain metastases: results of a phase 1 study. *J Neurooncol* 2015; 122(2): 409–417. doi: 10.1007/s11060-015-1733-1.
52. Barber LJ, Sandhu S, Chen L et al. Secondary mutations in BRCA2 associated with clinical resistance to a PARP inhibitor. *J Pathol* 2013; 229(3): 422–429. doi: 10.1002/path.4140.
53. Montoni A, Robu M, Pouliot E et al. Resistance to PARP-inhibitors in cancer therapy. *Front Pharmacol* 2013; 4: 18. doi: 10.3389/fphar.2013.00018.
54. Narod SA, Metcalfe K, Lynch HT et al. Should all BRCA1 mutation carriers with stage I breast cancer receive chemotherapy? *Breast Cancer Res Treat* 2013; 138(1): 273–279. doi: 10.1007/s10549-013-2429-x.

Zhodnocení účinnosti neoadjuvantní chemoterapie s platinovým derivátem u pacientek se zárodečnou mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2* – retrospektivní analýza souboru pacientek s karcinomem prsu léčených v MOÚ Brno

Effectiveness of Neoadjuvant Therapy with Platinum-Based Agents for Patients with *BRCA1* and *BRCA2* Germline Mutations – A Retrospective Analysis of Breast Cancer Patients Treated at MMCI Brno

Holánek M.¹, Bílek O.¹, Nenutil R.^{2,3}, Kazda T.⁴, Selingerová I.³, Zvaríková M.¹, Palácová M.¹, Krásenská M.¹, Vyzula R.^{1,3}, Petráková K.^{1,3}

¹ Klinika komplexní onkologické péče, LF MU a Masarykův onkologický ústav, Brno

² Oddělení klinické patologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

³ RECAMO, Masarykův onkologický ústav, Brno

⁴ Klinika radiační onkologie, LF MU a Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn

Východiska: Mutace v genech *BRCA1* a *BRCA2* je spojená s vysokým rizikem vzniku karcinomu prsu. U onemocnění vznikajících na podkladě této mutace se předpokládá větší efektivita platinových derivátů. Jejich role a účinnost ve smyslu zvýšení pravděpodobnosti patologické kompletní remise (pathological complete remission – pCR) v rámci systémové neoadjuvantní chemoterapie karcinomu prsu u pacientek s *BRCA1* a *BRCA2* mutací je opakovaně diskutována, nicméně neexistují jednoznačná doporučení. **Soubor pacientů a metody:** Na souboru pacientek s *BRCA1/2* mutovaným nádorem prsu léčených v letech 2010–2017 neoadjuvantní chemoterapií retrospektivně hodnotíme přínos přidání platinového derivátu na dosažení pCR. Odpověď na neoadjuvantní chemoterapii byla hodnocena patologem z definitivního resekátu. Jako pCR byl označen stav, kdy došlo k úplnému vymizení invazivního karcinomu z prsu a event. spádových lymfatických uzlin. **Výsledky:** V celkovém souboru 76 pacientek (medián 39 let, 62 % triple negativní karcinom (triple negative breast cancer – TNBC), 70% *BRCA1* pozitivita) bylo platinovým derivátem léčeno 37 nemocných. Pacientky léčené platinovým derivátem měly signifikantně častěji pCR (57 vs. 23 %, $p = 0,005$). Pacientka s platinovým režimem má 4,4krát větší šanci na dosažení pCR než pacientka bez platinového režimu za předpokladu stejného fenotypu tumoru (TNBC nebo SR+/HER2–). **Závěr:** Neoadjuvantní chemoterapie s platinovým derivátem je u pacientek s *BRCA1/2* mutací spojena s vyšší pravděpodobností dosažení pCR, která má důležitý vztah k další prognóze pacientky. Zvažována by měla být především u pacientek s TNBC fenotypem.

Klíčová slova

karcinom prsu – geny *BRCA1* – geny *BRCA2* – neoadjuvantní terapie – cisplatin – karboplatin – patologická kompletní remise

Práce byla podpořena Ministerstvem zdravotnictví České republiky – Koncepční rozvoj výzkumné organizace (MMCI 00209805). Práce byla podpořena projektem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (NPU I – LO1413).

This work was supported by grant of the Ministry of Health of the Czech Republic – Conceptual Development of a Research Organization (MMCI 00209805). This work was supported by grant of the Ministry of Education, Youth and Sport of the Czech Republic (NPU I – LO1413).

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. Miloš Holánek

Klinika komplexní onkologické péče
Masarykův onkologický ústav

Žlutý kopec 7

656 53 Brno

e-mail: holanek@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 21. 3. 2019

Přijato/Accepted: 14. 5. 2019

doi: 10.14735/amko2019531

Summary

Background: Mutations in the *BRCA1* and *BRCA2* genes are associated with a high risk of developing breast cancer. Tumors arising from this mutation are expected to be more sensitive to platinum-based drugs. The role of platinum-based drugs in systemic neoadjuvant *BRCA1/2* breast cancer therapy, and its efficacy in increasing the probability of pathological complete remission (pCR) are discussed repeatedly; however, there are no clear recommendations. **Patients and methods:** We retrospectively evaluated the contribution of a platinum-based antineoplastic drug to the achievement of pCR in a set of patients with *BRCA1/2* mutant breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy from 2010 to 2017. The response to neoadjuvant chemotherapy was evaluated by a pathologist using definitive surgical specimens. A pCR was defined as a condition in which complete invasive breast cancer, and (eventually) positive lymph nodes, had disappeared. **Results:** Of 76 patients (median age, 39 years; 62% with triple negative breast cancer (TNBC); 70% with *BRCA1* positivity), 37 were treated with platinum-based drugs. More patients treated with platinum derivatives achieved pCR (57% vs. 23%, $p = 0.005$). Patients treated in a neoadjuvant setting with platinum-based antineoplastic drugs had a 4.4× greater chance of achieving pCR than those not treated with platinum, assuming the same tumor phenotype (TNBC or SR+/HER2-). **Conclusion:** Neoadjuvant platinum-based chemotherapy for patients with a *BRCA1/2* mutation is associated with a higher probability of achieving pCR, which is important for subsequent prognosis. This treatment should be considered particularly for patients with *BRCA1* mutation and a TNBC phenotype.

Key words

breast cancer – genes, *BRCA1* – genes, *BRCA2* – neoadjuvant therapy – cisplatin – carboplatin – pathologic complete response

Úvod

Karcinom prsu je nejčastějším zhoubným nádorovým onemocněním u žen, s neustále stoupající incidencí [1]. Jedná se o značně heterogenní skupinu onemocnění s různou odpovědí na léčbu, a tedy i různou prognózou. Celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu je 6–7 % [2]. Nosičky mutace v tumor supresorových genech *BRCA1* (Breast CAncer; chromozom 17q21, 24 exonů) a *BRCA2* (chromozom 13q12–13, 27 exonů) mají oproti zdravé populaci výrazně vyšší riziko vzniku karcinomu prsu a ovarií; mutace v těchto genech je tak spojena s hereditárním syndromem karcinomu prsu a ovarií (produkty jmenovaných genů se účastní oprav poškozené DNA a kontroly buněčného cyklu) [3,4]. Celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu u nosiček *BRCA1* mutace je 40–87 %, u nosiček mutací v *BRCA2* 18–88 % [5].

Celkové přežití (overall survival – OS) je u pacientek s karcinomem prsu a *BRCA1/2* mutací stejné jako u pacientek s karcinomem prsu bez přítomnosti mutace [6]. Nádory spojené s *BRCA1* mutací jsou často triple negativní (triple negative breast cancer – TNBC), tento typ onemocnění je charakterizován absencí exprese estrogenového a progesteronového receptoru a absencí overexprese HER2 receptoru na nádorových buňkách. Výskyt mutací v *BRCA1* genu je u pacientek s TNBC 9–21 %. Až 39 % pacientek mladších 40 let s TNBC jsou nosičky *BRCA1* nebo *BRCA2* mutace [7].

TNBC je agresivním podtypem karcinomu prsu, který je charakteristický vysokým rizikem relapsu a časným metastazováním. Prognóza pacientek s metastatickým TNBC je špatná, OS se pohybuje kolem 18 měsíců a méně [8]. Snahou je proto v rámci léčby časného karcinomu prsu použit co možná nejefektivnější léčbu.

U pacientek s *BRCA1/2* mutací se předpokládá kvůli poškození reparační dvouvláknové DNA cestou homologní rekombinace lepší efektivita platinových derivátů [9–11]. Platinové deriváty (cisplatin, karboplatin, oxaliplatin) mají podobný účinek jako alkylační cytostatika, ale DNA přímo nealkylují (nemají alkylační skupinu). Vážou se na DNA, dochází ke vzniku interkalacních vazeb, což zamezuje replikaci nukleových kyselin. Cisplatin se stává aktivní až v intracelulárním prostředí, kde je méně chloridových iontů. Následně dochází ke vzniku nukleofilního radikálu, který reaguje s purinovými bázemi nukleových kyselin. Vznikají tak vnitřetěžcové vazby či přímo zlomy [12]. Role platinového derivátu jakožto součásti neoadjuvantní chemoterapie (NACHT) je u pacientek s mutací *BRCA1/2* opakovaně diskutována, hlavně ve smyslu zvýšení pravděpodobnosti dosažení patologické kompletní remise (pathological complete remission – pCR). Ta je charakterizována jako patologem potvrzené úplné vymizení invazivního karcinomu z prsu a event. spádových lymfatických

uzlin po podání NACHT. Známe je vztah mezi pCR a prognózou onemocnění; pacientky s pCR mají lepší prognózu než pacientky s reziduálním onemocněním [13]. Zatím však nejsou k dispozici žádná jednoznačná léčebná doporučení. Ke zvážení je podání platinového derivátu jakožto součásti NACHT hlavně u pacientek s *BRCA1* mutací a TNBC fenotypem [14].

Cílem této retrospektivní analýzy je zhodnocení léčebné odpovědi na NACHT u pacientek s *BRCA1/2* mutací s důrazem na analýzu závislosti dosažení pCR na přidání platinového derivátu.

Metodika

Soubor pacientů

Do studie byly zařazeny pacientky s časným, event. lokálně pokročilým karcinomem prsu (klinické stadium II a výše), se zárodečnou mutací v genech *BRCA1/2*, které byly v letech 2010–2017 léčeny NACHT v Masarykově onkologickém ústavu v Brně. Vylučujícím kritériem bylo vzdálené metastatické onemocnění a nejednoznačný závěr histopatologického vyšetření. Hodnoceny byly pacientky TNBC a pacientky s hormonálně dependentním onemocněním (ER+ a/nebo PR+). Pacientky s HER2 pozitivním onemocněním byly z hodnocení vyloučeny.

Neoadjuvantní chemoterapie

V rámci NACHT byly pacientky léčeny standardními režimy s antracykliny

(např. doxorubicin, cyklofosfamid – AC; epirubicin, cyklofosfamid – EC; 5-fluorouracil, epirubicin, cyklofosfamid – FEC) a event. taxany (paklitaxel a docetaxel). U části pacientek bylo indikováno podání platinového derivátu (cisplatina nebo karboplatina). Zařazení platinového derivátu do NACHT nebylo standardizováno, režim s platinou byl volen dle individuálního zvážení ošetřujícího lékaře s ohledem na doporučení multidisciplinární komise pro nádory prsu.

Hodnocení léčebné odpovědi

Odpověď na NACHT byla hodnocena patologem z definitivního resekátu po provedení operačního výkonu pomocí semikvantitativní klasifikace regrese (tumor regression grade – TRG) dle Parka et al [15]. Jako pCR byl hodnocen stav, kdy po podání NACHT došlo k úplnému vymizení invazivního karcinomu z prsu a event. spádových lymfatických uzlin (dle Parka et al TRG 1 – pCR karcinomu prsu po NACHT; nebo 2 – takřka totální vymizení nádoru po NACHT, kdy perzistují pouze ojedinělé skupiny buněk *in situ*).

Statistická analýza

Deskriptivní analýza pacientek byla provedena pomocí základních popisných statistik (medián a rozsah, resp. průměr a směrodatná odchylka pro kontinuální data; počet a procenta pro data kategoriální). Nezávislost proměnných v kontingenční tabulce byla hodnocena Fisherovým exaktním testem. Multivariační analýza dosažení pCR v závislosti na typu chemoterapie (standardní chemoterapie vs. chemoterapie s platinovým derivátem) byla provedena pomocí logistické regrese. V rámci této analýzy byl spočítán poměr šancí (odds ratio – OR), kdy $OR < 1$ znamená nižší šanci dosažení pCR a $OR > 1$ vyšší šanci dosažení pCR. Za hranici statistické významnosti byla uvažována hodnota 0,05. Pro zpracování byl využit statistický software R verze 3.5.2.

Výsledky

Charakteristika pacientek a jejich léčba

Retrospektivně bylo hodnoceno celkem 76 pacientek, 53 (70 %) s *BRCA1* mutací

a 23 (30 %) s *BRCA2* mutací. Medián věku pacientek v době diagnózy byl 39 let (rozsah 23–74 let), nejčastěji se jednalo o pacientky s lokálně pokročilým onemocněním. Nejvíce zastoupeným histologickým typem onemocnění byl invazivní karcinom nespeciálního typu grade 3. Další popisné charakteristiky pacientek jsou shrnuty v tab. 1.

Signifikantně více TNBC pacientek bylo ve skupině s *BRCA1* mutací (42/53 pacientek; 79 %) ve srovnání s *BRCA2* mutací (5/23 pacientek; 22 %), $p < 0,001$.

Délka NACHT byla 3–6 měsíců, antracykliny a taxany byly podávány ve standardním dávkování dle platných doporučení. U 10 pacientek byl použit dávkově denzní režim AC. Délka podávání platinového derivátu nebyla standardizována. Platinový derivát byl podáván celkem u 37 (49 %) pacientek. Podávání platinového derivátu nebylo závislé na typu *BRCA* mutace (29/53; 55 % ve skupině *BRCA1* a 8/23; 35 % ve skupině *BRCA2*; $p = 0,138$) ani na kategorizaci pacientek dle hormonálního profilu (25/47; 53 % ve skupině TNBC a 12/29; 41 % ve skupině SR+/HER2–; $p = 0,353$).

Cisplatina byla nejčastěji podávána v monoterapii 4krát každé 3 týdny v dávce 75 mg/m². V případech karboplatiny bylo nejčastěji voleno konkomitantní podání s taxanem jednou týdně v dávce AUC 1,5–2, v tomto režimu byla karboplatina podána maximálně 12krát. Léčba pacientek probíhala ambulantně, pouze pacientky, které byly léčeny režimy s cisplatinou, byly hospitalizovány vzhledem k délce aplikace chemoterapeutického režimu. Souhrn použitých chemoterapeutických režimů je uveden v tab. 2.

Kompletní patologická odpověď byla dosažena u 30 (39,5 %) pacientek, 46 (60,5 %) pacientek pCR nedosáhlo. Signifikantně více pCR bylo ve skupině s *BRCA1* mutací (27/53 pacientek; 51 %) ve srovnání s *BRCA2* mutací (3/23 pacientek; 13 %), $p = 0,002$ a také ve skupině s TNBC tumorem (25/47 pacientek; 53 %) ve srovnání s SR+/HER2– tumorem (5/29 pacientek; 17 %), $p = 0,002$.

Vztah mezi typem NACHT a pCR

Pacientky léčené platinovým derivátem měly signifikantně častěji pCR (21/37 pacientek s platinou; 57 %) ve srovnání

Tab. 1. Základní popisné charakteristiky souboru pacientek.

Charakteristika	n = 76
věk v době diagnózy (roky)	
medián	39
rozsah	23–74
rozsah onemocnění (n; %)	
operabilní (T1,2)	15 (20 %)
lokálně pokročilý (T3,4; jakékoliv T a N+)	58 (76 %)
inflamatorní (T4d)	3 (4 %)
stav lymfatických uzlin (n; %)	
N0	22 (29 %)
N1	45 (59 %)
N2–3	9 (12 %)
hormonální status ER (n; %)	
ER+	27 (36 %)
ER–	49 (64 %)
hormonální status PR (n; %)	
PR+	24 (32 %)
PR–	52 (68 %)
TNBC (n; %)	47 (62 %)
histologický typ (n; %)	
NST	75 (99 %)
lobulární	0 (0 %)
jiný	1 (1 %)
grade (n; %)	
1	0 (0 %)
2	3 (4 %)
3	73 (96 %)
BRCA pozitivita (n; %)	
<i>BRCA1</i> +	53 (70 %)
<i>BRCA2</i> +	23 (30 %)

ER – estrogenový receptor, PR – progesteronový receptor, TNBC – triple negativní karcinom, *BRCA* – BReast Cancer tumor supresorový gen

Tab. 2. Chemoterapeutické režimy použité v neoadjuvantní léčbě. Režimy obsahující platinový derivát jsou zvýrazněny.

Chemoterapeutický režim (n; %)	n = 76
antracyklin + taxan	25 (33 %)
antracyklin + cDDP	18 (24 %)
antracyklin + PTX + CBDCA	15 (20 %)
DD AC + PTX + CBDCA	2 (3 %)
DD AC + PTX + cDDP	2 (3 %)
DD AC + cDDP	6 (8 %)
antracyklin	10 (13 %)
taxan	3 (4 %)
antracyklin + taxan + cDDP	3 (4 %)
PTX + CBDCA	1 (1 %)
CMF	1 (1 %)

cDDP – cisplatina, PTX – paklitaxel, CBDCA – karboplatina, CMF – cyklofosfamid, metotrexát, 5-fluorouracil; DD – dávkově denzní, AC – doxorubicin, cyklofosfamid

s pacientkami bez přidání platinového derivátu k NACHT (9/39 pacientek; 23 %), $p = 0,005$. Multivariační analýza pravděpodobnosti dosažení pCR ukázala jako signifikantní faktory typ NACHT (přítomnost platinového derivátu) a fenotyp tumoru (TNBC vs. SR+/HER2– tumory). Typ BRCA mutace (BRCA1 vs. BRCA2) nedosáhl v multivariační analýze statistické významnosti. Přidání platinového derivátu zvyšuje šanci na dosažení pCR. Pacientka s platinovým režimem má 4,4krát větší šanci na dosažení pCR než pacientka bez platinového režimu, za předpokladu stejného typu tumoru (TNBC nebo SR+/HER2–) (tab. 3).

Diskuze

Dle výsledků této retrospektivní studie bylo dosaženo pCR po NACHT u pacientek s BRCA1 a BRCA2 mutací celkem u 39,5 % pacientek z celkového počtu 76. Pravděpodobnost výskytu pCR se lišila dle typu mutace, fenotypu onemocnění a typu NACHT. Potvr-

Tab. 3. Multivariační analýza pravděpodobnosti dosažení patologické kompletní regrese.

typ tumoru	TNBC vs. SR+/HER2–	OR (95% CI)	p hodnota
platinový derivát	ano vs. ne	5,5 (1,8–19,9)	0,005
		4,4 (1,6–13,5)	0,006

TNBC – triple negativní karcinom, SR – steroidní receptor, OR – poměr šancí, CI – konfidenční interval

zen byl přínos platinového derivátu; pacientky léčené těmito režimy měly větší pravděpodobnost dosažení pCR než pacientky léčené režimy standardními. Největší benefit byl pozorován u TNBC pacientek.

Zhodnocení účinnosti platinového derivátu ve smyslu ovlivnění pravděpodobnosti výskytu pCR u pacientek s karcinomem prsu bylo předmětem několika klinických studií a prací. Retrospektivní analýza NACHT pacientek s BRCA1 mutací prokázala vyšší pravděpodobnost dosažení pCR při použití cisplatiny ve srovnání se standardními režimy [16]. Práce byla podkladem vzniku prospektivní studie, která konstatovala výborný efekt cisplatiny v monoterapii u pacientek s BRCA1 mutací, kdy pCR bylo dosaženo u 61 % pacientek [17]. V našem souboru pacientek s BRCA1 mutací bylo dosaženo 51 % pCR. Studie PrECOG 0105 [18] hodnotila dosažení pCR po NACHT u pacientek s TNBC a/nebo BRCA1/2 mutací. Ve skupině pacientek s BRCA1/2 mutací bylo 56 % pCR. V rámci NACHT však byly pacientky léčeny kromě kombinace karboplatiny a gemcitabinu i PARP1 inhibitorem iniparibem. Studie GeparSixto [19] prokázala pozitivní vliv karboplatiny na dosažení pCR u pacientek s TNBC a HER2+ karcinomem prsu. Pacientek s BRCA1/2 mutací bylo zařazeno celkem 50 z celkového počtu 315. Přidání karboplatiny je spojeno s vyšším zastoupením pCR, hlavně ve skupině TNBC. Pacientky s BRCA1/2 mutací častěji dosahovaly pCR s větším benefitem po přidání platinového derivátu. Po 3 letech sledování bylo zhodnoceno přežití bez známek onemocnění (disease-free survival – DFS) ve vztahu k podanému typu chemoterapie; 85,5 % pacientek

léčených karboplatinou bylo bez známek aktivity onemocnění ve srovnání s 76,1 % pacientek, které karboplatinu nedostaly. Co se týče vztahu BRCA statusu a DFS, profit z karboplatiny měly hlavně pacientky bez BRCA mutace, ve skupině pacientek s BRCA mutací nebyl výraznější efekt karboplatiny pozorován. Důvodem může být menší množství pacientek nebo obecně vysoká citlivost této skupiny pacientek k terapii. Malý počet pacientek léčených v našem souboru karboplatinou znemožňuje validní hodnocení výsledků léčby v této podskupině.

Publikovány byly i výsledky, které nepoukazují na benefit platinového derivátu. Studie GEICAM/2006-03 [20] hodnotila přínos přidání karboplatiny k docetaxelu po antracyklinovém režimu u pacientek s TNBC. Bez ohledu na režim bylo dosaženo shodného zastoupení pCR (30 %). Dosažení pCR ve vztahu k typu chemoterapie a BRCA statusu bylo hodnoceno i v rámci dalších studií [21,22].

Dosažení pCR je obecně spojeno s lepší prognózou, hlavně u pacientek s TNBC a HER2+ karcinomem. Ty pacientky, které dosáhly pCR, mají nižší riziko relapsu onemocnění a lepší OS než pacientky s reziduálním onemocněním [23–25]. Není však jednoznačně známo, jaký vliv má dosažení pCR na parametr DFS a event. OS u podskupiny pacientek s BRCA1/2 mutací. Doposud také není k dispozici studie fáze III, která by jednoznačně prokazovala benefit platinového derivátu u výše uvedených podskupin pacientek.

Zhodnocení odpovědi na NACHT je v současné době důležité i ve vztahu k optimální volbě adjuvantní léčby. Pacientky s pCR již nejsou standardně ad-

juvantní chemoterapii léčeny, naopak pacientkám s reziduálním onemocněním lze nabídnout na základě výsledků studie CREATE-X [26] adjuvantní terapii kapecitabinem.

I přes výše citované výsledky doposud není k dispozici jednoznačné doporučení, kdy terapii platinovým derivátem v rámci NACHT volit, a není ani známo, zda je léčba platinovým derivátem u pacientek s *BRCA* mutací jednoznačně spojena s lepší prognózou. Indikace tohoto typu léčby se tedy odvíjí stále spíše od zkušeností lékaře a individuálního zvažování rizikových faktorů konkrétního pacienta.

Naše práce potvrzuje výsledky výše uvedených studií; vliv platinového derivátu na dosažení pCR byl pozorován hlavně u pacientek s TNBC, kde bylo zastoupení pCR nejvyšší. Limitací této analýzy je retrospektivní hodnocení, malé množství hodnocených pacientek (především v podskupině a mutací *BRCA2*), použití chemoterapeutických režimů o různém dávkování a nejednotný postup v indikaci konkrétního typu NACHT. Tyto limitace reflektují skutečnost, že se jedná o retrospektivní data z kohorty pacientek z běžné klinické praxe.

Závěr

NACHT s platinovým derivátem je u pacientek s *BRCA1/2* mutací spojena s vyšší pravděpodobností dosažení pCR, která má vztah k další léčbě a prognóze pacientky. Zvažována by měla být především u pacientek s TNBC fenotypem.

Literatura

1. Svod.cz. Český národní webový portál epidemiologie nádorů. [online]. Dostupné z: <http://www.svod.cz>.

2. Evans D, Gareth R, Howell A. Breast cancer risk-assessment models. *Breast Cancer Res* 2007; 9(5): 213. doi: 10.1186/bcr1750.
3. Foretová L, Macháčková E, Palácová M et al. Doporučení rozšíření indikačních kritérií ke genetickému testování mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2* u hereditárního syndromu nádorů prsu a ovarií. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 1): 9–13. doi: 10.14735/amko201659.
4. Petráková K, Palácová M, Schneiderová M et al. Syndrom hereditárního karcinomu prsu a ovarií. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 1): 14–21. doi: 10.14735/amko2016514.
5. Engel C, Fischer C. Breast cancer risks and risk prediction models. *Breast Care* 2015; 10(1): 7–12. doi: 10.1159/000376600.
6. Copson ER, Maishman TC, Tapper WJ et al. Germline *BRCA* mutation and outcome in young-onset breast cancer (POSH): a prospective cohort study. *Lancet Oncol* 2018; 19(2): 169–180. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30891-4.
7. 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.
8. Gobbinì E, Ezzalfani M, Dieras V et al. Time trends of overall survival among metastatic breast cancer patients in the real-life ESME cohort. *Eur J Cancer* 2018; 96: 17–24. doi: 10.1016/j.ejca.2018.03.015.
9. Ali E, Sharma VB, Hartman AR et al. Enhanced sensitivity to cisplatin and gemcitabine in *Brca1*-deficient murine mammary epithelial cells. *BMC Pharmacol* 2011; 11(1): 7. doi: 10.1186/1471-2210-11-7.
10. Bhattacharyya A, Ear US, Koller BH et al. The breast cancer susceptibility gene *BRCA1* is required for subnuclear assembly of Rad51 and survival following treatment with the DNA cross-linking agent cisplatin. *J Biol Chem* 2000; 275(31): 23899–23903. doi: 10.1074/jbc.C000276200.
11. Kennedy RD, Quinn JE, Mullan PB et al. The role of *BRCA1* in the cellular response to chemotherapy. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96(22): 1659–1668. doi: 10.1093/jnci/djh312.
12. Adam Z, Vorlíček J, Táborská E. Protinádorová chemoterapie. In: Adam Z, Vorlíček J, Koptíková J (eds). *Obecná onkologie a podpůrná léčba*. Praha: Grada 2003: 341–342.
13. Cortazar P, Zhang L, Untch M et al. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *Lancet* 2014; 384(9938): 164–172. doi: 10.1016/S0140-6736(13)62422-8.
14. Senkus E, Kyriakides S, Ohno S et al. Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2015; 26 (Suppl 5): 8–30. doi: 10.1093/annonc/mdv298.
15. Park CK, Jung WH, Koo JS. Pathologic evaluation of breast cancer after neoadjuvant therapy. *J Pathol Transl Med* 2016; 50(3): 173–180. doi: 10.4132/jptm.2016.02.02.
16. Byrski T, Gronwald J, Huzarski T et al. Pathologic complete response rates in young women with *BRCA1*-positive breast cancers after neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 2009; 28(3): 375–379. doi: 10.1200/JCO.2008.20.7019.
17. Byrski T, Huzarski T, Dent R et al. Pathologic complete response to neoadjuvant cisplatin in *BRCA1*-positive breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2014; 147(2): 401–405. doi: 10.1007/s10549-014-3100-x.
18. Telli ML, Jensen KC, Vinayak S et al. Phase II study of gemcitabine, carboplatin, and iniparib as neoadjuvant therapy for triple-negative and *BRCA1/2* mutation-associated breast cancer with assessment of a tumor-based measure of genomic instability: PRECOG 0105. *J Clin Oncol* 2015; 33(17): 1895–1901. doi: 10.1200/JCO.2014.57.0085.
19. von Minckwitz G, Schneeweiss A, Loibl S et al. Neoadjuvant carboplatin in patients with triple-negative and *HER2*-positive early breast cancer (GeparSixto; GBG 66): a randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15(7): 747–756. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70160-3.
20. Alba E, Chacon JL, Lluch A et al. A randomized phase II trial of platinum salts in basal-like breast cancer patients in the neoadjuvant setting. Results from the GELCAM/2006-03, multicenter study. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 136(2): 487–493. doi: 10.1007/s10549-012-2100-y.
21. Arun B, Bayraktar S, Liu DD et al. Response to neoadjuvant systemic therapy for breast cancer in *BRCA* mutation carriers and noncarriers: a single-institution experience. *J Clin Oncol* 2011; 29(28): 3739–3746. doi: 10.1200/JCO.2011.35.2682.
22. Byrski T, Huzarski T, Dent R et al. Response to neoadjuvant therapy with cisplatin in *BRCA1*-positive breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 115(2): 359–363. doi: 10.1007/s10549-008-0128-9.
23. Cortazar P, Zhang L, Untch M et al. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *Lancet* 2014; 384(9938): 164–172. doi: 10.1016/S0140-6736(13)62422-8.
24. von Minckwitz G, Untch M, Blohmer JU et al. Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. *J Clin Oncol* 2012; 30(15): 1796–1804. doi: 10.1200/JCO.2011.38.8595.
25. Spring LM, Fell G, Arfe A et al. Pathological complete response after neoadjuvant chemotherapy and impact on breast cancer recurrence and mortality, stratified by breast cancer subtypes and adjuvant chemotherapy usage: Individual patient-level meta-analyses of over 27,000 patients. *Cancer Res* 2019; 79 (Suppl 4): abstr. GS2-03. doi: 10.1158/1538-7445.SABCS18-GS2-03.
26. Masuda N, Lee SJ, Ohtani S et al. Adjuvant capecitabine for breast cancer after preoperative chemotherapy. *N Engl J Med* 2017; 376(22): 2147–2159. doi: 10.1056/NEJMoa1612645.

Dědičné mutace v genu *CHEK2* jako příčina dispozice k nádorům prsu – typy mutací, jejich biologická a klinická relevance

Germline *CHEK2* Gene Mutations in Hereditary Breast Cancer Predisposition – Mutation Types and their Biological and Clinical Relevance

Kleiblová P.^{1,2}, Stolařová L.¹, Křížová K.³, Lhota F.¹, Hojný J.¹, Zemánková P.¹, Havránek O.^{4,5}, Vočka M.⁶, Černá M.¹, Lhotová K.¹, Borecká M.¹, Janatová M.¹, Soukupová J.¹, Ševčík J.¹, Zimovjanová M.⁶, Kotlas J.², Panczak A.^{2,7}, Veselá K.², Červenková J.⁸, Schneiderová M.⁹, Burócziová M.³, Burdová K.³, Stránecký V.¹⁰, Foretová L.¹¹, Macháčková E.¹¹, Tavandzis S.¹², Kmoch S.¹⁰, Macůrek L.³, Kleibl Z.¹

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

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

³ Laboratoř biologie nádorové buňky, Ústav molekulární genetiky AV ČR v.v.i., Praha

⁴ BIOCEV, 1. LF UK v Praze

⁵ I. interní klinika 1. LF UK a VFN v Praze

⁶ Onkologická klinika 1. LF UK a VFN v Praze

⁷ Radiologická klinika 1. LF UK a VFN v Praze

⁸ Radioterapeutická a onkologická klinika FN Královské Vinohrady, Praha

⁹ I. chirurgická klinika 1. LF UK a VFN v Praze

¹⁰ Laboratoř pro studium vzácných nemocí, Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN v Praze

¹¹ Oddělení nádorové epidemiologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

¹² Oddělení lékařské genetiky, Laboratoře AGEL, Praha

Souhrn

Východiska: Dědičné mutace v genu *CHEK2* kódujícím CHK2 proteinkinázu způsobují středně zvýšené riziko vzniku karcinomu prsu (breast cancer – BC) a dalších nádorových onemocnění. Vysoká populační variabilita *CHEK2* mutací a výskyt vzácných missense variant nejasného významu (variants of unknown clinical significance – VUS) komplikuje odhad rizika vzniku nádorových onemocnění u nosičů germinálních variant. **Soubor pacientů a metody:** Mutační analýzu *CHEK2*, vč. analýzy velkých přestaveb, jsme provedli u 1 526 vysoce rizikových pacientek s BC a 3 360 kontrol z ČR. Nalezené VUS jsme klasifikovali pomocí funkční analýzy v modelovém systému lidské buněčné linie RPE1-*CHEK2*-KO, ve které byly obě endogenní alely inaktivovány metodou CRISPR/Cas9. **Výsledky:** Četnost 10 různých truncačních mutací *CHEK2* byla významně vyšší u pacientek s BC (2,62 %) než u kontrol (0,11 %; $p = 4,1 \times 10^{-12}$), 23 různých missense variant jsme našli u 4,5 % pacientek a 4,0 % kontrol. Nejčastější alterací představovala p.I157T se srovnatelnou četností u pacientek a kontrol (3,08 vs. 3,10 %). Funkční analýza identifikovala u 9 VUS zásadní poruchu kinázové aktivity, zatímco u dalších 9 zachovanou kinázovou aktivitu. Zbývající VUS a p.I157T byly částečně funkční. Riziko BC zvyšovaly truncační mutace (OR 8,19; 95% CI 4,11–17,75) a nefunkční missense mutace (OR 4,06; 95% CI 1,37–13,39). Částečně funkční (vč. p.I157T) a plně funkční missense varianty riziko neovlivňovaly. Pacientky s truncačními a funkčně-defektními missense variantami *CHEK2* vyvinuly BC (převážně ER-positivní s vyšším gradingem) v průměrném věku 44,4 a 50,7 roku a signifikantně častěji vyvinuly sekundární tumory než nosičky mutací v *BRCA1/BRCA2/PALB2/p53* a nenosičky. **Závěr:** Dědičné mutace v genu *CHEK2* představují významnou komponentu dědičného BC v ČR. Riziko vzniku onemocnění u nosičů patogenních mutací *CHEK2* se zvyšuje s počtem příbuzných s BC a dalšími nádory v rodině. U asymptomatických nosičů je indikována dispenzarizace (jednou ročně ultrazvuk, mamografie nebo magnetická rezonance) od 40 let věku a chirurgická prevence v závislosti na rodinné anamnéze. Prevence vzniku dalších nádorů je ke zvážení dle výskytu nádorových onemocnění v rodině.

Klíčová slova

karcinom prsu – *CHEK2* – dědičné mutace – varianty nejasného významu – funkční analýza

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 zaslané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Petra Kleiblová, Ph.D.

Ústav biochemie a experimentální onkologie

1. LF UK

U Nemocnice 5

120 00 Praha 2

e-mail: pekcleje@lf1.cuni.cz

prof. MUDr. Zdeněk Kleibl, Ph.D.

Ústav biochemie a experimentální onkologie

1. LF UK

U Nemocnice 5

120 00 Praha 2

e-mail: zdekcleje@lf1.cuni.cz

Obdrženo/Submitted: 2. 4. 2019

Přijato/Accepted: 14. 5. 2019

doi: 10.14735/amko2019S36

Summary

Background: Hereditary mutations in the *CHEK2* gene (which encodes CHK2 kinase) contribute to a moderately increased risk of breast cancer (BC) and other cancers. Large variations in the frequency of *CHEK2* mutations and the occurrence of variants of unknown clinical significance (VUS) complicate estimation of cancer risk in carriers of germline *CHEK2* mutations. **Patients and methods:** We performed mutation analysis of 1,526 high-risk Czech BC patients and 3,360 Czech controls. Functional analysis was performed for identified VUS using a model system based on a human RPE1-*CHEK2*-KO cell line harboring biallelic inactivation of endogenous *CHEK2*. **Results:** The frequency of ten truncating *CHEK2* variants differed markedly between BC patients (2.26%) and controls (0.11%; $p = 4.1 \times 10^{-12}$). We also found 23 different missense variants in 4.5% patients and in 4.0% of controls. The most common was p.I157T, which was found in patients and controls with the same frequency. Functional analysis identified nine functionally deleterious VUS, another nine functionally neutral VUS, and four intermediate VUS (including p.I157T). We found that carriers of truncating *CHEK2* mutations had a high BC risk (OR 8.19; 95% CI 4.11–17.75), and that carriers of functionally deleterious missense variants had a moderate risk (OR 4.06; 95% CI, 1.37–13.39). Carriers of these mutations developed BC at 44.4 and 50.7 years, respectively. Functionally neutral and functionally intermediate missense variants did not increase the BC risk. BC in *CHEK2* mutation carriers was frequently ER-positive and of higher grade. Notably, carriers of *CHEK2* mutations developed second cancers more frequently than *BRCA1/BRCA2/PALB2/p53* or mutation non-carriers. **Conclusion:** Hereditary *CHEK2* mutations contribute to the development of hereditary BC. The associated cancer risk in mutation carriers increases with the number of affected individuals in a family. Annual follow-up with breast ultrasound, mammography, or magnetic resonance imaging is recommended for asymptomatic mutation carriers from the age of 40. Surgical prevention and specific follow-up of other tumors should be considered based on family cancer history.

Key words

breast cancer – *CHEK2* – hereditary mutations – variants of unknown significance – functional analysis

Východiska

Karcinom prsu (breast cancer – BC) patří mezi nejčastější onkologické diagnózy v populaci žen v ČR. Přibližně 10 % případů se vyvíjí na základě genetické příčiny způsobené přítomností patogenní mutace v některém z genů predisponujících ke vzniku dědičné formy BC. Charakteristickou okolností vzniku většiny dědičných forem BC je jejich asociace s hereditárními mutacemi v genech kódujících proteiny podílející se na opravách genomové DNA, především na reparacích dvouřetězcových zlomů DNA cestou homologní rekombinace [1].

Dědičná forma BC se se zvýšenou četností vyskytuje v rámci syndromu dědičného karcinomu prsu a ovaria způsobeného vysoce penetrantními mutacemi v hlavních predispozičních genech *BRCA1* a *BRCA2*. Vzhledem k vysoké frekvenci patogenních mutací v těchto genech a dostatečnému množství identifikovaných nosičů existují již v současné době kvalitní indikační kritéria pro genetické testování, jakož i doporučení pro klinický management osob s mutací [2,3]. Třetím klinicky nejvýznamnějším genem s vysokou penetrancí pro vznik dědičné formy karcinomu prsu je *PALB2* [4]. Mezi další vysoce penetrantní predispoziční geny podmiňující vznik dědičné formy BC patří *TP53*, *PTEN*, *CDH1* s extrémně vzácným výskytem zárodečných mutací. Řádově čtenější jsou

mutace v genech se střední penetrancí (s relativním rizikem < 4), mezi nimiž u pacientek s BC dominují alterace genů *ATM* a *CHEK2* [5]. Četnost zárodečných mutací v genu *CHEK2* je u pacientek s BC v naší populaci třetí nejvyšší ze známých nádorových predispozičních genů. Mutace v *CHEK2* jsou spojeny i se zvýšeným rizikem výskytu dalších malignit [6].

Gen *CHEK2* (checkpoint kinase 2; OMIM: 604373) je lokalizován na chromozomu 22q12.1 a kóduje serin/treoninovou proteinkinázu CHK2 tvořenou 543 aminokyselinami. CHK2 kináza je aktivována fosforylací tyrozinu 68 zprostředkovanou proteinem ATM v rámci buněčné odpovědi na přítomnost dvouřetězcových zlomů DNA [7]. Aktivační fosforylace katalyzuje homodimerizaci dvou CHK2 molekul v oblasti FHA (forkhead-associated) domény a umožňuje následnou autofosforylací kinázové domény podmiňující plnou katalytickou aktivitu CHK2. Aktivovaná CHK2 kináza fosforyluje řadu jaderných proteinů zapojených do oprav poškození DNA a do buněčné odpovědi na přítomnost těchto alterací směřujících k zástavě buněčného cyklu, indukci apoptózy a změně genové exprese [8]. Mezi substráty CHK2 patří *BRCA1* a *BRCA2* – klíčové proteiny reparace dvouřetězcových zlomů v DNA, transkripční faktor p53 – ovlivňující expresi genů regulujících průběh buněčného cyklu a apoptózy nebo

transkripční represor KAP1 (KRAB-asociovaný protein 1, alias TIF1 β , TRIM28) – protein řídící genovou expresí rozsáhlé skupiny genů vč. genů kódujících proteiny zapojené do oprav genomové DNA [9].

Asociace zárodečných mutací v genu *CHEK2* s karcinomem prsu byla identifikována začátkem milénia [10], ale většina zejména původních studií se zaměřila pouze na analýzu přítomnosti několika vybraných zakladatelských (founder) mutací. Mezi nejčastěji analyzované dědičné alterace patří západoevropská truncační mutace c.1100delC (p.T367Mfs*15) a dále missense varianta c.470T>C (p.I157T), která se ve zvýšené míře vyskytuje ve slovanské populaci. Výsledky metaanalýz těchto variant u pacientek s BC opakovaně ukázaly, že v případě c.1100delC se jedná o středně penetrantní alelu [11,12], zatímco význam varianty p.I157T u BC je na úrovni nízké rizikových alterací s OR~1,5 [13]. Další typicky slovanské rekurentní mutace vyskytující se v naší populaci zahrnují sestřihovou variantu c.444+1G>A (IVS2+1G>A; p.E149Ifs*6) a velkou intragenovou delecí postihující exony 9 a 10 (c.909-2028_1095+330del5395; p.M304Lfs*15), poprvé identifikovanou u pacientů z ČR a SR [14].

Mutační analýzy celé kódující oblasti genu *CHEK2* byly u starších prací provedeny pouze výjimečně [15–18]. Jejich vý-

sledky však naznačily, že nejčastěji studované mutace představují pouze část dědičných variant *CHEK2* u pacientek s BC. S nástupem sekvenování nové generace (next generation sequencing – NGS) do rutinní diagnostiky se mutační analýza genu *CHEK2* stala standardní součástí vyšetření. Výsledky NGS analýz na velkých souborech odhalily, že prevalence zárodečných *CHEK2* variant patří mezi nejvyšší mezi dalšími ná-

dorovými predispozičními geny (mimo *BRCA1* a *BRCA2*), zejména v evropské a židovské populaci [19–22]. V rámci NGS analýz však dochází nejen k identifikaci jednoznačně patogenních mutací, ale také variant nejasného významu (variant of unknown significance – VUS), jejichž biologický a potažmo i klinický význam musí být následně vyhodnocen testováním na modelových organizmech *in vitro* a/nebo důkladnou genetickou ana-

lyzou v rodinách nosičů VUS. Tyto přístupy dalece přesahují možnosti rutinní diagnostiky a informace o přítomnosti VUS značně komplikuje klinickou využitelnost NGS analýz [23]. Nejednotné hodnocení VUS způsobuje, že téměř třetina diagnostikovaných *CHEK2* variant je reportována diskrepantně [24].

V předkládané práci jsme se zaměřili na identifikaci spektra dědičných variant genu *CHEK2* v naší populaci, které jsme

Tab. 1. Charakteristika vyšetřovaného souboru 1 526 pacientek s BC.

Pacientky počet	Unilaterální BC n = 1 298	Bilaterální BC n = 149		BC a karcinom ovaria n = 79	Všechny BC n = 1 526
		1. BC	2. BC		
věk dg. – průměr	42,9	45,8	52,9	55,7	43,9
věk dg. – medián	40,9 (17–92)	46,0 (23–81)	53,0 (32–84)	57,2 (30–78)	42,0 (17–92)
≤ 30; n (%)	165 (12,7)	13 (8,7)	0	1 (1,3)	179 (11,7)
31–40; n (%)	488 (37,6)	41 (27,5)	24 (16,1)	10 (12,7)	539 (35,3)
41–50; n (%)	360 (27,7)	50 (33,6)	45 (30,2)	16 (20,3)	426 (27,9)
51–64; n (%)	213 (16,4)	36 (24,2)	57 (38,3)	32 (40,5)	281 (18,4)
≥ 65; n (%)	72 (5,5)	9 (6,0)	23 (15,4)	20 (25,3)	101 (6,6)
histologický typ (% známých)					
duktální	964 (80,2)	90 (70,9)	115 (82,7)	48 (76,2)	1,102 (79,2)
dcis	61 (5,1)	6 (4,7)	10 (7,2)	3 (4,8)	70 (5,0)
lobulární	81 (6,7)	14 (11)	6 (4,3)	6 (9,5)	101 (7,3)
lcis	2 (0,2)	0	3 (2,2)	1 (1,6)	3 (0,2)
medulární	58 (4,8)	12 (9,4)	5 (3,6)	2 (3,2)	72 (5,2)
mucinózní	6 (0,5)	0	0	1 (1,6)	7 (0,5)
tubulární	6 (0,5)	1 (0,8)	0	1 (1,6)	8 (0,6)
jiný	24 (2,0)	4 (3,1)	0	1 (1,6)	29 (2,1)
neznámý	96	22	10	16	134
subtyp (% známých)					
luminal A	269 (26,0)	30 (33,0)	36 (30,5)	20 (42,6)	319 (27,2)
luminal B	426 (41,1)	25 (27,5)	37 (31,4)	15 (31,9)	466 (39,7)
basal-like	272 (26,3)	30 (33,0)	35 (29,7)	11 (23,4)	313 (26,7)
HER2-pozitivní	69 (6,7)	6 (6,6)	10 (8,5)	1 (2,1)	76 (6,5)
neznámý	262	58	31	32	352
menopauza (% známých)					
premenopauzální	968 (78,7)	103 (73,0)	50 (35,2)	25 (34,7)	1 096 (76,0)
postmenopauzální	262 (21,3)	38 (27,0)	92 (64,8)	47 (65,3)	347 (24,0)
neznámý	68	8	7	7	83

BC – karcinom prsu, dg. – diagnóza, n – počet

Tab. 1 – pokračování. Charakteristika vyšetřovaného souboru 1 526 pacientek s BC.

Pacientky počet	Unilaterální BC n = 1 298	Bilaterální BC n = 149		BC a karcinom ovaria n = 79 BC	Všechny BC n = 1 526
		1. BC	2. BC		
klinické stadium (% známých)					
IA	408 (35,0)	42 (32,8)	66 (52,0)	23 (34,8)	473 (34,8)
IB	27 (2,3)	1 (0,8)	3 (2,4)	3 (4,5)	31 (2,3)
IIA	308 (26,4)	41 (32,0)	30 (23,6)	28 (42,4)	377 (27,7)
IIB	236 (20,3)	24 (18,8)	10 (7,9)	9 (13,6)	269 (19,8)
IIIA	104 (8,9)	11 (8,6)	7 (5,5)	1 (1,5)	116 (8,5)
IIIB	32 (2,7)	6 (4,7)	0	1 (1,5)	39 (2,9)
IIIC	22 (1,9)	0	5 (3,9)	1 (1,5)	23 (1,7)
IV	28 (2,4)	3 (2,3)	6 (4,7)	0	31 (2,3)
neznámé	133	21	22	13	167
grade (% známých)					
1	144 (13,5)	10 (10,1)	26 (21,8)	12 (22,6)	166 (13,6)
2	450 (42,2)	51 (51,5)	41 (34,5)	25 (47,2)	526 (43,2)
3	472 (44,3)	38 (38,4)	52 (43,7)	16 (30,2)	526 (43,2)
neznámý	232	50	30	26	308
splněná indikační kritéria					
pouze osobní	456 (35,1)	49 (32,9)	48 (60,8)	553 (36,2)	
pouze rodinná	335 (25,8)	19 (12,8)	0	354 (23,2)	
osobní i rodinná	431 (33,2)	69 (46,3)	31 (39,2)	531 (34,8)	
žádná	76 (5,9)	12 (8,1)	0	88 (5,8)	

BC – karcinom prsu, n – počet

analyzovali v souboru vzorků získaných od 1 526 vysoce rizikových pacientek s BC a 3 360 kontrol. Nalezené VUS jsme podrobili funkční analýze využívající modelový systém založený na kvantifikaci fosforylace serinu 473 v proteinu KAP1 v lidské buněčné linii RPE1 s delecí endogenního *CHEK2* genu.

Soubor pacientů a metody

Vyšetřovaný soubor pacientek tvořily vzorky od 1 526 žen s BC odeslaných ke genetickému vyšetření nádorové predispozice do Laboratoře onkogenetiky (Ústav biochemie a experimentální onkologie, 1. LF UK v Praze) v letech 1997–2017. Všechny pacientky podepsaly informovaný souhlas schválený etickou komisí 1. LF UK a VFN v Praze. Anamnestická a klinicko-patologická data

byla získána ze zdravotnické dokumentace (tab. 1). Kromě souboru pacientek bylo vyšetřeno 3 360 kontrol, z nichž 1 329 vzorků bylo získáno od osob bez nádorového onemocnění v osobní anamnéze a 2 031 vzorků tvořila skupina neselektovaných jedinců (369 vzorků anonymních dárců krve a 1 662 anonymních vzorků osob vyšetřených exomovým sekvenováním v Národním centru lékařské genomiky – bez detailnějších údajů o věku, pohlaví a zdravotním stavu). Soubor pacientů i kontrol tvořily osoby české národnosti.

Vstupním materiálem pro vyšetření byla DNA izolovaná z leukocytů periferní nesrážlivé krve. S ohledem na dobu trvání projektu byla mutační analýza genu *CHEK2* prováděna s využitím různých metodických přístupů, které však

u všech vzorků zahrnovaly mutační analýzu celé kódující sekvence genu i analýzu přítomnosti velkých přestaveb (u všech pacientů a 2 271/3 360 kontrol; u zbývajících 1 089 vzorků kontrolního souboru byla provedena pouze analýza přítomnosti dvou velkých přestaveb *CHEK2* nalezených v naší populaci). Vzorky od všech pacientek s identifikovanou germinální variantou *CHEK2* genu byly vyšetřeny pomocí panelového NGS (CZECANCA) z důvodu identifikace přítomnosti případných dalších variant v dalších nádorových predispozičních genech [25,26].

U všech pacientek byla vyšetřena přítomnost mutací v genech *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2* a *TP53*, jejichž zárodečné mutace jsou spojeny s vyšším rizikem vzniku BC než mutace v genu *CHEK2*. Z 1 526 analyzova-

Tab. 2. Výskyt dědičných variant v genu *CHEK2*. Prevalence jednotlivých identifikovaných variant ve skupině žen s unilaterálním či bilaterálním BC nebo s duplicitou (BC a karcinom ovaria) a u referenční skupiny populačně specifických kontrol. Varianty jsou rozděleny do skupin: A – trunkace (delece/inzerce, nonsense mutace); B–D missense varianty klasifikované na základě výsledků RPE1-*CHEK2*-KO buňčné esej.

Varianta; cDNA	Varianta; protein	rs number	Clin Var class	Funkční analýza %wt CHK2	Unilat. BC n = 1 298	Bilat. BC n = 149	BC a karcinom ovaria n = 79	Všechny BC n = 1 526	Kontr. n = 3 360
A – <i>CHEK2</i> trunkace (a frame-shift; b in-frame)									
c.100_101delCA ^a	p.Q34Vfs*42	–	–	n.t.	–	–	1	1	–
c.277delT ^a	p.W93Gfs*17	rs786203458	5	n.t.	3	2	–	5	–
c.283C>T	p.R95*	rs587781269	5	n.t.	–	–	–	–	1
c.366delA ^a	p.E122Dfs*8	rs1555927302	5	n.t.	1	–	–	1	–
c.444+1G>A ^a	p.E149lfs*6	rs121908698	5	n.t.	4	1	–	5	2
c.846+4_846+7delAGTA ^b	p.D265_H282del	rs764884641	3	2,3	7	–	–	7	–
c.846+1888_908+987del5601 ^a	p.P283Dfs*8	–	–	n.t.	2	–	–	2	–
c.909-2028_1095+330del5395 ^a	p.M304Lfs*16	–	5	n.t.	11	1	1	13	4
c.1100delC ^a	p.T367Mfs*15	rs555607708	5	0,0	5	–	1	6	3
c.1260-8A>G ^a	p.L421lfs*4	rs863224747	3	n.t.	1	–	–	1	1
všechny trunkace (%) p = (Fisher exact test)					33 (2,54) [†] 9,4×10 ⁻¹¹	4 (2,68) 0,003	3 (3,80) 0,004	40 (2,62) [†] 4,1×10 ⁻¹²	11 (0,33) ref.
B – missense <i>CHEK2</i> varianty nefunkční (< 25 % aktivity wt proteinu)									
c.190G>A	p.E64K	rs141568342	3–4	13,3	3	–	–	3	2
c.503C>T	p.T168I	rs730881684	3	5,8	–	–	1	1	–
c.520C>G	p.L174V	rs876659400	3	0,2	1	–	–	1	–
c.917G>C	p.G306A	rs587780192	3–4	16,5	1	–	–	1	2
c.980A>G	p.Y327C	rs587780194	3	23,0	1	–	–	1	–
c.1037G>A	p.R346H	rs730881688	3	0,0	1	–	–	1	–
c.1180G>A	p.E394K	rs587780169	3	0,0	1	–	–	1	–
c.1270T>C	p.Y424H	rs139366548	3	21,5	–	1	–	1	–
c.1274C>T	p.P425L	rs1555913537	3	11,9	1	–	–	1	–
c.1421G>A	p.R474H	rs121908706	3	0,0	–	–	–	–	2
všechny nefunkční missense varianty (%) p = (Fisher exact test)					9 (0,69) 0,009	1 (0,67) 0,26	1 (1,27) 0,15	11 (0,72) 0,006	6 (0,18) ref.
všechny mutace – trunkace + nefunkční missense varianty (%) p = (Fisher exact test)					42 (3,24) 4,4 × 10 ⁻¹²	5 (3,36) 0,002	4 (5,06) 0,001	51 (3,34) 1,0 × 10 ⁻¹³	17 (0,51) ref.

[†]vč. složeného heterozygota c.277delT and c.444+1G>A;

[#]vč. dvou homozygotů p.I157T (1× unilat. a 1× bilat. BC před 50. rokem); tři další ženy s unilat. BC byly složeni heterozygoti pro: p.D265_H282del+p.D438Y, c.5601del+p.I157T, c.1100delC+p.I157T. Referenční sekvence *CHEK2*: NM_007194.3, transkripční varianta A.

BC – karcinom prsu, kontr. – populačně specifické kontroly, wt – wild-type, n – počet

Tab. 2 – pokračování. Výskyt dědičných variant v genu *CHEK2*. Prevalence jednotlivých identifikovaných variant ve skupině žen s unilaterálním či bilaterálním BC nebo s duplicitou (BC a karcinom ovaria) a u referenční skupiny populačně specifických kontrol. Varianty jsou rozděleny do skupin: A – trunkace (delece/inzerce, nonsense mutace); B–D missense varianty klasifikované na základě výsledků RPE1-*CHEK2*-KO buněčné esaje.

Varianta; cDNA	Varianta; protein	rs number	Clin Var class	Funkční analýza %wt CHK2	Unilat. BC n = 1 298	Bilat. BC n = 149	BC a karcinom ovaria n = 79	Všechny BC n = 1 526	Kontr. n = 3 360
C – missense <i>CHEK2</i> varianty částečně funkční (25–50 % aktivity wt proteinu)									
c.470T>C	p.I157T	rs17879961	3–5	48,8	38	6	3	47	104
c.688G>T	p.A230S	rs748636216	3	34,7	–	–	–	–	1
c.715G>A	p.E239K	rs121908702	3	41,8	–	–	–	–	2
c.1067C>T	p.S356L	rs121908703	3	44,1	–	–	–	–	1
c.1217G>A	p.R406H	rs200649225	2–3	38,2	–	–	–	–	1
všechny částečně funkční missense varianty (%)					38 (2,93) [#]	6 (4,03) [#]	3 (3,80)	47 (3,08) [#]	109 (3,24)
p = (Fisher exact test)					0,64	0,63	0,74	0,79	ref.
D – missense <i>CHEK2</i> varianty plně funkční (> 50 % aktivity wt proteinu)									
c.538C>T	p.R180C	rs77130927	1–3	66,6	1	–	–	1	3
c.539G>A	p.R180H	rs137853009	3	65,6	1	–	–	1	1
c.541C>T	p.R181C	rs137853010	3	116,1	–	–	–	–	3
c.542G>A	p.R181H	rs121908701	3	89,0	1	–	–	1	–
c.1091T>C	p.I364T	rs774179198	3	52,0	1	–	–	1	–
c.1309A>G	p.K437E	rs764238637	3	90,9	1	–	–	1	–
c.1312G>T	p.D438Y	rs200050883	3	69,3	3	–	–	3	2
c.1427C>T	p.T476M	rs142763740	3–4	86,4	2	–	–	2	3
c.1525C>T	p.P509S	rs587780179	3	73,2	1	–	–	1	4
všechny plně funkční missense varianty (%)					11 (0,85)	0	0	11 (0,72)	16 (0,48)
p = (Fisher exact test)					0,14	0	0	0,3	ref.

[†] vč. složeného heterozygota c.277delT and c.444+1G>A;

[#] vč. dvou homozygotů p.I157T (1× unilat. a 1× bilat. BC před 50. rokem); tři další ženy s unilat. BC byly složení heterozygoti pro: p.D265_H282del+p.D438Y, c.5601del+p.I157T, c.1100delC+p.I157T. Referenční sekvence *CHEK2*: NM_007194.3, transkripční varianta A.

BC – karcinom prsu, kontr. – populačně specifické kontroly, wt – wild-type, n – počet

ných pacientek s BC bylo 1 209 pacientek bez mutací v těchto nádorových predispozičních genech, 317 pacientek tvořily nosičky mutací v *BRCA1/2*, *PALB2* nebo *TP53*.

Varianty identifikované u pacientů byly ověřeny na úrovni RNA, resp. cDNA. Pro *in silico* predikci významu missense variant byly využity nástroje Align GVD, MutationTaster, CADD, SIFT, PolyPhen-2, Spidex a GERP.

Funkční testy byly provedeny na lidské buněčné linii RPE1 s delecí (knock-out,

KO) endogenního *CHEK2* genu dosažené pomocí CRISPR/Cas9 systému (RPE1-*CHEK2*-KO). Jako unikátní cíl specifické CHK2 fosforylace byl identifikován serin 473 (S473) proteinu KAP1. Míra fosforylace S473 KAP1 (stanovená pomocí specifické protilátky a kvantifikovaná Scan[^]R mikroskopii) vyjadřovala enzymovou aktivitu tranzientně exprimovaných testovaných variant CHK2 v RPE1-*CHEK2*-KO buňkách [27]. Míra fosforylace S473 KAP1 byla vyjádřena jako relativní

poměr kinázové aktivity analyzované varianty k aktivitě nemutované (wild-type) formy CHK2 (100 %). Aktivita posunové mutace c.1100delC (p.T367Mfs*15) byla použita jako kontrola bez kinázové aktivity. Testované varianty byly na základě jejich kinázové aktivity klasifikovány jako nefunkční (s aktivitou < 25 % aktivity wild-type CHK2), částečně funkční (s aktivitou v rozmezí 25–50 % aktivity wild-type CHK2) a plně funkční (s aktivitou > 50 % aktivity wild-type CHK2).

Pro statistické analýzy byl soubor pacientek rozdělen do skupin v závislosti na mutačním stavu genu *CHEK2*, funkčním významu *CHEK2* variant a s ohledem na přítomnost mutací ve vysoce penetrantních národových predispozičních genech. Statistické analýzy byly provedeny s využitím Fisherova exaktního testu. Míra asociace mutací v genu *CHEK2* se sledovanými proměnnými byla vyjádřena pomocí míry rizika (odds ratio – OR). Za statisticky signifikantní byly považovány výsledky s $p < 0,05$.

Výsledky a diskuze

Četnost výskytu variant

CHEK2 u pacientek s BC a kontrol

Ve všech vzorcích jsme našli celkem 33 různých nesynonymních variant genu *CHEK2* (velké intragenové přestavby, nonsense, frame-shift, sestřihové nebo missense varianty), které se nacházely u 106/1 526 pacientek s BC (6,95 %) a u 142/3 360 kontrol (4,23 %; $p = 0,0001$; tab. 2). Významný rozdíl v četnosti výskytu jsme zaznamenali pro skupinu 10 mutací vedoucích k syntéze zkráceného CHK2 proteinu (trunkace; ověřeno na úrovni RNA). Tyto mutace jsme našli u 40/1 526 pacientek (2,62 %) a u 11/3 360 kontrol (0,33 %; $p = 4,1 \times 10^{-12}$). Pokud jsme ze souboru 1 526 pacientek vyloučili 317 nosiček mutací ve vysoce penetrantních národových predispozičních genech (*BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2* nebo *TP53*), dosáhla ve zbývajícím souboru četnost trunkačních mutací *CHEK2* 2,89 % (35/1 209 pacientek s BC).

Frekvence trunkačních mutací *CHEK2* u pacientek s BC v různých regionech světa vykazuje značnou variabilitu. Frekvence mutací *CHEK2* srovnatelná s frekvencí v našem souboru byla zaznamenána u 507 pacientek s BC bez mutací v *BRCA1/BRCA2* z Francie (2,9 %) [15] a u 1 007 židovských pacientek z USA (2,88 %) [28]. Nižší záchyt mutací *CHEK2* byl nalezen u pacientek z Německa (1,74 % v souboru 516 pacientek [17] a 1,84 % v souboru 5 589 pacientek [22]). Je třeba zdůraznit, že ani v jedné z těchto prací nebyly hodnoceny velké intragenové přestavby *CHEK2*. Frekvence mutací v *CHEK2* je výrazně nižší v populacích neevropského původu.

V souboru 7 657 čínských pacientek s BC byla zachycena frekvence nosiček mutací v *CHEK2* pouze 0,34 % [21].

Přes výrazně nižší frekvenci patogenních mutací v našem kontrolním souboru oproti souboru pacientek s BC byla zachována podobná proporce v zastoupení jednotlivých typů trunkací tvořených přibližně stejnoměrně velkými intragenovými delecemi (37 % u pacientek, 36 % u kontrol), mutacemi postihujícími vysoce konzervativní sestřihová místa (32 % u pacientek, 27 % u kontrol) a krátkými delecemi/non-sense mutacemi (32 % u pacientek; 36 % u kontrol). Velké intragenové delece zahrnovaly u pacientek rekurentní deleci 5395 bp postihující exony 9 a 10 a nově popsanou deleci 5601 bp s oblastí kódující exon 8 (tab. 2). S ohledem na jejich frekvenci musí být hodnocení velkých přestaveb *CHEK2* v naší populaci nezbytnou součástí analýzy *CHEK2* genu. Varianty způsobující aberantní sestřih mRNA zahrnovaly kromě známé mutace c.444+1G>A variantu c.1260-8A>G (způsobující inzerici sedmi nukleotidů z přilehlé intronové oblasti do mRNA s posunem čtecího rámce; p.L421fs*4) a opakující se variantu c.846+4_846+7delAGTA (způsobující na úrovni mRNA potvrzený in-frame výpadek exonu 7 kódujícího 18 aminokyselin v oblasti kinázové domény proteinu CHK2; p.D265_H282del). Identický dopad na mRNA (delece exonu 7) má i recentně popsaná rozsáhlá (~7,5 kb) rekurentní intragenová delece úseku *CHEK2* genu s exonem 7 u řeckých pacientek s BC [29]. Nejčastější krátké delece v našem souboru tvořily mutace c.1100delC a c.277delT. U jedné pacientky s unilaterálním, HER2 pozitivním BC (dg. v 41 letech) byly přítomny dvě patogenní mutace (c.277delT a c.444+1G>A) v heterozygotním stavu.

Rozdíly ve frekvenci germinálních mutací *CHEK2* v různých populacích jsou patrné rovněž z přítomnosti různých founder mutací. Výskyt nejvíce studované *CHEK2* varianty c.1100delC dominuje v Německu (s frekvencí 1,41 % všech pacientek s BC bez mutace v *BRCA1/BRCA2* a 0,37 % v populačních kontrolách) [22], Francii [15], Nizozemí, Finsku, Velké Británii [30], Rusku [31] a u pacientek evropského pů-

vodu v USA [20]. V našem souboru pacientek s BC jsme identifikovali pouze šest nosiček mutace c.1100delC (0,39 % všech pacientek), které tak představovaly pouze 15 % pacientek s trunkační mutací *CHEK2*. Přesto byl výskyt varianty c.1100delC v kontrolním souboru signifikantně a více než 4× nižší (0,09 %; $p = 0,02$). Velmi raritní je c.1100delC v jižní Evropě [32] a přítomna není v Koreji [33] nebo Číně [21], kde byla nově popsána u 30 % nosiček mutací v *CHEK2* jinde neznámá founder mutace p.Y139*. V Polsku je nejčastější mutací *CHEK2* c.444+1G>A [34], která se rekurentně vyskytuje i u nás (společně s variantou c.444+1G>T [35,36]).

Z 23 zaznamenaných missense variant byla v naší populaci nejčastější varianta c.470T>C (p.I157T), přítomná u 47/1 526 (3,08 %) pacientek (u dvou z nich byla v homozygotním stavu) a u 104/3 360 (3,10 %) kontrol. Z porovnání s ostatními studii analyzujícími varianty *CHEK2* genu je patrné, že i spektrum missense variant má výraznou populační variabilitu. Z 18 různých missense variant *CHEK2*, které jsme našli v naší studii u pacientek s BC, jich 11 bylo identifikováno mezi 56 missense variantami zachycenými při analýze 5 589 pacientek s BC z Německa [22], 6 mezi 28 missense variantami nalezenými při vyšetření 1 303 pacientek s BC z USA a Austrálie [16] a 2 mezi 9 missense variantami přítomnými u 507 pacientek s BC z Francie [15].

Výsledky *in silico* analýzy missense variant nalezených v našem souboru byly pro většinu variant diskrepantní. Jejich klinický význam a interpretace v databázi ClinVar byly rovněž nejasné (16× VUS, class 3) nebo konfliktní (u šesti variant); varianta c.1309A>G nebyla v databázi popsána (tab. 2). Z uvedených důvodů jsme přistoupili k provedení funkčních analýz.

Funkční klasifikace variant *CHEK2*

Funkční analýzy jsme provedli u všech 23 missense variant nalezených v souboru pacientek s BC a v kontrolách a pro sestřihovou variantu c.846+4_846+7delAGTA. Pro funkční analýzu jsme vyvinuli systém umožňující testování kinázové aktivity studova-

Tab. 3. Relativní riziko zárodečných *CHEK2* variant způsobujících zkrácení proteinového produktu (trunkace) a funkčně klasifikovaných missense variant (nefunkční, částečně funkční, plně funkční) v souboru všech vyšetřovaných pacientek s BC a v podskupině bez přítomnosti příčinné mutace v jiném nádorovém predispozičním genu. Riziko vzniku BC bylo vyjádřeno jako OR pro jednotlivé skupiny *CHEK2* variant proti jejich frekvencím v populačně specifických kontrolách (n = 3 360).

Skupina pacientek	Všechny BC n = 1 526		BC (bez mutací v <i>BRCA1/2</i> , <i>PALB2</i> , <i>TP53</i>) n = 1 209		
	<i>CHEK2</i> skupina variant	nosičky; n (%)	OR (95% CI); p	nosičky; n (%)	OR (95% CI); p
trunkace		40 (2,62)	8,19 (4,11–17,75); $4,1 \times 10^{-12}$	35 (2,90)	9,07 (4,49–19,87); $2,4 \times 10^{-12}$
nefunkční missense		11 (0,72)	4,06 (1,37–13,39); 0,006	9 (0,74)	4,19 (1,33–14,34); 0,006
částečně funkční missense		47 (3,08)	0,95 (0,66–1,35); 0,79	40 (3,31)	1,02 (0,69–1,49); 0,92
plně funkční missense		11 (0,72)	1,52 (0,64–3,49); 0,30	10 (0,83)	1,74 (0,70–4,10); 0,18

Pozn.: Soubor bez mutací v predispozičních genech *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *TP53* slouží k porovnání s výsledky zahraničních prací, které obvykle analyzují populace pacientek s BC bez mutací v hlavních predispozičních genech.

BC – karcinom prsu, OR – odds ratio, CI – interval spolehlivosti, n – počet

ných missense variant v modelu lidské buněčné linie RPE1 s inaktivací endogenního *CHEK2* genu (RPE1-*CHEK2*-KO). V porovnání s jinými přístupy pro funkční analýzu variant v *CHEK2* na úrovni purifikovaných proteinů *in vitro* [15,18] nebo v modelech na kvasinkách [37,38] je námi vytvořený systém vhodný pro studium kinázové aktivity testovaných *CHEK2* variant v přirozeném intracelulárním prostředí lidských buněk, s přítomností aktivátorů (ATM) a substrátů (KAP1) kinázy CHK2. Stanovení fosforylace S473 proteinu KAP1 zprostředkované tranzientně exprimovanými, analyzovanými variantami v buňkách linie RPE1-*CHEK2*-KO umožnilo kvantifikaci funkční kapacity nalezených VUS s určením relativní kinázové aktivity k aktivitě wild-type CHK2 (tab. 2). Systém do budoucna umožní analyzovat i další VUS identifikované v *CHEK2*, kterých je v databázi ClinVar doposud (březen 2019) popsáno 882 [39].

Funkční analýzou v RPE1-*CHEK2*-KO buňkách jsme prokázali úplnou ztrátu katalytické aktivity u varianty c.846+4_846+7delAGTA způsobující in-frame delecii 18 aminokyselin v kinázové doméně. Podstatnou redukci (snížení na < 25 % aktivity wild-type proteinu CHK2) až ztrátu kinázové aktivity jsme dále zaznamenali u 9/23 testovaných missense variant, které byly klasifikovány jako nefunkční. Naopak pouze mírně sníženou (> 50 % aktivity wild-

-type proteinu CHK2) až plně zachovanou funkci mělo dalších 9/23 missense variant, které byly klasifikovány jako plně funkční. Mezi pěti variantami, jejichž aktivita se pohybovala v rozmezí 25–50 % wild-type formy proteinu CHK2 a které byly klasifikovány jako částečně funkční, byla také nejčastější missense varianty p.I157T. Tento výsledek je v souladu s předchozími studiemi ukazujícími, že p.I157T si sice zachovává plnou katalytickou účinnost, ale variantní isoforma vykazuje poruchu ve vazbě substrátů [40,41]. Funkční kinázová kapacita této varianty na úrovni 48,8 % wild-type CHK2 naznačuje, že u heterozygotních nosičů by reziduální celková kapacita CHK2 kinázy exprimované z obou alel (kódujících 100% aktivní wild-type CHK2 a přibližně 50% aktivní p.I157T) měla poskytovat dostatečnou funkční rezervu, avšak u homozygotních nosičů p.I157T varianty je celková funkční kapacita CHK2 snížena na úroveň aktivity u heterozygotních nosičů trunkačních mutací, jako je c.1100delC.

Asociace *CHEK2* mutací s rizikem vzniku karcinomu prsu u žen

Riziko vzniku BC u nosiček dědičných alterací v genu *CHEK2* klasifikovaných na základě typu alterace a výsledků funkčních analýz bylo hodnoceno ve srovnání s kontrolní populací jak v souboru všech 1 526 žen s BC, tak v podskupině 1 209 žen s BC bez přítomnosti příčinné

mutace v ostatních vyšetřených nádorových predispozičních genech (*BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2* nebo *TP53*). Soubor bez mutací v těchto predispozičních genech sloužil k porovnání s výsledky zahraničních prací, které obvykle analyzují populace pacientek s BC bez mutací v hlavních predispozičních genech.

Nejvyšší riziko vzniku BC jsme zaznamenali pro varianty vedoucí ke zkrácení proteinového produktu (trunkace), a to jak při hodnocení v celém souboru 1 526 vyšetřovaných žen (OR 8,19; 95% CI 4,11–17,75; $p = 4,1 \times 10^{-12}$), tak při hodnocení v podskupině 1 209 pacientek bez mutací v ostatních vyšetřených nádorových predispozičních genech (OR 9,07; 95% CI 4,49–19,87; $p = 2,4 \times 10^{-12}$) (tab. 3). Missense varianty klasifikované pomocí funkčního vyšetření jako nefunkční byly rovněž statisticky významně spojeny se zvýšeným rizikem vzniku karcinomu prsu u žen (OR > 4), bez ohledu na přítomnost dalších mutací v ostatních predispozičních genech (tab. 3). Naproti tomu missense varianty klasifikované ve funkční analýze jako skupina variant s částečnou poruchou funkce a skupina plně funkčních variant nezvyšovaly riziko vzniku BC ve skupině všech pacientek ani v podskupině pacientek bez mutací v genech *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2* nebo *TP53* (tab. 3).

Rizika vzniku karcinomu prsu spojená s nosičstvím alterací v *CHEK2*, která jsme vyčíslili v našem souboru u všech pa-

cientek s BC a v podsouboru pacientek s BC bez mutací v hlavních predispozičních genech, jsou vyšší, než je tomu v ostatních studiích analyzujících celý gen *CHEK2* nebo vybrané founder mutace (tab. 4). Příčin tohoto rozdílu je několik.

- 1) Výskyt variant *CHEK2* genu vykazuje významné populační rozdíly. Z přehledu vyplývá, že práce, ve kterých byly k výpočtu rizik použity populační kontroly, dospěly k vyššímu odhadu OR než práce, ve kterých byly použity frekvence alterací *CHEK2* z databáze variant Exome Aggregation Consortia (ExAC) od osob z evropské populace mimo Finsko (European non-Finnish – NFE) [42]. Důvodem je pravděpodobně vysoké zastoupení vzorků od osob ze severní Evropy, kde je celosvětově nejvyšší zastoupení c.1100delC v populaci (v kohortě 33 370 vzorků ExAC-NFE je více než třetina vzorků (12 119) tvořena souborem Swedish Schizophrenia & Bipolar Studies, přičemž frekvence c.1100delC v kontrolách ve Švédsku dosahuje 0,7 % [43]).
- 2) Převážná většina i recentních analýz *CHEK2* genu nezahrnuje do vyšetření velké přestavby, které v našem souboru tvořily třetinu trunkačních variant a které jsme našli významně častěji u pacientů než u kontrol.
- 3) Odhad rizika ovlivňuje i složení (výběr) vyšetřovaných pacientů a kontrol – zatímco vyšší četnost mladých pacientek s BC, pacientek s pozitivní rodinnou anamnézou a osob bez mutací v *BRCA1/BRCA2* zvyšuje záchyt patogenních variant *CHEK2* genu ve skupině pacientů, naopak výběr starších osob bez nádorového onemocnění snižuje výskyt patogenních variant v kontrolním souboru. Vyšší četnost patogenních mutací *CHEK2* nalezená v námi vyšetřovaném souboru může být ovlivněna vyšším zastoupením pacientek z rodin s pozitivní onkologickou anamnézou. Z publikovaných prací systematicky vyplývá vyšší riziko vzniku BC pro familiární formu onemocnění než pro neselektované nebo sporadické případy (tab. 4). Naopak nižší výskyt nalezených variant *CHEK2* v kontrolním souboru může být ovlivněn vyšším podílem nená-

dorových a starších osob. Oba protichůdné faktory se pravděpodobně částečně spolupodílejí na vyšším OR zjištěném v naší práci, než je tomu v jiných studiích.

Pro přesnější určení rizika bude nezbytné provedení rozsáhlých analýz v rámci mezinárodních konsorcií zahrnujících neselektované soubory pacientek s BC a jejich porovnání se vzorky populačně-specifických kontrol. Nicméně z výsledků našich analýz a přehledu publikovaných výsledků *CHEK2* analýz u pacientek s BC je nepochybné, že nosičství patogenních trunkačních mutací genu *CHEK2* je obecně spojeno s nejméně trojnásobným zvýšením rizika vzniku karcinomu prsu. Je pravděpodobné, že vyšší riziko vzniku BC bude spojeno s nosičstvím mutací *CHEK2* u pacientek s pozitivní rodinnou anamnézou BC [44] (ale pravděpodobně i dalších nádorových onemocnění), naopak nižší riziko může představovat nosičství mutací *CHEK2* u osob bez nádorových onemocnění u příbuzných. Celoživotní riziko vzniku BC u nosiček bez pozitivní rodinné anamnézy se pohybuje kolem 20 %, zatímco u nosiček s pozitivní rodinnou anamnézou bylo vyčísleno na 40 % [45]. Odlišná míra rizika je modifikována přítomností dalších genetických faktorů, např. nízkopentrantními 313 SNP polygenně ovlivňujícími riziko vzniku BC, vyjadřujících tzv. polygenic risk score [46]. Jejich zařazení do diagnostiky může v budoucnu umožnit i lepší predikci rizika u nosičů mutací *CHEK2* [44,47].

Nedořešenou otázkou zůstává určení rizika spojeného s nosičstvím funkčně-defektních vzácných missense mutací, které v naší studii i v několika publikovaných analýzách (tab. 4) (které však definovaly „potenciálně“ patogenní missense varianty především na úrovni *in silico* predikcí) vykazovaly nižší míru rizika vzniku BC (v pásmu variant středního významu s $OR \sim 2$) než trunkační mutace (s $OR > 3$). Předpokladem dalších analýz vzácných missense variant je robustní funkční *in vitro* analýza, kterou plánujeme provést pro všechny missense varianty a in-frame delece/inzerce identifikované u pacientů a kontrol v ČR.

Asociace *CHEK2* mutací s histologickým typem BC a s dalšími nádorovými onemocněními

Hodnocení vztahu přítomnosti germinální *CHEK2* mutace (trunkací a nefunkčních missense variant) k histopatologickým charakteristikám BC bylo provedeno ve skupině 1 209 pacientek bez přítomnosti příčinné mutace v genech *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2* nebo *TP53*, ve které bylo identifikováno 44 nosiček patogenních trunkačních *CHEK2* variant nebo funkčně-defektních missense variant. U těchto nosiček jsme pozorovali vyšší četnost luminal A subtypu BC oproti pacientkám bez *CHEK2* mutace (51,4 vs. 29,4 %; $p = 6 \times 10^{-3}$). Výrazný rozdíl jsme zachytili ve výskytu triple-negativního (ER-, PR-, HER2-negativní) BC, který byl zachycen pouze u jedné nosičky *CHEK2* mutace (2,7 %) oproti 186/868 pacientkám (21,4 %) bez mutace v *CHEK2* a dalších predispozičních genech ($p = 3,0 \times 10^{-3}$). Histologický typ BC, menopauzální status ani indikační kritéria ke genetickému testování se ve vyšetřovaném souboru 1 209 pacientek bez mutací v genech *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2* nebo *TP53* nelišily mezi pacientkami s/bez *CHEK2* mutací, avšak u nosiček *CHEK2* mutací byl častěji přítomen grade 2 nádoru proti ženám bez mutace (67,5 vs. 44,4 %; $p = 5,3 \times 10^{-3}$).

Výsledky našich analýz jsou v souladu s dříve publikovanými studiemi ukazujícími, že nosičky *CHEK2* mutací vykazují silnou asociaci s ER-pozitivními BC, časnějším nástupem onemocnění a pokročilejším gradingem, nosičky p.1157T (ale ne c.1100delC) také s lobulárním BC [48]. Přestože prognóza ER-pozitivních nádorů je u neselektovaného BC lepší, nosičství mutací v *CHEK2* je spojeno s horším celkovým přežitím u pacientek s BC [49,50].

Zajímavým pozorováním v našem souboru byla významně vyšší četnost výskytu sekundárních nádorů dalších typů (jiných než BC nebo ovaria), vč. karcinomu kolorekta, ledviny, štítné žlázy nebo hematologických malignit u nosiček *CHEK2* mutací, které jsme zaznamenali v 9/44 (20,5 %) případech nosiček trunkačních a funkčně-defektních missense variant *CHEK2*, v porovnání se 17/317 (5,4 %) případy u nosiček mu-

Tab. 4. Přehled publikovaných prací, analyzujících celý gen *CHEK2* (samostatně nebo v rámci panelového sekvenování) nebo vybrané founder mutace a metaanalýzy studií analyzujících pacientky s BC s vyjádřením stanovených rizik pro vznik BC u nosičů mutací.

Citace	Rok	Pop.	P: soubor pacientů C: soubor kontrol	Analýza*	OR (95% CI); p – poznámka
Nurmi [55]	2019	FI	P: 3 156 BC/karcinom ovaria C: 2 089 populační	c.319+2T>A	5,40 (1,58–18,45); 0,007 – neselektované BC 6,04 (1,65–22,10); 0,007 – familiární BC
Girard [56]	2019	FR	P: 1 207 <i>BRCA1/2</i> -negativní BC a sestry s BC C: 1 199 populační	<i>CHEK2</i> (NGS)	3,0 (1,9–5,0); 1 × 10 ⁻⁵ – všechny varianty 5,8 (2,0–16,9); 0,001 – trunkace 2,4 (1,4–4,3); 0,002 – likely–deleterious missense
Hauke [22]	2018	DE	P: 5 589 <i>BRCA1/2</i> -negativní BC C: 2 189 nenádorové	<i>CHEK2</i> (NGS)	3,72 (1,99–6,94); < 0,0001 – trunkace
Couch [20]	2017	USA	P: 29 090 BC C: ExAC-NFE non-TCGA	<i>CHEK2</i> (NGS)	2,31 (1,88–2,85); 3,04 × 10 ⁻¹⁷ – c.1100delC 2,26 (1,89–2,72); 1,75 × 10 ⁻²⁰ – patogenní (bez p.I157T a p.S428F) 1,48 (1,31–1,67); 1,75 × 10 ⁻¹⁰ – libovolná varianta (vč. p.I157T a p.S428F) 1,35 (1,12–1,63); 0,0002 – bilaterální BC
Decker [57]	2017	UK	P: 13 087 BC C: 5 488	<i>CHEK2</i> (4 geny)	3,11 (2,15–4,69); 5,6 × 10 ⁻¹¹ – trunkace 1,36 (0,99–1,87); 0,066 – všechny raritní missense 1,51 (1,02–2,24); 0,047 – raritní missense v popsáných doménách 3,27 (1,66–5,83); 0,0014 – bilaterální BC
Slavin [58]	2017	USA	P: 2 266 <i>BRCA1/2</i> -negat. BC a ≥ 2 příbuzní s BC/karcinomem ovaria do 70 (80 % běloši) C: ExAC	<i>CHEK2</i>	1,62 (1,03–2,51); 0,04 – trunkační mutace
Schmidt [59]	2016	BCAC	44 777 BC 42 977 PMC	c.1100delC	2,26 (1,90–2,69); 2,3 × 10 ⁻²⁰ – invazivní BC 2,55 (2,10–3,10); 4,9 × 10 ⁻²¹ – ER–pozitivní BC 1,32 (0,93–1,88); 0,12 – ER–negativní BC
Southey [60]	2016	BCAC	P: 42 671 C: 42 164	c.349A>G (p.R117G) c.538C>T (p.R180C) c.715G>A (p.E239K) c.1036C>T (p.R346C) c.1312G>T (p.D438Y)	2,26 (1,29–3,95); 0,02 – pro variantu p.R117G 1,33 (1,05–1,67); 0,015 – pro variantu p.R117G 1,70 (0,73–3,93); 0,210 – pro variantu p.E239K 5,06 (1,09–23,5); 0,017 – pro variantu p.R346C 1,03 (0,62–1,71); 0,910 – pro variantu p.D438Y
Cybulski [34]	2011	PL	P: 7 494 BC (negativní founder <i>BRCA1</i> mutace) C: 4 346	c.1100delC, c.444+ 1G>A, del5395	3,6 (2,6–5,1) – všechny BC 3,3 (2,3–4,7) – BC bez pozitivní RA 5,0 (3,3–7,6) – BC + BC v 1. nebo 2. linii v RA 7,3 (3,2–16,8) – BC + BC v 1. a 2. linii v RA
Desrichard [15]	2011	FR	P: 507 <i>BRCA1/2</i> -negativních BC C: 513 nenádorové	<i>CHEK2</i>	4,15 (1,38–12,50); 0,0065 – všechny <i>CHEK2</i> varianty 5,18 (1,49–18,00); 0,0042 – patogenní <i>CHEK2</i> mutace
Le Calvez-Kelm [16]	2011	US, AU	P: 1 303 BC ≤ 45 let (64,7 % bělošky) C: 1 109 nenádorové ženy (86,2 % bělošky)	<i>CHEK2</i>	6,18 (1,76–21,8) – trunkace 2,20 (1,20–4,01) – raritní missense
Liu [61]	2011	CN	P: 909 neselektovaných BC C: 1 229 zdravé	c.1111C>T (p.H371Y)	2,43 (1,07–5,52); 0,034 – neselektovaný BC 5,99 (1,98–18,89) – familiární BC
Weischer [62]	2008	DK	P: 1 101 s BC C: 4 665	c.1100delC	3,2 (1,0–9,9) – BC (prospektivní studie) 2,6 (1,3–5,4) – BC (case control studie)

**CHEK2* – celý gen (bez velkých přestaveb); vybrané hodnocené varianty vypsány

pop. – populace, OR – odds ratio, CI – interval spolehlivosti, FI – Finsko, FR – Francie, DE – Německo, USA – Spojené státy americké, UK – Spojené království Velké Británie a Severního Irska, PL – Polsko, AU – Austrálie, CN – Čína, DK – Dánsko

Tab. 4 – pokračování. Přehled publikovaných prací, analyzujících celý gen *CHEK2* (samostatně nebo v rámci panelového sekvencování) nebo vybrané founder mutace a metaanalýzy studií analyzujících pacientky s BC s vyjádřením stanovených rizik pro vznik BC u nosičů mutací.

Citace	Rok	Pop.	P: soubor pacientů C: soubor kontrol	Analýza*	OR (95% CI); p – poznámka
Cybulski [6]	2004	PL	P: 1 017 BC C: 4 000 populační	c.1100delC; c.444+1G>A; p.I157T	2,2; p = 0,02 – pro variantu c.1100delC and c.444+1G>A 1,4; p = 0,02 – pro variantu p.I157T
Dufault [17]	2004	DE	P: 516 BRCA1/2-negativních BC C: 1 315 náhodné	CHEK2	3,44 (1,19–9,95); 0,016 – pro variantu c.1100delC 3,9 (1,3–10,9) – pro varianty c.1100delC a c.1214del4
CHEK2 konsorcium [30]	2004	UK, NL, FI, DE, AU	P: 10 860 BC C: 9 065	c.1100delC	2,34 (1,72–3,20); 1×10^{-7} 2,23 (1,60–3,11) – BC bez příbuzné s BC v 1. linii 3,12 (1,90–5,15) – BC + 1 BC v 1. linii v RA 4,17 (1,26–13,75) – BC + ≥ 2 BC v 1. linii v RA
Vahteristo [63]	2002	FI	P: 1 035 neselektovaných BC C: 1 885	c.1100delC	1,48 (0,83–2,65); 0,182 neselektovaný BC 2,27 (1,11–4,63); 0,021 BC + BC v RA 6,17 (1,87–20,32); 0,007 bilaterální BC
Liang [64]	2018	meta	P: 118 735 BC C: 195 807	c.1100delC	2,88 (2,65–3,22) – BC u žen 2,87 (1,85–4,47) – BC u mladých žen 3,21 (2,41–4,29) – familiární BC 3,13 (1,94–5,07) – BC u mužů
Han [65]	2013	meta	P: 15 985 BC C: 18 609	p.I157T	1,58 (1,42–1,75); < 0,0001
Liu [13]	2012	meta	P: 19 621 BC C: 27 001	p.I157T	1,48 (1,31–1,68); < 0,0001 – neselektovaný BC 1,48 (1,16–1,89); < 0,0001 – familiární BC 1,47 (1,29–1,66); < 0,0001 – BC u mladých pac. 4,17 (2,89–6,03); < 0,0001 – lobulární BC
Yang [12]	2012	meta	P: 29 154 BC C: 37 064	c.1100delC	2,33 (1,79–3,05) – neselektovaný BC 3,72 (2,61–5,31) – familiární BC 2,78 (2,28–3,39) – mladé pacientky
Zhang [66]	2011	meta	P: 9 970/ C: 7 526 P: 13 331/ C: 10 817 P: 10 543/ C: 10 817 P: 4 1791/ C: 50 910	c.444+1G>A p.I157T del5395 c.1100delC	3,07 (2,03–4,63); $9,82 \times 10^{-8}$ – pro variantu c.444+1G>A 1,52 (1,31–1,77); $4,76 \times 10^{-8}$ – pro variantu p.I157T 2,53 (1,61–3,97); $6,33 \times 10^{-5}$ – pro variantu del5395 3,10 (2,59–3,71); < 10^{-20} – pro variantu c.1100delC
Weischer [11]	2008	meta	P: 26 488 C: 27 402	c.1100delC	2,7 (2,1–3,4) – neselektovaný BC 2,6 (1,3–5,5) – BC u mladých žen 4,8 (3,3–7,2) – familiární BC

**CHEK2* – celý gen (bez velkých přestaveb); vybrané hodnocené varianty vypsány

pop. – populace, OR – odds ratio, CI – interval spolehlivosti, meta – metaanalýza, PL – Polsko, DE – Německo, UK – Spojené království Velké Británie a Severního Irsku, NL – Nizozemí, FI – Finsko, AU – Austrálie

tací v ostatních predispozičních genech ($p = 0,002$), 2/38 (5,3 %) případů u nosiček p.I157T a 80/1127 (7,1 %) případů u pacientek s BC bez mutací v *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *TP53* nebo *CHEK2* ($p = 0,004$). Zvýšená četnost výskytu nádorových onemocnění v dalších lokalitách dokumentuje podíl mutací v *CHEK2* genu na vzniku dědičné predispozice i k jiným typům nádorových onemocnění. Od první práce Cy-

bulského et al [6], ve které byly trunkační varianty (c.1100delC a c.444+1G>A) asociovány se zvýšeným rizikem vzniku karcinomu štítné žlázy (OR 4,9; $p = 0,0006$), prsu (OR 2,2; $p = 0,02$) a prostaty (OR 2,2; $p = 0,04$) a varianta p.I157T se zvýšeným rizikem BC (OR 1,4; $p = 0,02$), kolorekta (OR 2,0; $p = 0,001$), ledviny (OR 2,1; $p = 0,006$), prostaty (OR 1,7; $p = 0,002$) a štítné žlázy (OR 1,9; $p = 0,04$) v polské populaci, byla publikována řada prací

a metaanalýz ukazujících na zvýšený výskyt těchto onemocnění u nosičů alterací genu *CHEK2*.

Přesnější odhady relativních rizik pro vznik dalších malignit u nosičů mutací *CHEK2* zatím chybějí, zejména z důvodu nedostatečného množství vyšetřených pacientů. Nicméně i další práce (tab. 5) poukazují na asociaci mutací *CHEK2* s jinými tumory, jako jsou karcinom ledviny, prostaty, štítné žlázy a kolorekta,

Tab. 5. Asociace dědičných alterací v *CHEK2* genu s dalšími nádorovými onemocněními.

Citace	Rok	Pop.	P: soubor pacientů C: soubor kontrol	Analýza*	OR (95% CI); p – poznámka
AlDubayan [67]	2019	USA/ HR	P: 205/448/231 TGCT C: ExAC/populační	<i>CHEK2</i>	3,87 (1,65–8,86); p = 0,006 – trunkace (USA pac.) 1,4; p = 0,03 – trunkace (HR pac.) 6,30 (2,34–17,31); 0,01 – trunkace (USA TGCT pac. ≥ 2 příbuznými s TGCT)
Obazee [68]	2019	PAN- DoRA kon- sor- cium	P: 2 976 ca pankreatu C: 5 855 populační	p.I157T	1,74 (1,15–2,63); 8,57 × 10 ⁻³
Zlowocka- Perlowska [51]	2019	PL	P: 835 invazivní ca ledviny C: 8 304 bez nádoru	c.1100del- C/c.444+1A>G/ 5395del c.I157T	2,0 (1,6–2,6); < 0,001 2,5 (1,5–4,1); 0,0003
Hallamies [69]	2017	FI	P: 68 ca prsu u muže C: 1 885 z ref [55]	c.1100delC	4,47 (1,51–13,18); 0,019
Carlo [70]	2018	USA	P: 254 ca ledviny (stadium III–IV) C: ExAC	<i>CHEK2</i>	3,0 (1,3–5,8); 0,03
Pritchard [71]	2016	USA, UK	P: 692 metastat. ca prostaty C: ExAC	<i>CHEK2</i>	3,1 (1,5–5,6); 0,002
Havránek [36]	2015	CZ	P: 360 NHL C: 445 nenádorové	<i>CHEK2</i>	2,86 (1,42–5,79); 0,003 – všechny varianty
Siolek [72]	2015	PL	P: 468 ca štítné žlázy C: 468 párových kontrol	c.1100delC/c.444+ 1A>G/5395del c.I157T	5,7; p = 0,006 – trunkace 2,8; p = 0,0001
Wang [73]	2015	meta	P: 6 409 ca prostaty C: 11 634	c.1100delC c.444+1G>A p.I157T	3,29 (1,85–5,85); < 0,001 1,59 (0,93–2,71); 0,09 1,80 (1,51–2,14); < 0,001
Hale [74]	2014	meta	P: 5 124 ca prostaty (1 084 familiárních) C: 9 258	c.1100delC	1,98 (1,23–3,18) – neselektovaný ca prostaty 3,39 (1,78–6,47) – familiární ca prostaty
Ma [75]	2014	meta	P: 3 874 ca kolorekta C: 11 630	c.1100delC	1,88 (1,29–2,73); 0,001
			P: 6 042 ca kolorekta C: 17 051	p.I157T	1,56 (1,32–1,84); 1,22 × 10 ⁻⁷
Han [65]	2013	meta	P: 3 166 ca kolorekta C: 9 844	p.I157T	1,67 (1,24–2,26); 0,0008
Liu [76]	2012	meta	P: 4 029 ca kolorekta C: 13 844	p.I157T	1,61 (1,40–1,87); < 0,001 – neselektovaný ca 1,48 (1,23–1,77); < 0,001 – sporadický ca 1,97 (1,41–2,74); < 0,001 – familiární ca
Weischer [77]	2012	DK, GE	P: 2 619 melanom C: 17 481	c.1100delC	1,81 (1,07–3,05)
Xiang [78]	2011	meta	P: 4 194 ca kolorekta C: 10 010	c.1100delC	2,11 (1,41–3,16); 0,0003 – všichni pac. 2,80 (1,74–4,51); < 0,0001 – familiární pac. 1,45 (0,49–4,30); 0,5 – sporadický ca

pop. – populace, OR – odds ratio, CI – interval spolehlivosti, USA – Spojené státy americké, HR – Chorvatsko, TGCT – testikulární germinální tumor, ca – karcinom, NHL – non-Hodgkinův lymfom, meta – metaanalýza, CZ – Česká republika, DK – Dánsko, FI – Finsko, PL – Polsko, UK – Spojené království Velké Británie a Severního Irsku

non-hodgkinské lymfomy, maligní melanom nebo karcinom prsu u mužů.

Integrace těchto poznatků do klinických doporučení je předmětem diskuzí [51] a pro preventivní sledování nosičů *CHEK2* mutací zatím není plošně možná a ošetřující lékaři jsou odkázáni na indikaci sledování dalších nádorů na základě výskytu onkologických onemocnění v rodině nosičů mutací či na využití dostupných screeningových vyšetření.

Současný stav klinických doporučení

Současný stav klinických doporučení pro nosiče patogenních mutací v genu *CHEK2* vychází z aktuálních mezinárodních doporučení a zahrnuje zejména přístupy umožňující časnou detekci malignit (pravidelné samovyšetření prsů, mamografie a ultrasonografie nebo magnetická rezonance jednou ročně od věku 40 let, příp. od věku 10 let, před nástupem onemocnění v rodině) [52,53].

Pro nosičky patogenních a pravděpodobně patogenních variant (class 4 a 5) v heterozygotním stavu způsobujících zkrácení proteinu CHK2 (vč. nově charakterizovaných sestřihových mutací c.846+4_846+7delAGTA a c.1260-8A>G) s absencí části či celé kinázové domény je doporučeno zařazení do preventivních gynekologických a onkologických programů zohledňujících rizika nádorů asociovaných s mutacemi v genu *CHEK2*. Prevence v tomto případě odpovídá schématu pro nejčastěji diskutovanou variantu *CHEK2* c.1100delC.

U nosiček homozygotních mutací [54] nebo složených heterozygotů (dvě prokazatelně patogenní trunkace v genu *CHEK2*, každá v heterozygotním stavu) je možné nabídnout také preventivní chirurgické zákroky snižující riziko vzniku karcinomu prsu (bilaterální mastektomie, podle závažnosti rodinné anamnézy případně i profylaktická salpingo-ooforektomie). Preventivní chirurgické výkony je vhodné zvážit i u heterozygotních nosiček trunkačních variant, s ohledem na rodinnou anamnézu a segregaci varianty *CHEK2* v rodině.

Nosičky missense variant vedoucích ke ztrátě funkce proteinu CHK2 dle do-

stupných funkčních vyšetření by měly mít stejné preventivní sledovací schéma jako v případě variant trunkačních. Pro indikaci k preventivním chirurgickým výkonům není zatím dostatek informací. Je vhodné provádět v rodinách segregací analýzy, je možné prediktivně (ale s omezeným výstupem) testovat zdravé příbuzné. Nosiče zařadit do adekvátních preventivních programů, ovšem v případě negativně testovaných osob zatím i nadále ponechat riziko vzniku nádorových onemocnění plynoucích z rodinné anamnézy.

Interpretace nálezu missense variant v genu *CHEK2* je obtížnější. Rekurentní missense varianta p.I157T je ve veřejných databázích klasifikována rozporuplně ve spektru class 3–5. V naší populaci však alelická frekvence této varianty převyšuje 1 %, což ze své podstaty vylučuje možnost, že by se mohlo jednat o vsoce nebo i středně penetrantní nádorovou predispoziční variantu. Přestože se dle funkčních analýz jedná o variantu s částečně omezenou funkcí proteinu CHK2, nebylo pozorováno klinicky významné zvýšení rizika vzniku BC u žen spojené s jejím výskytem oproti populačně specifickým kontrolám (OR~1,5). Pokud v rámci genetického testování dojde k identifikaci nosičky p.I157T v homozygotním stavu, je vhodné ji o skutečnosti informovat, avšak klinická doporučení nejsou jednoznačná. Tato skutečnost sama o sobě není důvodem k preventivním chirurgickým výkonům, probandku je však možno zařadit do preventivních sledovacích programů. Přítomnost varianty p.I157T v rodině není indikací pro prediktivní testování zdravých příbuzných.

Ostatní raritní missense varianty klasifikované funkčně jako plně či částečně funkční a v dostupných databázích klasifikované jako VUS, je nutno podrobit dalšímu testování. Jejich klinické uplatnění je v současnosti omezené.

Varianty zařazené jako benigní nebo pravděpodobně benigní (class 1 a 2) v dostupných databázích jsou bez klinického využití a obvykle nejsou probandům v rámci genetické konzultace reportovány ani nebývají reportovány laboratoři provádějící genetické vyšetření.

Práce byla podpořena granty Agentury pro zdravotnický výzkum MZČR NR 15-28830A, 16-29959A, NV19-03-00279, projekty Univerzity PROGRES Q28/LF1, GAUK 762216, SVV2019/260367, PRIMUS/17/MED/9, UNCE/MED/016, Progres Q26, LQ1604 NPU II a projektem AVČR Qualitas. Analýza souboru neselektovaných kontrol byla umožněna díky existenci a podpoře vědecké infrastruktury Národního centra lékařské genomiky (LM2015091) a jeho projektu zaměřeného na vytvoření referenční databáze genetických variant České republiky (CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_013/0001634).

The work was supported by grants from the Czech Health Research Council of the Ministry of Health of the Czech Republic NR 15-28830A, 16-29959A, NV19-03-00279, projects of the PROGRES Q28/LF1, GAUK 762216, SVV2019 / 260367, PRIMUS/17/MED/9, UNCE/MED/016, Progress Q26, LQ1604 NPU II and project AVČR Qualitas. The analysis of a set of unselected controls was made possible by the existence and support of the scientific infrastructure of the National Center for Medical Genomics (LM2015091) and its project aimed at creating a reference database of genetic variants of the Czech Republic (CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_013/0001634).

Literatura

1. Kleibl Z, Kristensen VN. Women at high risk of breast cancer: Molecular characteristics, clinical presentation and management. *Breast* 2016; 28: 136–144. doi: 10.1016/j.breast.2016.05.006.
2. Foretová L, Macháčková E, Palácová M et al. Doporučení rozšíření indikačních kritérií ke genetickému testování mutací v genech BRCA1 a BRCA2 u hereditárního syndromu nádorů prsu a ovarií. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 1): 9–13.
3. Petráková K, Palácová M, Schneiderová M et al. Syndrom hereditárního karcinomu prsu a ovarií. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 1): 14–21. doi: 10.14735/amko2016514.
4. Janatová M, Borecká M, Soukupová J et al. PALB2 jako další kandidátní gen pro genetické testování u pacientů s hereditárním karcinomem prsu v České republice. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 1): 31–34. doi: 10.14735/amko2016531.
5. Pohlreich P, Kleibl Z, Kleiblova P et al. Klinický význam analýz genů středního rizika pro hodnocení rizika vzniku karcinomu prsu a dalších nádorů v České republice. *Klin Onkol* 2012; 25 (Suppl): 59–66. doi: 10.14735/amko20121559.
6. Cybulski C, Gorski B, Huzarski T et al. *CHEK2* is a multi-organ cancer susceptibility gene. *Am J Hum Genet* 2004; 75(6): 1131–1135. doi: 10.1086/426403.
7. Matsuoka S, Rotman G, Ogawa A et al. Ataxia telangiectasia-mutated phosphorylated Chk2 in vivo and in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(19): 10389–10394. doi: 10.1073/pnas.190030497.
8. Zannini L, Delia D, Buscemi G. *CHK2* kinase in the DNA damage response and beyond. *J Mol Cell Biol* 2014; 6(6): 442–457. doi: 10.1093/jmcb/mju045.
9. Hu C, Zhang S, Gao X et al. Roles of Kruppel-associated Box (KRAB)-associated Co-repressor KAP1 Ser-473 Phosphorylation in DNA Damage Response. *J Biol Chem* 2012; 287(23): 18937–18952. doi: 10.1074/jbc.M111.313262.
10. Meijers-Heijboer H, van den OIA, Kljin J et al. Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to *CHEK2*(*)-1100delC in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. *Nat Genet* 2002; 31(1): 55–59. doi: 10.1038/ng879.
11. Weischer M, Bojesen SE, Ellervik C et al. *CHEK2**-1100delC genotyping for clinical assessment of breast cancer risk: meta-analyses of 26,000 patient cases and

- 27,000 controls. *J Clin Oncol* 2008; 26(4): 542–548. doi: 10.1200/JCO.2007.12.5922.
12. Yang Y, Zhang F, Wang Y et al. CHEK2 1100delC variant and breast cancer risk in Caucasians: a meta-analysis based on 25 studies with 29,154 cases and 37,064 controls. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13(7): 3501–3505.
13. Liu C, Wang Y, Wang QS et al. The CHEK2 I157T variant and breast cancer susceptibility: a systematic review and meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13(14): 1355–1360.
14. Walsh T, Casadei S, Coats KH et al. Spectrum of mutations in BRCA1, BRCA2, CHEK2, and TP53 in families at high risk of breast cancer. *JAMA* 2006; 295(12): 1379–1388. doi: 10.1001/jama.295.12.1379.
15. Desrichard A, Bidet Y, Uhrhammer N et al. CHEK2 contribution to hereditary breast cancer in non-BRCA families. *Breast Cancer Res* 2011; 13(6): R119. doi: 10.1186/bcr3062.
16. Le Calvez-Kelm F, Lesueur F, Damiola F et al. Rare, evolutionarily unlikely missense substitutions in CHEK2 contribute to breast cancer susceptibility: results from a breast cancer family registry case-control mutation-screening study. *Breast Cancer Res* 2011; 13(1): R6. doi: 10.1186/bcr2810.
17. Dufault MR, Betz B, Wappenschmidt B et al. Limited relevance of the CHEK2 gene in hereditary breast cancer. *Int J Cancer* 2004; 110: 320–325. doi: 10.1002/ijc.20073.
18. Bell DW, Kim SH, Godwin AK et al. Genetic and functional analysis of CHEK2 (CHK2) variants in multiethnic cohorts. *Int J Cancer* 2007; 121(12): 2661–2667. doi: 10.1002/ijc.23026.
19. Leedom TP, LaDuca H, McFarland R et al. Breast cancer risk is similar for CHEK2 founder and non-founder mutation carriers. *Cancer Genet* 2016; 209(9): 403–407. doi: 10.1016/j.cancergen.2016.08.005.
20. Couch FJ, Shimelis H, Hu C et al. Associations between cancer predisposition testing panel genes and breast cancer. *JAMA Oncol* 2017; 3(9): 1190–1196. doi: 10.1001/jamaoncol.2017.0424.
21. Fan Z, Ouyang T, Li J et al. Identification and analysis of CHEK2 germline mutations in Chinese BRCA1/2-negative breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2018; 169(1): 59–67. doi: 10.1007/s10549-018-4673-6.
22. Hauke J, Horvath J, Gross E et al. Gene panel testing of 5589 BRCA1/2-negative index patients with breast cancer in a routine diagnostic setting: results of the German Consortium for Hereditary Breast and Ovarian Cancer. *Cancer Med* 2018; 7(4): 1349–1358. doi: 10.1002/cam4.1376.
23. Young EL, Feng BJ, Stark AW et al. Multigene testing of moderate-risk genes: be mindful of the missense. *J Med Genet* 2016; 53(6): 366–376. doi: 10.1136/jmedgenet-2015-103398.
24. Espenschied C, Kleiblova P, Richardson M et al. Classifying variants in the CHEK2 gene: the importance of collaboration. *Eur J Cancer* 2017; 72 (Suppl 1): S25. doi: 10.1016/S0959-8049(17)30161-2.
25. Soukupova J, Zemankova P, Lhotova K et al. Validation of CZECA (CZEch CAncer paNel for Clinical Application) for targeted NGS-based analysis of hereditary cancer syndromes. *PLoS One* 2018; 13(4): e0195761. doi: 10.1371/journal.pone.0195761.
26. Soukupová J, Zemanková P, Kleiblová P et al. CZECA: CZEch CAncer paNel for Clinical Application – návrh a příprava cíleného sekvenačního panelu pro identifikaci nádorové predispozice u rizikových osob v České republice. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 1): 46–54. doi: 10.14735/amko2016546.
27. Kleiblova P, Stolarova L, Krizova K et al. Identification of deleterious germline CHEK2 mutations and their association with breast and ovarian cancer. *Int J Cancer* 2019. doi: 10.1002/ijc.32385.
28. Walsh T, Mandell JB, Norquist BM et al. genetic predisposition to breast cancer due to mutations other than BRCA1 and BRCA2 founder alleles among Ashkenazi Jewish women. *JAMA Oncol* 2017; 3(12): 1647–1653. doi: 10.1001/jamaoncol.2017.1996.
29. Apostolou P, Fostira F, Mollaki V et al. Characterization and prevalence of two novel CHEK2 large deletions in Greek breast cancer patients. *J Hum Genet* 2018; 63(8): 877–886. doi: 10.1038/s10038-018-0466-3.
30. Consortium CBC-C. CHEK2*1100delC and susceptibility to breast cancer: a collaborative analysis involving 10,860 breast cancer cases and 9,065 controls from 10 studies. *Am J Hum Genet* 2004; 74(6): 1175–1182. doi: 10.1086/421251.
31. Chekmariova EV, Sokolenko AP, Buslov KG et al. CHEK2 1100delC mutation is frequent among Russian breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2006; 100(1): 99–102. doi: 10.1007/s10549-006-9227-7.
32. 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. doi: 10.1007/s10549-004-4023-8.
33. Choi DH, Cho DY, Lee MH et al. The CHEK2 1100delC mutation is not present in Korean patients with breast cancer cases tested for BRCA1 and BRCA2 mutation. *Breast Cancer Res Treat* 2008; 112(3): 569–573. doi: 10.1007/s10549-007-9878-z.
34. Cybulski C, Wokolorczyk D, Jakubowska A et al. Risk of breast cancer in women with a CHEK2 mutation with and without a family history of breast cancer. *J Clin Oncol* 2011; 29(28): 3747–3752. doi: 10.1200/JCO.2010.34.0778.
35. Kleibl Z, Havranek O, Novotny J et al. Analysis of CHEK2 FHA domain in Czech patients with sporadic breast cancer revealed distinct rare genetic alterations. *Breast Cancer Res Treat* 2008; 112(1): 159–164. doi: 10.1007/s10549-007-9838-7.
36. Havranek O, Kleiblova P, Hojny J et al. Association of Germline CHEK2 gene variants with risk and prognosis of non-Hodgkin lymphoma. *Plos One* 2015; 10(10): e0140819. doi: 10.1371/journal.pone.0140819.
37. Roeb W, Higgins J, King MC. Response to DNA damage of CHEK2 missense mutations in familial breast cancer. *Hum Mol Genet* 2012; 21(12): 2738–2744. doi: 10.1093/hmg/dds101.
38. Delimitsou A, Fostira F, Kalfakakou D et al. Functional characterization of CHEK2 variants in a *Saccharomyces cerevisiae* system. *Hum Mutat* 2019; 40(5): 631–648. doi: 10.1002/humu.23728.
39. ClinVar. [online]. Available from: www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar?term=CHEK2.
40. Li J, Williams BL, Haire LF et al. Structural and functional versatility of the FHA domain in DNA-damage signaling by the tumor suppressor kinase Chk2. *Mol Cell* 2002; 9(5): 1045–1054.
41. Falck J, Mailand N, Syljuasen RG et al. The ATM-Chk2-Cdc25A checkpoint pathway guards against radioresistant DNA synthesis. *Nature* 2001; 410(6830): 842–847. doi: 10.1038/35071124.
42. Lek M, Karczewski J, Minikel EV et al. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature* 2016; 536(7616): 285–291. doi: 10.1038/nature19057.
43. Margolin S, Eiberg H, Lindblom A et al. CHEK2 1100delC is prevalent in Swedish early onset familial breast cancer. *BMC Cancer* 2007; 7: 163. doi: 10.1186/1471-2407-7-163.
44. Lee A, Mavaddat N, Wilcox AN et al. BOADICEA: a comprehensive breast cancer risk prediction model incorporating genetic and nongenetic risk factors. *Genet Med* 2019. doi: 10.1038/s41436-018-0406-9.
45. Peltari LM, Kiiski J, Nurminen R et al. A Finnish founder mutation in RAD51D: analysis in breast, ovarian, prostate, and colorectal cancer. *J Med Genet* 2012; 49(7): 429–432. doi: 10.1136/jmedgenet-2012-100852.
46. Mavaddat N, Michailidou K, Dennis J et al. Polygenic risk scores for prediction of breast cancer and breast cancer subtypes. *Am J Hum Genet* 2019; 104(1): 21–34. doi: 10.1016/j.ajhg.2018.11.002.
47. Muranen TA, Greco D, Blomqvist C et al. Genetic modifiers of CHEK2*1100delC-associated breast cancer risk. *Genet Med* 2017; 19(5): 599–603. doi: 10.1038/gim.2016.147.
48. Muranen TA, Blomqvist C, Dork T et al. Patient survival and tumor characteristics associated with CHEK2:p.1157T - findings from the Breast Cancer Association Consortium. *Breast Cancer Res* 2016; 18(1): 98. doi: 10.1186/s13058-016-0758-5.
49. Liu C, Chang H, Li XH et al. Network meta-analysis on the effects of DNA damage response-related gene mutations on overall survival of breast cancer based on TCGA database. *J Cell Biochem* 2017; 118(12): 4728–4734. doi: 10.1002/jcb.26140.
50. Weischer M, Nordestgaard BG, Pharoah P et al. CHEK2*1100delC heterozygosity in women with breast cancer associated with early death, breast cancer-specific death, and increased risk of a second breast cancer. *J Clin Oncol* 2012; 30(35): 4308–4316. doi: 10.1200/JCO.2012.42.7336.
51. Zlowocka-Perłowska E, Narod SA, Cybulski C. CHEK2 alleles predispose to renal cancer in Poland. *JAMA Oncol* 2019. doi: 10.1001/jamaoncol.2019.0022.
52. Huzarski T, Gorecka-Szyld B, Huzarska J et al. Screening with magnetic resonance imaging, mammography and ultrasound in women at average and intermediate risk of breast cancer. *Hered Cancer Clin Pract* 2017; 15: 4. doi: 10.1186/s13053-017-0064-y.
53. Macklin S, Gass J, Mitri G et al. The role of screening MRI in the era of next generation sequencing and moderate-risk genetic mutations. *Fam Cancer* 2018; 17(1): 167–173. doi: 10.1007/s10689-017-0007-9.
54. Huijts PE, Hollestelle A, Balliu B et al. CHEK2*1100delC homozygosity in the Netherlands—prevalence and risk of breast and lung cancer. *Eur J Hum Genet* 2014; 22(1): 46–51. doi: 10.1038/ejhg.2013.85.
55. Nurmi A, Muranen TA, Peltari LM et al. Recurrent moderate-risk mutations in Finnish breast and ovarian cancer patients. *Int J Cancer* 2019. doi: 10.1002/ijc.32309.
56. Girard E, Eon-Marchais S, Olaso R et al. Familial breast cancer and DNA repair genes: Insights into known and novel susceptibility genes from the GENESIS study, and implications for multigene panel testing. *Int J Cancer* 2019; 144(8): 1962–1974. doi: 10.1002/ijc.31921.
57. Decker B, Allen J, Luccarini C et al. Rare, protein-truncating variants in ATM, CHEK2 and PALB2, but not XRCC2, are associated with increased breast cancer risks. *J Med Genet* 2017; 54(11): 732–741. doi: 10.1136/jmedgenet-2017-104588.
58. Slavin TP, Maxwell KN, Lilyquist J et al. The contribution of pathogenic variants in breast cancer susceptibility genes to familial breast cancer risk. *NPJ Breast Cancer* 2017; 3: 22. doi: 10.1038/s41523-017-0024-8.
59. Schmidt MK, Hogervorst F, van Hien R et al. Age- and tumor subtype-specific breast cancer risk estimates for CHEK2*1100delC carriers. *J Clin Oncol* 2016; 34(23): 2750–2760. doi: 10.1200/JCO.2016.66.5844.
60. Southey MC, Goldgar DE, Winquist R et al. PALB2, CHEK2 and ATM rare variants and cancer risk: data from COGS. *J Med Genet* 2016; 53(12): 800–811. doi: 10.1136/jmedgenet-2016-103839.
61. Liu Y, Liao J, Xu Y et al. A recurrent CHEK2 p.H371Y mutation is associated with breast cancer risk in Chinese women. *Hum Mutat* 2011; 32(9): 1000–1003. doi: 10.1002/humu.21538.
62. Weischer M, Bojesen SE, Tybjaerg-Hansen A et al. Increased risk of breast cancer associated with CHEK2*1100delC. *J Clin Oncol* 2007; 25(1): 57–63. doi: 10.1200/JCO.2005.05.5160.
63. Vahteristo P, Bartkova J, Eerola H et al. A CHEK2 genetic variant contributing to a substantial fraction of familial breast cancer. *Am J Hum Genet* 2002; 71(2): 432–438. doi: 10.1086/341943.

64. Liang M, Zhang Y, Sun C et al. Association between CHEK2*1100delC and breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Mol Diagn Ther* 2018; 22(4): 397–407. doi: 10.1007/s40291-018-0344-x.
65. Han FF, Guo CL, Liu LH. The effect of CHEK2 variant I157T on cancer susceptibility: evidence from a meta-analysis. *DNA Cell Biol* 2013; 32(6): 329–335. doi: 10.1089/dna.2013.1970.
66. Zhang B, Beeghly-Fadiel A, Long J et al. Genetic variants associated with breast-cancer risk: comprehensive research synopsis, meta-analysis, and epidemiological evidence. *Lancet Oncol* 2011; 12(5): 477–488. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70076-6.
67. AlDubayan SH, Pyle LC, Gamulin M et al. association of inherited pathogenic variants in checkpoint kinase 2 (CHEK2) with susceptibility to testicular germ cell tumors. *JAMA Oncol* 2019. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.6477.
68. Obazee O, Archibugi L, Andriulli A et al. Germline BRCA2 K3326X and CHEK2 I157T mutations increase risk for sporadic pancreatic ductal adenocarcinoma. *Int J Cancer* 2019; 145(3): 686–693. doi: 10.1002/ijc.32127.
69. Hallamies S, Peltari LM, Poikonen-Saksela P et al. CHEK2 c.1100delC mutation is associated with an increased risk for male breast cancer in Finnish patient population. *BMC Cancer* 2017; 17(1): 620. doi: 10.1186/s12885-017-3631-8.
70. Carlo MI, Mukherjee S, Mandelker D et al. Prevalence of germline mutations in cancer susceptibility genes in patients with advanced renal cell carcinoma. *JAMA Oncol* 2018; 4(9): 1228–1235. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.1986.
71. Pritchard CC, Mateo J, Walsh MF et al. Inherited DNA-repair gene mutations in men with metastatic prostate cancer. *N Engl J Med* 2016; 375(5): 443–453. doi: 10.1056/NEJMoa1603144.
72. Siolek M, Cybulski C, Gasiór-Periczak D et al. CHEK2 mutations and the risk of papillary thyroid cancer. *Int J Cancer* 2015; 137(3): 548–552. doi: 10.1002/ijc.29426.
73. Wang Y, Dai B, Ye D. CHEK2 mutation and risk of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8(9): 15708–15715.
74. Hale V, Weischer M, Park JY. CHEK2 (*) 1100delC mutation and risk of prostate cancer. *prostate cancer* 2014; 2014: 294575. doi: 10.1155/2014/294575.
75. Ma X, Zhang B, Zheng W. Genetic variants associated with colorectal cancer risk: comprehensive research synopsis, meta-analysis, and epidemiological evidence. *Gut* 2014; 63(2): 326–336. doi: 10.1136/gutjnl-2012-304121.
76. Liu C, Wang QS, Wang YJ. The CHEK2 I157T variant and colorectal cancer susceptibility: a systematic review and meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13(5): 2051–2055. doi: 10.7314/apjcp.2012.13.5.2051.
77. Weischer M, Heerfordt IM, Bojesen SE et al. CHEK2*-1100delC and risk of malignant melanoma: Danish and German studies and meta-analysis. *J Invest Dermatol* 2012; 132(2): 299–303. doi: 10.1038/jid.2011.303.
78. Xiang HP, Geng XP, Ge WW et al. Meta-analysis of CHEK2 1100delC variant and colorectal cancer susceptibility. *Eur J Cancer* 2011; 47(17): 2546–2551. doi: 10.1016/j.ejca.2011.03.025.

Twenty Years of *BRCA1* and *BRCA2* Molecular Analysis at MMCI – Current Developments for the Classification of Variants

Dvacet let molekulární analýzy genů *BRCA1* a *BRCA2* v MOÚ – aktuální vývoj v klasifikaci nálezů

Machackova E.¹, Claes K. B. M.², Mikova M.¹, Hazova J.¹, Stahlova Hrabincova E.¹, Vasickova P.¹, Trbusek M.³, Navratilova M.¹, Svoboda M.¹, Foretova L.¹

¹ Department of Cancer Epidemiology and Genetics, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno

² Center for Medical Genetics, Ghent University Hospital, Ghent, Belgium

³ Department of Internal Medicine Haematology and Oncology, University Hospital Brno

Summary

Background: Deleterious mutations in the *BRCA1* and *BRCA2* genes account for a considerable proportion of dominantly inherited breast and ovarian cancer susceptibility. The laboratory interpretation has always been dependent on the information available at the time of the report conclusion. The aim of this study has been to review the results from the *BRCA* testing at Masaryk Memorial Cancer Institute (MMCI). **Patients and methods:** Patients with suspected hereditary predisposition to breast/ovarian cancer, belonging to 7,400 families, were referred by genetic counsellors for *BRCA1* and *BRCA2* mutation testing at the MMCI from 1999 to the beginning of 2018. Various methods have been used over 20 years of laboratory practice – starting with the Protein Truncation Test and Heteroduplex Analysis via the High Resolution Melting analysis and Sanger sequencing up to Next Generation Sequencing. **Results:** *BRCA1* and *BRCA2* mutation screening resulted in the identification of 1,021 families with a germline high-risk *BRCA1* mutation and 497 families carrying a high-risk *BRCA2* mutation, representing a mutation detection rate of 20.5%. A broad spectrum of unique mutations classified as pathogenic or likely pathogenic has been detected in both genes – 124 in the *BRCA1* and 123 in the *BRCA2* gene. Other sequence variants (96 unique variants in the *BRCA1* and 126 in the *BRCA2* gene) have been revised and classified as benign or likely benign. The other 82 unique variants remain classified as of uncertain significance mainly due to a lack of information for inclusion in other groups. All the results are summarised in the tables, including the reasons for their classification. **Conclusion:** The clinical classification of rare sequence variants identified in the high-risk breast cancer susceptibility genes *BRCA1* and *BRCA2* is essential for appropriate genetic counselling. Here we present an overview of *BRCA* mutation frequencies in our region and the retrospective evaluation and eventually reclassification of previously reported rare variants in light of recent findings.

Key words

breast cancer – ovarian cancer – *BRCA1* gene – *BRCA2* gene – germline mutation

This work was supported by the Czech Ministry of Health MH CZ – DRO (MMCI, 00209805) and by grants NV15-28830A, NV15-27695A.

Tato práce byla podpořena MZ ČR – DRO (MOÚ, 00209805) a granty NV15-28830A, NV15-27695A.

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

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

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.

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



RNDr. Eva Macháčková, Ph.D.

Department of Cancer Epidemiology and Genetics
Masaryk Memorial Cancer Institute
Zlutý kopec 7
656 53 Brno
e-mail: emachack@mou.cz

Submitted/Obdrženo: 27. 2. 2019

Accepted/Přijato: 18. 4. 2019

doi: 10.14735/amko2019551

Souhrn

Východiska: Patogenní mutace v genech *BRCA1* a *BRCA2* jsou majoritní příčinou dědičné dominantní predispozice ke vzniku nádoru prsu a vaječníku. Interpretace molekulárně-genetických nálezů vždy závisí na dostupných informacích v době uzavření laboratorní zprávy. Cílem této studie byla revize klasifikace všech výsledků testování *BRCA* genů v Masarykově onkologickém ústavu (MOÚ). **Soubor pacientů a metody:** Pacienti ze 7 400 rodin s podezřením na dědičnou predispozici ke vzniku nádorů prsu a/nebo vaječníků byli v MOÚ vyšetřeni v období let 1999 až první poloviny 2018. Vyšetření genů *BRCA* bylo vždy indikováno klinickým genetikem. V průběhu 20 let laboratorní praxe byly použity různé metody – počínaje vyšetřením cíleným na detekci zkrácené délky proteinu a heteroduplexní analýzu přes vysokorozlišovací analýzu křivek tání a Sangerovo sekvenování až po masivní paralelní sekvenování. **Výsledky:** Mutační analýza vedla k odhalení dědičné predispozice k nádoru prsu/ovaria u 20,5 % rodin. Vysoce riziková zárodečná mutace byla detekována u 1 021 rodin v genu *BRCA1* a u 497 rodin v genu *BRCA2*. Bylo zachyceno široké spektrum patogenních a pravděpodobně patogenních unikátních mutací v obou genech – 124 různých mutací v genu *BRCA1* a 123 různých mutací v genu *BRCA2*. Jako benigní nebo pravděpodobně benigní bylo klasifikováno 96 unikátních variant v genu *BRCA1* a 126 variant v genu *BRCA2*. Zbývajících 82 vzácných unikátních variant zůstalo klasifikováno jako „nejasného významu“, především z důvodu ojedinělého výskytu a nedostatku podkladů pro jejich zařazení do ostatních skupin. Výsledky jsou shrnuty v tabulkách dle typu mutace/varianty vč. podkladů pro jejich klasifikaci. **Závěr:** Co nejpřesnější klinická klasifikace variant identifikovaných v *BRCA* genech má dopad na genetické poradenství a následnou klinickou péči. V této studii uvádíme přehled frekvencí *BRCA* mutací detekovaných v našem regionu, retrospektivní hodnocení a případné reklasifikaci u některých dříve reportovaných variant ve světle nedávných zjištění.

Klíčová slova

nádor prsu – nádor ovaria – gen *BRCA1* – gen *BRCA2* – zárodečné mutace

Introduction

Several breast and ovarian cancer susceptibility genes have been identified to date. The most important genes in the context of genetic counselling remain the *BRCA1* and *BRCA2*. The germline *BRCA1/2* heterozygote frequency in individuals of European non-Finnish descent – *BRCA1* mutation frequency 0.21% (1 : 480) and *BRCA2* mutation frequency 0.31% (1 : 327); both combined 0.51% (1 : 195) [1] was calculated by examining publicly available data from the Exome Variant Server and the Exome Aggregation Consortium database. However, these calculations do not incorporate large genomic rearrangements or uncharacterised, but potentially pathogenic, missense mutations and, therefore, could be underestimates of true population frequencies of *BRCA1/2* heterozygotes [1]. These figures are in agreement with those obtained in an unselected population cohort of 50,726 adults who underwent exome sequencing: 0.52% (n = 267) were found to be *BRCA1/2* mutation carriers [2].

Mutations in the *BRCA1* (MIM#113705) and *BRCA2* (MIM#600185) account for an autosomal dominant transmission of susceptibility to breast and ovarian cancers. *BRCA1/2* genes have been studied very well since their discovery in 1994 and 1995. The cumulative breast cancer risk up to the age of 80 was determined at 72% for *BRCA1* and 69% for

BRCA2 mutation carriers [3]. Breast cancer incidences increased rapidly in early adulthood until the age of 30 to 40 for *BRCA1* and until the age of 40 to 50 for *BRCA2* mutation carriers, then remained relatively constant throughout the remainder of the patient's lifetime. The cumulative ovarian cancer risk up to the age of 80 was determined at 44% for *BRCA1* and 17% for *BRCA2* mutation carriers [3].

Genetic counselling has become an integral part of *BRCA1/2* testing and helps patients in making informed decisions about undergoing testing. The results are used to plan optimal women's treatment or clinical management options, which involve a combination of early cancer screening, prophylactic surgery and other risk reduction strategies.

Genetic testing may detect changes that are clearly pathogenic, clearly neutral or variants of uncertain clinical significance (VUS). Such variants present a considerable challenge to the diagnostic laboratory and the receiving clinician in terms of interpretation. Adequate classification of rare sequence changes identified in the high-risk breast cancer susceptibility genes *BRCA1* and *BRCA2* is essential for appropriate genetic counselling of individuals carrying these variants.

The aim of this study has been to review the results from the *BRCA* testing at Masaryk Memorial Cancer Insti-

tute (MMCI) during the last 20 years of diagnostic practice. This will give a necessary overview of mutation frequencies in our region and the retrospective evaluation and eventually reclassification of previously reported rare variants in light of recent findings. The reporting of novel sequence variants included a clinical interpretation based on the best data available at the time of testing. Often, as subsequent studies were done, either within the same family in our region or others reported in literature, this clinical interpretation may need to be modified or changed. When the causal status of a sequence variant is indeterminate, follow-up activities may be useful to clarify this relationship and assist risk assessment.

A system of five classes of variants based on the degree of likelihood of pathogenicity is used as recommended [4] in agreement with the ACMG (American College of Medical Genetics) [5] / ENIGMA (Evidence-based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles) criteria [6]. Each class is associated with specific recommendations for clinical management of at-risk relatives.

Materials and methods

Patients, controls, and criteria for testing

The patients were referred to the MMCI in Brno for genetic counselling by phy-

sicians from various specialisations or were sent for testing by other medical geneticists from various parts of the Czech Republic between 1999 and 2018. All the tested individuals provided a signed informed consent following appropriate genetic counselling. Genetic testing was offered to high-risk individuals meeting the recommended criteria for *BRCA* testing. In this study, “family” was defined by the practice of giving an index patient (proband) a separate family number if he/she did not already have family members registered in our laboratory. If another relative came, this person was included in the already registered family. The results of the testing from 1999–2018 include 7,400 high-risk families referred for genetic testing in the context of a presumed genetic predisposition for breast and/or ovarian cancer. The criteria for genetic testing have been revised and edited over 20 years of genetic practice and have been published elsewhere in the framework of the guidelines for the Czech Republic [7,8].

The control “cancer-free” group was composed of healthy individuals (150) above 60 years of age without the occurrence of cancer in their personal history and without the occurrence of tumours of the breast, ovaries, prostate or colon cancer in their first- or second-degree relatives. All the control individuals provided a signed informed consent with participation for the purposes of research.

Mutation screening

Genomic DNA was isolated from blood samples with a QIAamp DNA blood purification kit (Qiagen). Initially, individuals from approximately the first 1,000 families were analysed during 1999–2006 using the Protein Truncation Test and Heteroduplex Analysis followed by Sanger sequencing on the ALF express™ DNA sequencer (Pharmacia) described elsewhere [8].

High-Resolution Melting (HRM) curve analysis was used to analyse individuals from 5,900 families during 2007–2017. To cover the complete coding region and splice sites of *BRCA1* and *BRCA2*, 89 polymerase chain reaction (PCR) amplicons

(200–540 bp) were amplified. LCGreen® Plus was used as the intercalating dye for HRM analysis performed on a 96-well LightScanner™ (Idaho Technology Inc.). Later (starting in 2012), the analysis of several highly polymorphic amplicons was transferred to dHPLC (Denaturing High-Performance Liquid Chromatography; Transgenomic Wave system 4500) for better resolution of polymorphic regions. Sanger sequencing was performed on 3130 Genetic Analyser (Applied Biosystems) from 2007 with a BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems).

In addition, we evaluated the frequency of large genomic rearrangements in the *BRCA1* gene with Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) (MRC-Holland). More details about our pilot study have been reported elsewhere [9]. MLPA for the *BRCA1* gene (SALSA MLPA Probemix P002; and confirmation Probemix P087; MRC Holland) has been the standard test since 2005. Focused on *BRCA2*, after testing 1,000 high-risk individuals without the detection of any exon-spanning deletion/duplication, MLPA for the *BRCA2* gene has been removed from the standard protocol. MLPA for *BRCA2* (SALSA MLPA Probemix P045; MRC Holland) was re-introduced as a standard test in 2015. Fragment analysis was performed on a 3130 Genetic Analyser (Applied Biosystems); free MLPA analysis software, Coffalyser.net was used for data analysis (MRC-Holland) together with a visual inspection of the fragment analysis profile.

Next generation sequencing methods were introduced in our laboratory in 2014 and several hundred individuals from 500 unrelated families referred for hereditary breast and/or ovarian cancer predisposition were tested up to mid-2018. Next generation sequencing was performed on a MiSeq system (Illumina).

We started with a commercially available targeted enrichment TruSight Cancer panel (Illumina) including 94 cancer predisposition genes along with the *BRCA1/2* genes. All the procedures were performed according to the manufacturers' instructions – Trusight-rapid-capture-sample-prep protocol (Illumina).

The first experiences with the TruSight Cancer panel have been published elsewhere [10]. Two hundred families were analysed with the TruSight cancer panel.

From 2016 onwards we have used the NimbleGen SeqCap EZ Choice (Roche) to create a sequencing library with a multi-gene panel called CZEKANCA (CZEch CAncer paNel for Clinical Application) according to NimbleGen SeqCap EZ Library SR User's Guide [11]. Three hundred families were analysed with the CZEKANCA cancer panel.

A FinalistDX integrated bioinformatics computing system (Institute of Applied Biotechnologies) with a Linux operating system (Ubuntu) was used for data processing and analysis of MiSeq FASTQ files. FinalistDX software allows fast and comprehensive bioinformatics analysis from raw FASTQ files to quality control, alignment to the reference genome (bam, bai), coverage analysis, variants calling (VCF files) and recently also copy number variations (CNV) analysis with detailed reports in a variety of formats (tsv, xls, pdf). The alternative bioinformatics analysis, which was used in parallel, has been described elsewhere [11].

Nomenclature and variant classification

All sequence variants have been named and are referred to in the text according to the nomenclature used by the Human Genome Variation Society recommendation guidelines [12], using the A of the ATG-translation initiation codon as nucleotide +1 [13]. Detected sequence alterations are described at the coding DNA reference sequence (cDNA) level according to the *BRCA1* most common human transcript (NM_007294.3) with the traditional numbering of exons 1–24 without the presence of exon 4, and according to the *BRCA2* (NM_000059.3) reference sequences.

The variants were assessed in Alamut® Visual software (Interactive Biosoftware) and other public databases (BIC, LOVD, UMD, ClinVar) to determine whether they were known in other populations. All variants were evaluated regarding pathogenicity following the recommended terminology for classification [4–6]:

Tab. 1. *BRCA1* nonsense and frame-shift mutations detected in Czech patients.

cDNA level (HGVS nomenclature)	Protein level	Number of families	NFE frequency (gnom)	LOVD-IARC class [4] // our class (if different or not specified)
c.55C>T	p.Gln19*	2	–	class 5, pathogenic
c.68_69del	p.Glu23Valfs*17	24	0.0087%	class 5, pathogenic
c.143del	p.Met48Serfs*2	1	–	class 5, pathogenic
c.160C>T	p.Gln54*	1	–	class 5, pathogenic
c.303T>G	p.Tyr101*	1	–	class 5, pathogenic
c.485_486del	p.Val162Glufs*19	1	–	class 5, pathogenic
c.505C>T	p.Gln169*	2	–	class 5, pathogenic
c.622_625dup	p.Pro209Hisfs*8	1	– // novel	– // class 4: likely pathogenic; putative hypomorphic allele?
c.676del	p.Cys226Valfs*8	1	–	class 5, pathogenic
c.737del	p.Leu246*	1	–	class 5, pathogenic
c.798_799del	p.Ser267Lysfs*19	3	–	class 5, pathogenic
c.843_846del	p.Ser282Tyrfs*15	7	–	class 5, pathogenic
c.890del	p.Met297Argfs*3	1	– // novel	– // class 5, pathogenic
c.962G>A	p.Trp321*	1	0.00090%	class 5, pathogenic
c.963G>A	p.Trp321*	1	–	class 5, pathogenic
c.1016dup	p.Val340Glyfs*6	7	–	class 5, pathogenic
c.1016del	p.Lys339Argfs*2	5	–	class 5, pathogenic
c.1040del	p.Leu347Argfs*27	1	–	class 5, pathogenic
c.1068_1077del	p.Gln356Hisfs*15	1	–	class 5, pathogenic
c.1127del	p.Asn376Ilefs*18	9	–	class 5, pathogenic
c.1204del	p.Glu402Serfs*8	4	–	class 5, pathogenic
c.1273dup	p.Ser425Phefs*11	5	–	class 5, pathogenic
c.1403del	p.Lys468Argfs*7	1	–	class 5, pathogenic
c.1416del	p.Asn473Thrfs*2	2	–	class 5, pathogenic
c.1504_1508del	p.Leu502Alafs*2	1	–	class 5, pathogenic
c.1510del	p.Arg504Valfs*28	7	–	class 5, pathogenic
c.1600C>T	p.Gln534*	5	–	class 5, pathogenic
c.1687C>T	p.Gln563*	36	0.0054%	class 5, pathogenic
c.1938_1947del	p.Ser646Argfs*2	1	–	class 5, pathogenic
c.1953_1956del	p.Lys653Serfs*47	1	–	class 5, pathogenic
c.2022_2031dup	p.Ala678Cysfs*8	1	– // novel	– // class 5, pathogenic
c.2024dup	p.Thr676Asnfs*7	2	– // novel	– // class 5, pathogenic
c.2070_2071del2	p.Arg691Thrfs*2	1	–	class 5, pathogenic
c.2157dup	p.Glu720Argfs*6	2	–	class 5, pathogenic
c.2193_2196del	p.Glu732Argfs*3	1	–	class 5, pathogenic
c.2233del	p.Glu745Lysfs*8	1	– // novel	– // class 5, pathogenic

cDNA – coding DNA reference sequence, HGVS – Human Genome Variation Society, NFE – non-Finnish European, LOVD – Leiden Open Variation Database, IARC – International Agency for Research on Cancer

Tab. 1 – continuing. *BRCA1* nonsense and frame-shift mutations detected in Czech patients.

cDNA level (HGVS nomenclature)	Protein level	Number of families	NFE frequency (gnom)	LOVD-IARC class [4] // our class (if different or not specified)
c.2263G>T	p.Glu755*	9	–	class 5, pathogenic
c.2371_2372del	p.Leu791Argfs*9	1	– // novel	– // class 5, pathogenic
c.2411_2412del	p.Gln804Leufs*5	15	–	class 5, pathogenic
c.2488_2497dup	p.Leu833*	15	–	class 5, pathogenic
c.2683C>T	p.Gln895*	1	–	class 5, pathogenic
c.2762del	p.Gln921Argfs*79	10	–	class 5, pathogenic
c.3018_3021del	p.His1006Glnfs*17	1	–	class 5, pathogenic
c.3164del	p.Gly1055Alafs*4	1	–	class 5, pathogenic
c.3239T>A	p.Leu1080*	2	–	class 5, pathogenic
c.3607C>T	p.Arg1203*	1	0.0018%	class 5, pathogenic
c.3621_3626delinsAA	p.Leu1209Serfs*25	1	–	class 5, pathogenic
c.3640G>T	p.Glu1214*	2	–	class 5, pathogenic
c.3642_3643del	p.Asn1215Leufs*3	10	–	class 5, pathogenic
c.3700_3704del	p.Val1234Glnfs*8	114	–	class 5, pathogenic
c.3756_3759del	p.Ser1253Argfs*10	16	0.0027%	class 5, pathogenic
c.3770_3771del	p.Glu1257Glyfs*9	3	0.00090%	class 5, pathogenic
c.3937C>T	p.Gln1313*	1	–	class 5, pathogenic
c.4035del	p.Glu1346Lysfs*20	2	0.0087%	class 5, pathogenic
c.4052T>A	p.Leu1351*	5	–	class 5, pathogenic
c.4062_4068del	p.Asn1354Lysfs*10	1	–	class 5, pathogenic
c.4065_4068del	p.Asn1355Lysfs*10	2	0.00090%	class 5, pathogenic
c.4161_4162del	p.Gln1388GluX2	1	–	class 5, pathogenic
c.4165_4166del	p.Ser1389*	1	0.00090%	class 5, pathogenic
c.4237G>T	p.Glu1413*	1	–	class 5, pathogenic
c.4243del	p.Glu1415Lysfs*4	3	0.00090%	class 5, pathogenic
c.4299_4302del	p.Ile1433Metfs*22	1	– // novel	– // class 5, pathogenic
c.4339C>T	p.Gln1447*	1	–	class 5, pathogenic
c.4524G>A	p.Trp1508*	1	–	class 5, pathogenic
c.4530dup	p.His1511Alafs*10	1	– // novel	– // class 5, pathogenic
c.4545del	p.Ser1516Valfs*32	1	– // novel	– // class 5, pathogenic
c.4666C>T	p.Gln1556*	1	–	class 5, pathogenic
c.4689C>G	p.Tyr1563*	6	0.0018%	class 5, pathogenic
c.4806del	p.Gln1604Asnfs*2	1	–	class 5, pathogenic
c.4878dup	p.Ala1627Cysfs*52	2	–	class 5, pathogenic
c.5030_5033del	p.Thr1677Ilefs*2	2	–	class 5, pathogenic
c.5177_5178del	p.Arg1726Lysfs*5	2	–	class 5, pathogenic
c.5251C>T	p.Arg1751*	13	0.00079%	class 5, pathogenic

cDNA – coding DNA reference sequence, HGVS – Human Genome Variation Society, NFE – non-Finnish European, LOVD – Leiden Open Variation Database, IARC – International Agency for Research on Cancer

Tab. 1 – continuing. *BRCA1* nonsense and frame-shift mutations detected in Czech patients.

cDNA level (HGVS nomenclature)	Protein level	Number of families	NFE frequency (gnom)	LOVD-IARC class [4] // our class (if different or not specified)
c.5266dup	p.Gln1756Profs*74	329	0.016%	class 5, pathogenic
c.5346G>A	p.Trp1782*	3	–	class 5, pathogenic
c.5432del	p.Gln1811Argfs*23	1	– // novel	– // class 5, pathogenic
c.5510G>A	p.Trp1837*	2	–	class 5, pathogenic
c.5511G>A	p.Trp1837*	2	–	class 5, pathogenic
c.5554del	p.Thr1852Profs*3	1	– // novel	– // class 5, pathogenic

cDNA – coding DNA reference sequence, HGVS – Human Genome Variation Society, NFE – non-Finnish European, LOVD – Leiden Open Variation Database, IARC – International Agency for Research on Cancer

- Class 5: pathogenic (probability of being pathogenic > 0.99);
- Class 4: likely pathogenic (probability of being pathogenic 0.95–0.99);
- Class 3: uncertain significance (probability of being pathogenic 0.05–0.949);
- Class 2: likely benign (probability of being pathogenic 0.001–0.049);
- Class 1: benign (probability of being pathogenic < 0.001).

Prediction of putative splice site variants and mRNA (cDNA) analysis

All putative splice site variants were tested using the Splice Site Prediction Programs for their potential to alter splicing. Several predictive programs were used as the NNSplice [14] or NetGene2 [15]. Later, Alamut® Visual (Interactive Biosoftware) predictions on ribonucleic acid (RNA) splicing, allowing the assessment of their potential impact on splice junctions and visualization of cryptic or *de novo* splice sites, was used. Splicing prediction tools included in Alamut are represented by NNSplice [14]; GeneSplicer [16]; MaxEntScan [17]; SpliceSiteFinder-like [18]. Subsequently, messenger RNA (mRNA) / cDNA analysis was performed to verify ‘*in silico*’ predictions in cases of previously not characterised putative splice variants as described elsewhere [8,19,20].

In silico analyses for missense and in-frame indel variants

Several prediction software were used including Grantham Variation (GV) and Grantham Deviation (GD) scores, later

Align-GVGD [21], which combines the biophysical characteristics (side-chain composition, polarity and volume) of amino acids and protein multiple sequence alignments. We also applied PRIORS V2.0. The *BRCA1* and *BRCA2* Prior Probabilities database combines Prior Probabilities of pathogenicity from missense substitution severity and spliceogenity [22].

Alamut® Visual software (Interactive Biosoftware) has been used since 2015, which integrates several missense variant pathogenicity prediction tools and algorithms such as SIFT, PolyPhen2, Align-GVGD or MutationTaster; as well as the splicing prediction tools mentioned above.

For in-frame deletions/insertions we used PROVEAN (Protein Variation Effect Analyser) software [23], which predicts whether an amino acid substitution or indel will have an impact on the biological function of a protein [24].

More recently, the free interactive database VarSome has been used as well, created by Saphetor SA for the human genomics annotation tool [25].

Definition of deleterious mutations

Sequence variants were categorised on the basis of their predicted effect on the mRNA and amino acid level and defined as deleterious mutations according to the ACMG/ENIGMA criteria [5,6]:

- 1) Frameshift and nonsense variants in both genes, with the exception of *BRCA2* variants leading to a stop codon 3’of codon 3326 as *BRCA2* c.9976A>T;

p.Lys3326* (rs11571833) has been found to be of clinically low significance, associated with only very slightly increased risk of breast cancer (OR_w 1.28; 95% CI 1.17–1.40, P = 5.9 × 10⁻⁶) [26]. Therefore, other variants leading to a stop codon 3’ of codon 3326 are considered as class 2 variants.

- 2) Variants occurring in the consensus splice acceptor or donor sequence sites, either within 2 bp of exon-intron junctions, when they are experimentally demonstrated to result in abnormal mRNA transcript and found to produce only transcript(s) carrying a premature termination codon, or an in-frame deletion disrupting the expression of one or more known clinically important residues.
- 3) Missense variants that have been conclusively demonstrated, on the basis of data from linkage analysis of high-risk families, functional assays or biochemical evidence, to have a deleterious effect on known functional domains.
- 4) Copy number deletion/duplication variant that removes/duplicates one or more exons spanning a known clinically important functional or is proven by laboratory studies to result in a frameshift alteration predicted to disrupt the expression of one or more known clinically important functional residues.

Results

***BRCA1* findings**

In total, there were 1,021 families confirmed to carry a high-risk *BRCA1* muta-

Tab. 2. BRCA1 splice site alterations detected in Czech patients.

cDNA level (HGVS nomenclature)	Number of families	In silico Prediction: Alamut average (MaxEnt/NNSPLICE/SSF)	[reference]: described mRNA analysis results // other important information	LOVD-IARC class [4] // our class (if different or not specified)
c.213-12A>G	33	new acceptor site: c.213-11; WT acceptor: -35.0%	[29]: r.212_213ins213-12_213-1; p.(Arg71Serfs*21)	class 5, pathogenic
c.213-11T>G	1	-96%	[52]: r.212_213ins213-59_213-1UMD database: Intron inclusion: ins59Ter75	class 5, pathogenic
c.302-3C>G	1	new acceptor site: c.302-2; WT acceptor: -87,1%	[8]: r.302-2_302-1insAG; p.(Tyr101*)	class 5, pathogenic
c.4096+3A>T	1	-99.1%	[27]: enhanced Δ Ex 11; Δ 3309nt 3' of Ex 11: in-frame p.[(Ala224_Leu1365del);(Ser264_Leu1365del)] // [28]: healthy 58-years-old homozygous carrier of c.4096+3A>G	class 3, VUS
c.4185G>A	5	-68.9%	[19]: r.4097_4185del; p.(Gly1366Alafs*8)[57]: r.4097_4185del	class 5, pathogenic
c.4185+1G>C	1	-100%	novel; predicted exon skipping: r.(4097_4185del); several other pathogenic splice site alteration described all with exon skipping effect: c.4185+1G>T, c.4185+1G>A, c.4185+2T>C, c.4185G>A	class 4, likely pathogenic
c.4675+1G>A	1	-100%	[8]: several aberrant transcripts including minor wild-type and in-frame transcript: r.[=, 4358_4675del, 4485_4675del, 4665_4675del, 4358_4484del, 4665_4675del] p. [=, Ala1453_Leu1558del, Ser1496Glyfs*14, Gln1556Glyfs*14, Ala1453Glyfs*10][57]: r.4485_4675del; [58]: Ex 15 deletion, 11-bp deletion from Ex 15	class 4, likely pathogenic possible spliceogenic effect?
c.4674A>G; p.(Leu1558=)	1	-48.8%	[20]: r.4665_4675del; p.(Gln1556Glyfs*14)	class 5, pathogenic
c.4676-1G>A	11	-100%	// [59]: multifactorial likelihood ratio - pathogenic	class 5, pathogenic
c.4868C>G, p.(Ala1623Gly)	1	new donor site; prior score: 0,64	[60]: r.4868_4986del p.(Ala1623Aspfs*16) // [61]: affects function	class 5, pathogenic
c.5074+3A>G	2	-61.5%	[62]: Ex 17 skipping and retention of 153 nt of intron 17; LOVD database: Ex 17 skipping: r.4987_5074del => frame-shift	class 5, pathogenic
c.5075-1G>A	2	-100%	LOVD database: in-frame Ex 18 skipping r.5075_5152del => in-frame deletion p.(Asp1692_Trp1718delinsGly)	class 5, pathogenic
c.5152+1G>C	1	-100%	[61]: affects function: r.5075_5152del => in-frame deletion	class 5, pathogenic
c.5152+1G>T	1	-100%	[61]: affects function: r.5075_5152del => in-frame deletion	class 5, pathogenic
c.5152+2dupT	4	-93.2%	[20]: Ex 18 skipping r.5075_5152del => in-frame deletion p.(Asp1692_Trp1718delinsGly)[61]: affects function: r.5075_5152del => in-frame deletion	class 5, pathogenic
c.5468-1G>A	1	-100%, new acceptor splice site: c.5479	[20]: new acceptor site activated, deletion of first 11nt of Ex: r.5468_5478del => frame-shift p.(Ala1823Aspfs*3)	class 5, pathogenic
c.5468-11_5520dup64	5	? tandem duplication	[61]: affects function: r.?; predicted frame-shift: p.(Ala1843Serfs*8)	class 4, likely pathogenic

cDNA – coding DNA reference sequence, HGVS – Human Genome Variation Society, mRNA – messenger RNA, LOVD – Leiden Open Variation Database, IARC – International Agency for Research on Cancer, WT – wild type, VUS – variants of uncertain clinical significance

Tab. 3. *BRCA1* missense variants detected in Czech patients classified as pathogenic (class-5) and likely pathogenic (class-4)

cDNA level (HGVS nomenclature)	Protein	Number of families	NFE freq. (gnom)	Prior	Align-GVGD	[reference]: functional defect	[reference]: other information	LOVD-IARC class [4] // our class (if different or not specified)
c.53T>A	p.Met18Lys	17	–	0,66	C55	[35]: disrupted helical bundle; affects E2 (UbcH5b) binding // [36]: destabilising <i>BRCA1</i> /BARD1 complex	segregation with BC and OV cases in multiple families [37] in our recent study	class 4, likely pathogenic
c.71G>A	p.Cys24Tyr	1	–	0,81	C65	[35]: loss of Zn ²⁺ ligand residue of C ₃ HC ₄ RING domain		class 4, likely pathogenic
c.80G>A	p.Cys27Tyr	1	– // novel	0,81	C65	[35]: loss of Zn ²⁺ ligand residue of C ₃ HC ₄ RING domain	splice prediction: –10,8%;	class 4, likely pathogenic
c.115T>C	p.Cys39Arg	21	–	0,81	C65	[35]: loss of Zn ²⁺ ligand residue of C ₃ HC ₄ RING domain	[63]: deleterious; [34]: pathogenic; [64]: pathogenic mutation	class 5: pathogenic
c.181T>G	p.Cys61Gly	69	0.0063%	0,81	C65	[35]: loss of Zn ²⁺ ligand residue of C ₃ HC ₄ RING domain	[63]: deleterious; [34]: pathogenic	class 5: pathogenic
c.191G>A	p.Cys64Tyr	2	–	0,81	C65	[35]: loss of Zn ²⁺ ligand residue of C ₃ HC ₄ RING domain	[61]: affects function; [64]: pathogenic mutation	class 5: pathogenic
c.5054C>A	p.Thr1685Asn	1	– // novel	0,66	C55	BRCT domain	[34]: other variants: Thr1685Ile and Thr1685Ala – reported pathogenic	– // class 4, likely pathogenic
c.5089T>C	p.Cys1697Arg	1	–	0,81	C65	BRCT domain; [65]: folding defect, compromised transcription assay, but uncertain binding specificity	[66]: loss of transactivation activity in yeast and mammalian cells	– // class 4, likely pathogenic
c.5095C>T	p.Arg1699Trp	1	0.0018%	0,81	C65	BRCT domain; [65]: strong functional effect	[34]: pathogenic; [64]: pathogenic mutation	class 5: pathogenic
c.5096G>A	p.Arg1699Gln	1	0.0054%	0,66	C35	BRCT domain; [65]: strong functional effect	[67]: mRNA: no change [34]: pathogenic; [39]: hypomorphic risk: OR 4,3 (95% CI 1.43–12.85)	hypomorphic risk: OR 4,3

cDNA – coding DNA reference sequence, HGVS – Human Genome Variation Society, GVGD – Grantham Variation and Grantham Deviation, NFE – non-Finnish European, LOVD – Leiden Open Variation Database, IARC – International Agency for Research on Cancer, BRCT – *BRCA1* C-terminal, OR – odds ratio, VUS – variants of uncertain clinical significance

Tab. 3 – continuing. *BRCA1* missense variants detected in Czech patients classified as pathogenic (class-5) and likely pathogenic (class-4)

cDNA level (HGVS nomenclature)	Protein	Number of families	NFE freq. (gnom)	Prior	Align-GVGD	[reference]: functional defect	[reference]: other information	LOVD-IARC class [4] // our class (if different or not specified)
c.5123C>A	p.Ala1708Val	1	0.0027%	0,81	C65	BRCT domain; [65]: strong functional effect	[30]: partial exon skipping; r.5075_5152del;	class 3: VUS // class 4: likely pathogenic
c.5145C>G	p.Ser1715Arg	1	–	0,81	C65	BRCT domain; [65]: strong functional effect; [66]: loss of transactivation activity in yeast and mammalian cells;	[34]: pathogenic; [64]: pathogenic mutation	class 5: pathogenic
c.5360G>A	p.Cys1787Tyr	1	– // novel	0,81	C65	BRCT domain	[68]: p.Cys1787Ser is classified as pathogenic	– // class 4, likely pathogenic

cDNA – coding DNA reference sequence, HGVS – Human Genome Variation Society, GVGD – Grantham Variation and Grantham Deviation, NFE – non-Finnish European, LOVD – Leiden Open Variation Database, IARC – International Agency for Research on Cancer, BRCT – *BRCA1* C-terminal, OR – odds ratio, VUS – variants of uncertain clinical significance

tion (13.8% of the 7,400 families analysed). The majority of clinically deleterious mutations detected in the *BRCA1* gene were protein-truncating mutations (731 families with frameshift or nonsense mutations), followed by missense mutations located in the RING domain and less frequently by BRCT (*BRCA1* C-terminal) domains (118 families), large intragenic rearrangements (102 families) and splice site mutations (70 families).

An overview of the *BRCA1* frameshift and nonsense mutations detected in Czech high-risk families is provided in Tab. 1. We identified 731 families with frameshift or nonsense mutations in the *BRCA1* gene, which accounted for 79 different unique deleterious mutations. The most common mutations are c.5266dup (p.Gln1756Profs*74) detected in 329 families; c.3700_3704del (p.Val1234Glnfs*8), detected in 114 families; c.1687C>T (p.Gln563*), detected in 36 families; c.68_69del (p.Glu23Valfs*17), detected in 24 families.

The *BRCA1* splice site mutations detected in high-risk Czech families are

summarised in Tab. 2. They concern 71 families, representing 16 different deleterious splice site mutations classified as pathogenic (class 5) or likely pathogenic (class 4). One splice site alteration c.4096+3A>T leading to 2 in-frame transcripts at the cDNA level (exon 11 skipping and Δ3309nt 3'end of exon 11) and previously classified as pathogenic by [27] was reclassified as a variant of VUS, based on segregation data and the finding of a healthy 58-year-old homozygous woman for c.4096+3A>G variant in a consanguineous Danish family with several cases of breast/ovarian cancer [28]. However, in the Danish population *BRCA1* c.4096+3A>G is now considered as likely benign [28]. The most common splice site mutation was c.213-12A>G (detected in 33 families), activating a cryptic splice site and causing a frameshift [29].

All *BRCA1* pathogenic missense mutations are shown in Tab. 3. In 118 families, 13 different unique missense alterations, classified as pathogenic (class 5) or likely pathogenic (class 4) were detected. The

most common missense mutations were in the RING domain affecting the Zn²⁺ ligand residues of C₃HC₄ finger domain – p.Cys61Gly (detected in 69 families) and p.Cys39Arg (detected in 21 families).

An overview of all large intragenic rearrangements detected in the *BRCA1* gene have been provided in Tab. 4. There were 102 families with large intragenic rearrangements, representing 16 different unique mutations classified as pathogenic (class 5) or likely pathogenic (class 4). The most common large intragenic rearrangements were deletions spanning exons 5_14 (c.135-485_4485-913del), detected in 36 families and spanning exons 21_22 (c.5278-492_5406+1290delins236), detected in 21 families.

A summary of *BRCA1* in-frame deletions/insertions detected in Czech high-risk families is provided in the supplementary Tab. 5. All of them are considered as VUS (class 3).

The remaining *BRCA1* missense alterations classified as VUS (class 3), likely benign (class 2) and benign (class 1)

Tab. 4. *BRCA1* large intragenic rearrangements detected in Czech patients.

<i>BRCA1</i> (NM_007294.3) exons affected	HGVS nomenclature	Number of families	[reference]: breakpoints; predicted change	LOVD-IARC class [4]) // our class (if different or not specified)
deletion of pro- motor 1a_2	c.(?-232)_(80+1_81-1)del	8	deletion detectable by primers published by [69]: deletion of 36.9 kb;	class 5, pathogenic
deletion of exons 1a_17	c.(?-232)_(5074+1_5075-1) del	10	breakpoints not characterized	class 4, likely pathogenic
deletion of exons 5_14	c.135-485_4485-913del Chr17(GRCh38):g.43075434_ 43107018del	36	[9]: breakpoints characterised on RefSeq L78833.1: g.21716_53298del	class 5, pathogenic
deletion of exon 8	c.(441+1_442-1)_ (547+1_548-1)del	7	breakpoints not characterized; deletion size about 4 kb (LR-PCR); predicted: r.(442_547del) => frame-shift	class 5, pathogenic
deletion from exon 11_12	c.1644_4185+3618del Chr17(GRCh38):g.43087326_ 43093887del	2	[9]: breakpoints characterised on RefSeq L78833.1: g.34845_41405del; predicted: r.?	class 4, likely pathogenic
duplication of exon 13	c.(4185+1_4186-1)_ (4357+1_4385-1)dup	2	breakpoints not characterized; predicted (if tandem): r.(4186_4357)dup => frame-shift	class 4, likely pathogenic
duplication of exons 13_14	c.(4185+1_4186-1)_ (4484+1_4485-1)dup	2	breakpoints not characterized; predicted (if tandem): r.(4186_4484)dup => frame-shift	class 4, likely pathogenic
deletion of exons 13_15	c.(4185+1_4186-1)_ (4675+1_4676-1)del	1	breakpoints not characterized; predicted: r.(4186_4675)del => frame-shift	class 5, pathogenic
deletion of exon 17	c.(4986-1_4987+1)_ (5074+1_5075-1)del	1	breakpoints not characterized; deletion size about 2,4 kb (LR-PCR) predicted: r.(4987_5074) del => frame-shift	class 5, pathogenic
deletion of exons 18_19	c.5075-1131_5193+190del Chr17(GRCh38):g.43063143_ 43065082del	1	[9]: breakpoints characterised on GeneBank RefSeq L78833.1: g.63651_65590del; predicted: r.(5075_5193)del => frame-shift	class 5, pathogenic
deletion of exons 18_22	c.(5074-1_5075+1)_ (5406+1_5407-1)del	3	breakpoints not characterized; predicted: r.(5075_5406)del => frame-shift	class 5, pathogenic
deletion of exon 20	c.5193+340_5277+2206 delChr17(GRCh38):- g.43054846_43062993del	1	breakpoints characterised on GeneBank Ref- Seq L78833.1 (our study): g.65740_73887del; predicted: r.(5194_5277)del => in-frame dele- tion p.(His1732_Lys1759del)	class 5, pathogenic
deletion of exon 20	c.5194-2834_5277+4111del Chr17(GRCh38):g.43052941_ 43059969del	1	[9]: breakpoints characterised on Gene- Bank RefSeq L78833.1: g.68764_75792del; predicted: r.(5194_5277del) => in-frame: p.(His1732_Lys1759del)	class 5, pathogenic
deletion of exons 21_22	c.5278-492_5406+1290 delins236 Chr17(GRCh38):g.43047831_ 43051609delins236	21	[9]: breakpoints characterised on GeneBank RefSeq L78833.1: g.77128_80906delins236; predicted: r.(5278_5406)del => in-frame p.(Ile1760_Thr1802del)	class 5, pathogenic
duplication of exon.23	c.(5406+1_5407-1)_ (5467+1_5468-1)dup	1	breakpoints not characterized; predicted (if tandem): r.(5407_5467)dup => frame-shift	class 4, likely pathogenic
deletion of the entire <i>BRCA1</i> gene (exons 1a_24)	c.(?-232)(*1?)del	5	breakpoints not characterized; the whole allele deleted	class 5, pathogenic

HGVS – Human Genome Variation Society, LOVD – Leiden Open Variation Database, IARC – International Agency for Research on Cancer, LR-PCR – long-range polymerase chain reaction

Tab. 8. BRCA2 nonsense and frame-shift mutations detected in Czech patients.

cDNA level (HGVS nomenclature)	Protein level	Number of families	NFE frequency (gnom)	LOVD-IARC class [4] // our class (if different or not specified)
c.-7_7del	p.?	1	- // novel	- // class 5, pathogenic
c.306dup	p.Leu103Ilefs*10	1	-	- // class 5, pathogenic
c.462_463del	p.Asp156*	4	-	class 5, pathogenic
c.593T>G	p.Leu198*	1	- // novel	- // class 5, pathogenic
c.635_636del	p.Arg212Lysfs*2	3	-	class 5, pathogenic
c.658_659del	p.Val220Ilefs*4	14	0.0048%	class 5, pathogenic
c.691_704del	p.Tyr232*	1	- // novel	- // class 5, pathogenic
c.755_758del	p.Asp252Valfs*24	1	0.0018%	class 5, pathogenic
c.1023_1024del	p.Cys341*	1	- // novel	- // class 5, pathogenic
c.1296_1297del	p.Asn433Glnfs*18	2	-	class 5, pathogenic
c.1310_1313del	p.Lys437Ilefs*22	1	-	class 5, pathogenic
c.1389_1390del	p.Val464Glyfs*3	6	-	class 5, pathogenic
c.1408dup	p.Glu470Glyfs*6	1	-	class 5, pathogenic
c.1414C>T	p.Gln472*	1	-	class 5, pathogenic
c.1560_1561del	p.Ser521Argfs*5	1	-	class 5, pathogenic
c.1796_1800del	p.Phe599*	3	0.00090%	class 5, pathogenic
c.1813dup	p.Ile605Asnfs*11	5	0.0019%	class 5, pathogenic
c.1989del	p.Phe663Leufs*5	3	-	class 5, pathogenic
c.2251dup	p.Thr751Asnfs*2	2	-	class 5, pathogenic
c.2808_2811del	p.Ala938Profs*21	26	0.0027%	class 5, pathogenic
c.2828_2831del	p.Ile943Lysfs*16	1	-	class 5, pathogenic
c.2905C>T	p.Gln969*	1	-	class 5, pathogenic
c.3075_3076delinsTT	p.Lys1025_Lys1026delinsAsn*	6	-	class 5, pathogenic
c.3085del	p.Met1029Cysfs*14	2	- // novel	- // class 5, pathogenic
c.3195_3198del	p.Asn1066Leufs*10	4	-	class 5, pathogenic
c.3545_3546del	p.Phe1182*	1	0.0045%	class 5, pathogenic
c.3641dup	p.Phe1216Valfs*2	1	-	class 5, pathogenic
c.3703C>T	p.Gln1235*	1	- // novel	- // class 5, pathogenic
c.3744_3747del	p.Ser1248Argfs*10	3	-	class 5, pathogenic
c.3847_3848del	p.Val1283Lysfs*2	16	0.0082%	class 5, pathogenic
c.3860del	p.Asn1287Ilefs*6	1	0.0022%	class 5, pathogenic
c.3967A>T	p.Lys1323*	1	-	class 5, pathogenic
c.3975_3978dup	p.Ala1327Cysfs*4	4	0.00100%	class 5, pathogenic
c.4284dup	p.Gln1429Serfs*9	3	0.0067%	class 5, pathogenic
c.4440T>G	p.Tyr1480*	7	-	class 5, pathogenic
c.4544delA	p.Lys1515Argfs*28	4	-	class 5, pathogenic
c.4558_4559insT	p.Thr1520Ilefs*9	1	- // novel	- // class 5, pathogenic
c.4829_4830del	p.Val1610Glyfs*4	1	0.00090%	class 5, pathogenic
c.4845_4846del	p.Leu1616Lysfs*2	1	-	class 5, pathogenic
c.4987_4990del	p.Val1663Leufs*6	1	-	class 5, pathogenic
c.5042_5043del	p.Val1681Glufs*7	1	-	class 5, pathogenic
c.5073dup	p.Trp1692Metfs*3	1	0.0028%	class 5, pathogenic
c.5101C>T	p.Gln1701*	1	-	class 5, pathogenic
c.5213_5216del	p.Thr1738Ilefs*2	3	0.00090%	class 5, pathogenic
c.5216dup	p.Tyr1739*	1	-	class 5, pathogenic
c.5557dup	p.Cys1853Leufs*5	1	-	class 5, pathogenic
c.5576_5579del	p.Ile1859LysfsX3	2	0.0018%	class 5, pathogenic
c.5641_5644del	p.Lys1881Glnfs*27	10	-	class 5, pathogenic
c.5645C>A	p.Ser1882*	16	0.0018%	class 5, pathogenic
c.5682C>G	p.Tyr1894*	5	0.00090%	class 5, pathogenic
c.5720_5723del	p.Ser1907*	1	-	class 5, pathogenic
c.5722_5723del	p.Leu1908Argfs*2	1	-	class 5, pathogenic
c.5763dup	p.Ala1922Cysfs*2	2	-	class 5, pathogenic
c.5789del	p.Leu1930Tyrfs*33	1	-	class 5, pathogenic
c.5851_5854del	p.Ser1951Trpfs*11	1	-	class 5, pathogenic
c.5909C>G	p.Ser1970*	4	-	class 5, pathogenic

cDNA – coding DNA reference sequence, HGVS – Human Genome Variation Society, NC – not counted, NFE – non-Finnish European, LOVD – Leiden Open Variation Database, IARC – International Agency for Research on Cancer, mRNA – messenger RNA

are summarised in the supplementary Tab. 6, including the reasons for their classification. Silent variants were not included if, on the basis of the prediction the chance of affecting splicing was very low. A summary of *BRCA1* intronic variants targeted mainly up to position +/-50 to exon is provided in the supplementary Tab. 7.

BRCA2 findings

In total, there were 497 families confirmed to carry high-risk *BRCA2* mutation (6.7% of the 7,400 families analysed). Most clinically deleterious mutations detected in the *BRCA2* gene were protein-truncating mutations (404 families with deleterious frameshift or nonsense mutation), followed by splice site mutations (45 families), missense mutations with the exception of the mutation in the initiation codon located in the DBD (DNA/DSS1 binding) domain (44 families) and large intragenic rearrangements turned out to be very rare (4 families).

A summary of the frameshift and nonsense mutations detected in Czech high-risk families in *BRCA2* is provided in Tab. 8. In total, 404 families were identified with a truncating mutation, representing 95 different deleterious mutations. The most common mutations were: c.8537_8538del (p.Glu2846Glyfs*22), detected in 61 families; c.7913_7917del (p.Phe2638*), detected in 37 families; c.2808_2811del (p.Ala938Profs*21), detected in 26 families. Two variants leading to a stop codon 3' of codon 3326 were very frequent – p.Lys3326* and c.10095delC insGAATTATCT (p.Ser3366Asnfs*4).

An overview of the *BRCA2* splice site mutations detected in high-risk Czech families is shown in Tab. 9. There were 46 families carrying a splice site alteration, representing 9 different deleterious splice site mutations classified as pathogenic (class 5) or likely pathogenic (class 4). One splice site alteration, c.9501+3A>T, previously described as pathogenic and causing partial exon skipping (the aberrant transcript represented only 13% of the wild type transcript [30]) was reclassified as a variant of VUS. The most common splice site muta-

tion was c.475G>A, a substitution affecting the last nucleotide of exon 5 for which RNA analysis has demonstrated that it causes abnormal splicing and results in a frameshift and a truncated protein [8], was detected in 10 families.

The deleterious *BRCA2* missense mutations detected in high-risk Czech families can be found in Tab. 10. There were 44 families carrying a deleterious missense mutation, representing 15 different mutations classified as pathogenic (class 5) or likely pathogenic (class 4). With the exception of one mutation in the initiation codon, all deleterious missense mutations were located in the DBD domain. The most common missense mutation, classified as likely pathogenic was c.9371A>T (p.Asn3124Ile), detected in 16 families.

Of the total study cohort, only about 3,000 families were analysed for large intragenic rearrangements by MLPA (or later CNV analysis). Only 4 families were found to carry a large intragenic rearrangement in *BRCA2* (Tab. 11). In one of the complex *BRCA2* rearrangements we have not been able to reveal the exact character of the complex changes (Fig. 1). Because of the low frequency of *BRCA2* large intragenic rearrangements, we did not perform a retrospective analysis of all previously unsolved cases.

The remaining *BRCA2* missense alterations, classified as VUS (class 3), likely benign (class 2) and benign (class 1) are summarised in the supplementary Tab. 12, including the reasons for their classification. Silent variants were not included if, on the basis of the prediction the chance of affecting splicing was very low. A summary of the *BRCA2* intronic variants is provided in the supplementary Tab. 13.

During these 20 years the majority of variants, which were originally reported as of VUS, could be reclassified as likely benign or benign. As soon as information confirming the neutrality of any missense or intronic variant was available, we ceased to register their frequency and to report them. The frequency of neutral variants was not monitored because homozygotes of frequent variants were not detectable by screening with Heteroduplex nor HRM

analysis and therefore, their frequency would be underestimated.

Discussion

Deleterious mutations in the *BRCA1* and *BRCA2* genes account for a considerable proportion of dominantly inherited breast and ovarian cancer susceptibility and have received wide acceptance in diagnostic testing and prevention. The classification of sequence variants into high-risk or low-risk categories is both challenging and critical for clarification of the causative status. Only class 5 (pathogenic) and class 4 (likely pathogenic) can be used for guidance of clinical management. However, this classification system does not allow distinguishing between highly penetrant and hypomorphic alleles (like *BRCA1* c.5096G>A; p.Arg1699Gln) [31].

BRCA1 and *BRCA2* mutation screening in our laboratory resulted in the identification of 1021 families with deleterious *BRCA1* mutations and 497 families with a *BRCA2* mutation, resulting in a mutation detection ratio of 20.5%. A broad spectrum of different deleterious mutations was found in both genes – 124 unique mutations in *BRCA1* and 123 unique mutations in *BRCA2*. The most frequent were small frameshift and nonsense mutations – 174 unique mutations (79 in *BRCA1* and 95 in *BRCA2*) scattered in all regions of the coding sequences.

A missense mutation that leads to a non-conservative substitution of an evolutionarily conserved amino acid is more likely to be causative than a missense mutation that leads to a conservative substitution or alters an amino acid that is not evolutionarily conserved [5]. The PRIORS probability tool seems to have the strongest predictive value in agreement with already known deleterious missense mutations. The extent to which a sequence variation is considered causative of disease may be influenced by multiple parameters such as family history, segregation of the variant with affected relatives in a family, nature, and position of the amino acid substitution, evolutionary conservation of the affected residue, co-occurrence with a deleterious mutation, epidemiological and case/control studies, functional *in vitro*

Tab. 8 – continuing. *BRCA2* nonsense and frame-shift mutations detected in Czech patients.

cDNA level (HGVS nomenclature)	Protein level	Number of families	NFE frequency (gnom)	LOVD-IARC class [4] // our class (if different or not specified)
c.5934dup	p.Ser1979*	1	–	class 5, pathogenic
c.5946del	p.Ser1982Argfs*22	1	0.0079%	class 5, pathogenic
c.6275_6276del	p.Leu2092Profs*7	1	0.0048%	class 5, pathogenic
c.6295A>T	p.Arg2099*	2	– // novel	– // class 5, pathogenic
c.6405_6409del	p.Asn2135Lysfs*3	6	–	class 5, pathogenic
c.6444dup	p.Ile2149Tyrfs*2	6	–	class 5, pathogenic
c.6447_6448dup	p.Lys2150Ilefs*19	3	–	class 5, pathogenic
c.6449_6450del	p.Lys2150Serfs*25	3	–	class 5, pathogenic
c.6468_6469del	p.Gln2157Ilefs*18	4	–	class 5, pathogenic
c.6469C>T	p.Gln2157*	1	–	class 5, pathogenic
c.6486_6489del	p.Lys2162Asnfs*5	2	–	class 5, pathogenic
c.6553del	p.Ala2185Leufs*6	1	–	class 5, pathogenic
c.6591_6592del	p.Glu2198Asnfs*4	2	–	class 5, pathogenic
c.6638del	p.Ser2213Leufs*16	5	–	class 5, pathogenic
c.6754dup	p.Ser2252Phefs*9	5	–	class 5, pathogenic
c.6998dup	p.Pro2334Thrfs*6	1	0.00090%	class 5, pathogenic
c.7033C>T	p.Gln2345*	1	–	class 5, pathogenic
c.7069_7070del	p.Leu2357Valfs*2	1	0.0055%	class 5, pathogenic
c.7151_7152del	p.Gln2384Argfs*7	1	–	class 5, pathogenic
c.7471C>T	p.Gln2491*	3	–	class 5, pathogenic
c.7649del	p.Ile2550Lysfs*98	1	– // novel	– // class 5, pathogenic
c.7718T>A	p.Leu2573*	1	– // novel	– // class 5, pathogenic
c.7887G>A	p.Trp2629*	1	–	class 5, pathogenic
c.7913_7917del	p.Phe2638*	37	–	class 5, pathogenic
c.8042_8043del	p.Thr2681Serfs*11	8	–	class 5, pathogenic
c.8172_8175dup	p.Tyr2726Valfs*5	4	–	class 5, pathogenic
c.8322dup	p.Met2775Tyrfs*7	1	–	class 5, pathogenic
c.8343del	p.Asn2781Lysfs*40	1	–	class 5, pathogenic
c.8363G>A	p.Trp2788*	13	–	class 5, pathogenic
c.8537_8538del	p.Glu2846Glyfs*22	61	0.0027%	class 5, pathogenic
c.9053_9057del	p.Ser3018Ilefs*2	2	–	class 5, pathogenic
c.9097dup	p.Thr3033Asnfs*11	8	0.0028%	class 5, pathogenic
c.9145dup	p.Tyr3049Leufs*23	1	– // novel	– // class 5, pathogenic
c.9147C>A	p.Tyr3049*	1	–	class 5, pathogenic
c.9366_9367del	p.Ser3123Glnfs*26	1	–	class 5, pathogenic
c.9382C>T	p.Arg3128*	4	0.00079%	class 5, pathogenic
c.9403del	p.Leu3135Phefs*28	13	–	class 5, pathogenic
c.9435_9436del	p.Ser3147Cysfs*2	6	0.00090%	class 5, pathogenic
c.9463_9467delinsGAATGATC	p.Phe3155Glufs*2	2	–	class 5, pathogenic
c.9976A>T	p.Lys3326*	NC (> 40)	0.86%	class 1, benign; [76]: functional assays: no effect; [34]: benign; [26]: BC risk OR 1.28, (95% CI 1.17–1.40), OC risk OR 1.26 (95% CI 1.10–1.43); § (our study): detected in cancer free controls:
c.10095delC insGAATTATATCT	p.Ser3366Asnfs*4	NC (> 30)	–	class 2, likely benign; Ω [67]: mRNA analysis: no change; § (our study): detected in cancer free controls

cDNA – complementary DNA, HGVS – Human Genome Variation Society, NC – not counted, NFE – ?, LOVD – Leiden Open Variation Database, IARC – International Agency for Research on Cancer, mRNA – messenger RNA

studies or knock-out animal models [5]. A novel variant of VUS with neutral predictions in less conserved regions that are unlikely to affect splicing were always mentioned in the report but interpreted as a variant suspected to be of low clinical significance.

For *BRCA1* only missense variants located in the highly conserved RING finger domain at the N-terminal region (amino acids 1–109) and in the transcriptional activation domain with two BRCT repeats (amino acids 1640–1729 and 1760–1821) at the C-terminal region are considered

high-risk deleterious mutations [32], (LOVD database). In the *BRCA2* gene only some missense variants located in the most conserved C-terminal DNA binding DBD domain (amino acids 2460–3170) have been confirmed to be high-risk deleterious mutations [33,34], (LOVD database).

Tab. 9. *BRCA2* splice site alterations detected in Czech patients.

cDNA level (HGVS nomenclature)	Number of families	<i>In silico</i> Prediction: Alamut average (MaxEnt/NNSPLICE/SSF)	[reference]: described mRNA analysis // other important information	LOVD-IARC class [4] // our class (if different or not specified)
c.475G>A	10	-50.6%	[8]: r.426_475del p.(Phe143Glyfs*23)	class 5, pathogenic
c.475+1G>T	3	-100%	(our study): r.426_475del p.(Phe-143Glyfs*23); [52]: Ex 5 skipping r.426_475del	class 5, pathogenic
c.476-2A>G	6	-100%	[8]: two transcripts r.[426_516del, 476_516del] p.[Phe143Valfs*12; Val-159Glyfs*10]; [52] Colombo 2013: r.[=,476_516del,426_516del]	class 5, pathogenic // possible spliceogenic effect?
c.7007G>Ap. (Arg2336His)	9	-53.8%	[8]: three transcripts r.[6842_6937del, 6842_7007del, 6938_7007del] p.[Glu2281_Gly2313del, Gly2280Alafs*31, Gly2313Alafs*31]; [30]: Ex13 skipping: r.6938_7007del; [77]: ES cell-based assay: deleterious	class 5, pathogenic // possible spliceogenic effect?
c.7805+1G>C	1	-100%	Novel; recently described only c.7805+1G>A and c.7805+1G>T – both as pathogenic: r.spl (mRNA not characterised; LOVD database)	- // class 4, likely pathogenic
c.8486A>G p.(Gln2829Arg)	3	-11.8%	[78]: r.8332_8487del p.(Ile2778_Gln-2829del); [61]: in-frame deletion of Ex19; (our study): Ex 19 skipping in the main effect, but several alternative transcripts were observed also in control persons (skip of Ex 17,18, 20)	- // class 4, likely pathogenic; possible spliceogenic effect?
c.8755-1G>A	6	-100%	[8]: r.8755_8953del p.(Gly2919fs*3); [52] r.[=,8755_8953del, 8755_9004del] p. [Gly2919Leufs*3,Gly2919Lysfs*26]; [30]: cryptic splice (83%) and Ex 22 skipping (17%): r.[8755del,8755__8953del] p.[Gly1919Valfs*8,Gly2919Leufs*3]	class 5, pathogenic
c.9117+2T>A	4	-100%	[8]: r.8954_9117del p.(Val2985Glyfs*4)	class 5, pathogenic
c.9118-2A>G	3	-100%, strong cryptic acceptor	[19]: cryptic splice r.9118_9124del p.(Val3040Metfs*20)	class 5, pathogenic
c.9501+3A>T	1	-58%	[73]: incomplete Ex 25 skipping r.[=,9257_9501del] p.[=,Gly3086Glyfs*3] [58]: Ex 25 skipping: r.9257_9501del [49]: Partial Ex 25 skipping (13%): r.[=,9257_9501del]	conflicting: class 5, class 3 // class 3, VUS; strong spliceogenic effect, hypomorphic?

cDNA – coding DNA reference sequence, HGVS – Human Genome Variation Society, mRNA – messenger RNA, LOVD – Leiden Open Variation Database, IARC – International Agency for Research on Cancer, VUS – variants of uncertain clinical significance

Besides the five deleterious missense mutations at the strongly conserved C₃HC₄ Zn²⁺ ligand cysteine residues of the RING domain (Cys24, Cys27, Cys39, Cys61, Cys64), only p.Met18Lys, disrupting the helical bundle of the RING domain, affecting E2 (UbcH5b) binding and destabilising the

heterodimerisation of *BRCA1*/*BARD1* complex, was considered as a likely pathogenic variant [35–37]. *BRCA1* p.Met18Lys is a Czech founder mutation detected in 17 unrelated Czech families, with multiple breast and/or ovarian cancer patients, but is rare in other populations (ClinVar, LOVD

databases). More frequently p.Met18Thr has been reported, which is also classified as likely pathogenic [38] even with milder Align-GVGD predictions (C45 vs. C55 for p.Met18Lys). Several previously classified deleterious missense mutations have been

found in the BRCT domains of the *BRCA1* gene: p.Arg1699Trp, p.Ser1715Arg, classified as definitively pathogenic (class 5); p.Cys1697Arg, p.Ala1708Val classified as likely pathogenic (class 4) on the basis of reported functional tests and strong 'in silico' predictions (Tab. 3). Two novel variants, p.Thr1685Asn, p.Cys1787Tyr were classified as likely pathogenic (class 4), because they are altering highly conserved residues, p.Thr1685 and p.Cys1787 with the same strong 'in silico' predictions as for both previously reported definitively pathogenic variants (p.Thr1685Ile, p.Thr1685Ala and p.Cys1787Ser, respectively) [34,38]. However, the penetrance of some missense variants may be lower, as a hypomorphic effect was shown for *BRCA1* p.Arg1699Gln, demonstrating ambiguous functional deficiency across multiple assays and calculated to be associated with reduced penetrance with estimated cumulative risks to age 70 of breast or ovarian cancer of 24% [39,31].

Besides *BRCA2* c.3G>A (p.Met1?) disrupting the translation initiation codon and classified as likely pathogenic (class 4) using a multifactorial analysis approach [40], several known deleterious missense mutations were detected in the conserved DBD domain of the *BRCA2* gene (Tab. 10): p.Trp2626Cys, p.Ile2627Phe, p.Asp2723His, p.Asp2723Gly, p.Arg3052Trp were classified as definitively pathogenic (class 5; LOVD, Enigma Rules); p.Gly2596Glu, p.His2623Arg, p.Lys2630Gln, p.Ser2670Leu, p.Arg2784Trp, p.Glu3002Lys, p.Gly3076Arg, p.Asn3124Ile were classified as likely pathogenic (class 4) on the basis of reported functional tests and strong 'in silico' predictions (Tab. 10). The novel *BRCA2* p.Glu2663Gly was classified as likely pathogenic (class 4) because it alters a highly conserved residue, p.Glu2663, with the same strong 'in silico' predictions as for previously reported definitively pathogenic variants altering p.Glu2663Val [34]. As for *BRCA1*, some of the *BRCA2* missense alterations might exert a hypomorphic effect. *BRCA2* p.Tyr3035Ser is associated with only a moderate risk of breast cancer – (OR 2.52; P = 0.04), similar to CHEK2 inactivating mutations [39]. In our family-1338 the p.Tyr3035Ser variant was detected in a woman also carrying the

BRCA2 nonsense mutation p.Ser1882* 'in trans'. This patient was diagnosed with bilateral breast cancer at the ages of 36 and 42 without symptoms of Fanconi anaemia.

Some variants were found in the nuclear localisation signals of *BRCA1* (amino acids 503–508; 606–615) [41]: p.Arg504His; p.Lys608del; or in the nuclear export sequences (amino acids 22–39 and amino acids 81–99) [32]: p.Pro25Leu; p.Lys38Arg – all of them classified as VUS (class 3). No variant was found in the nuclear localisation signals of *BRCA2* (NLS1 spanning amino acids 3263–3269; NLS2 spanning amino acids 3311–3317 and putative NLS3 spanning residues 3381–3385, which was found irrelevant) [42]. Thus, the most carboxy-terminal deleterious mutation in *BRCA2* was c.9463_9467delinsGAATGATC p.(Phe3155Glufs*2) removing both essential NLSs.

Some variants were found which affected the numerous phosphorylation sites in the *BRCA1* gene: p.Ser616del, Ser1542Cys and in *BRCA2* p.Pro3292Leu classified as VUS (class 3). *BRCA1* p.Ser1542Cys has been shown to eliminate ATM kinase binding, which is necessary for the phosphorylation of *BRCA1* in response to double-stranded breaks induced by γ irradiation [43]. *BRCA2* p.Pro3292Leu altered the sequence for CDK2 binding for Ser3291, and completely abolished kinase binding. It was shown previously that phosphorylation of Ser3291 by CDKs blocks the interaction between *BRCA2* and RAD51, serving as a molecular switch for the regulation of recombination activity, which suggests potential significance by negatively affecting the interaction between *BRCA2* and RAD51 [43].

All VUS variants summarised in our study may not have been detected in patients analysed with Heteroduplex Analysis and Protein Truncation Test at the beginning and later with High Resolution Melting analysis when the analysis was terminated after the detection of pathogenic mutation. Therefore, the presence of some VUS in our analysed group may be underestimated. Only patients without detected pathogenic mutations or with a double-sided risk were completely analysed even if

the high-risk mutation (class 5, definitively pathogenic) was detected. In two families with double-sided risk of breast and ovarian cancers a case was found with double *BRCA1* and *BRCA2* risk mutation – (family-340: *BRCA1* p.Met18Lys together with *BRCA2* p.Arg3052Trp – in a woman diagnosed with breast cancer at the age of 41 and with Fallopian tube cancer at age of 52) and (family-5597: *BRCA1* p.Met18Lys together with splice *BRCA2* c.7007G>A – in woman diagnosed with triple negative breast cancer at the age of 40).

The case report about one of our families with a double-sided risk of breast cancer and three affected children diagnosed with Fanconi anaemia carrying bi-allelic FANCD1/*BRCA2* mutations: c.[(658_659del);(9366_9367del)] has been described elsewhere [44]. The breast cancer genes, *BRCA1* and *BRCA2*, are both essential for viability, therefore at least one of these bi-allelic mutations in *BRCA2* in patients with Fanconi anaemia-D1 subtype should have a hypomorphic nature. *BRCA2* c.658_659del is described repeatedly in association with eight cases of Fanconi anaemia-D1 patients (LOVD database: Variants associated with Fanconi anaemia) whereas c.9366_9367del is submitted only once there for association with FA (our case; [44]). Therefore, the strongest candidate for *BRCA2* hypomorphic mutation is *BRCA2* c.658_659del (previously 886delGT by BIC nomenclature) in exon 8 described in association with Fanconi anaemia and medulloblastoma in several cases [44–46]. Several naturally occurring alternative transcripts in *BRCA2* were described [47] which might bypass the lethality of deleterious mutation by residual alternative splicing in some regions [48], however no natural alternative transcript interfering with exon 8 of *BRCA2* was described.

The first hypomorphic missense mutations with reduced penetrance were recently described with moderately increased risks of breast cancer among Europeans [39]. A similar effect is obvious for the spliceogenic variant that retains the ability to produce in-frame isoforms or residual full-length transcript [49–51], which has been repeatedly found as Fan-

Tab. 10. *BRCA2* missense variants detected in Czech patients classified as pathogenic (class 5) and likely pathogenic (class 4).

cDNA level (HGVS nomenclature)	Protein	Number of families	NFE freq. gnom	Align-GVGD	Prior	[reference]: functional defect // Ω mRNA analysis	[reference]: other information	LOVD-IARC class [4] // our class (if different or not specified)
c.3G>A	p.Met1?	2	–	0,96	–	initiation codon // Ω [40]: no splice aberration		class 4, likely pathogenic
c.7787G>A	p.Gly2596Glu	2	–	0,81	C65	[33]: HDR assay pathogenic		class 4, likely pathogenic
c.7868A>G	p.His2623Arg	1	–	0,29	C25	[33]: HDR assay pathogenic	[79]: protein likelihood ratio: likely deleterious,	class 4, likely pathogenic
c.7878G>C	p.Trp2626Cys	4	0.00090%	0,81	C65	[33]: HDR assay pathogenic	[79]: protein likelihood ratio: likely deleterious; [34]: pathogenic;	class 5, pathogenic
c.7879A>T	p.Ile2627Phe	1	–	0,29	C15	[76]: functional assays: inactivated; [80]: HDR assay: as mutant control; [33]: HDR assay pathogenic	[79]: protein likelihood ratio: likely deleterious; [34]: pathogenic;	class 5, pathogenic
c.7888A>C	p.Lys2630Gln	1	– // novel	0,66	C45	new donor site? [33]: HDR assay pathogenic		class 4, likely pathogenic
c.7988A>G	p.Glu2663Gly	5	– // novel	0,81	C65	functionally significant amino acid	[79]: protein likelihood ratio: E2663K and E2663V: likely deleterious; [34]: E2663V - pathogenic	– // class 4, likely pathogenic
c.8009C>T	p.Ser2670Leu	1	–	0,29	C15	[33]: HDR assay pathogenic // Ω [50]: Partial Ex 18 skipping (23%) r.[8009c>u;7977_8331del];	[79]: protein likelihood ratio: likely deleterious;	conflicting: class 3; class 4, // class 4, likely pathogenic
c.8167G>C	p.Asp2723His	2	–	0,81	C65	[76]: functional assays: inactivated; [80],[33]: HDR assay: pathogenic	[79]: protein likelihood ratio: likely deleterious; [34]: pathogenic;	class 5, pathogenic

cDNA – coding DNA reference sequence, HGVS – Human Genome Variation Society, NFE – non-Finnish European, mRNA – messenger RNA, LOVD – Leiden Open Variation Database, IARC – International Agency for Research on Cancer, HDR – homology directed repair, mouse ES – embryonic stem cells

coni anaemia-D1 associated *BRCA2* mutations. A possible reduced risk of spliceogenic and hypomorphic variants should be taken into consideration for clinical follow-up. Possible spliceogenic splice site alterations in the *BRCA2* gene detected in our study are marked in Tab. 9.

Residual full-length transcript was detected in *BRCA2* c.476-2A>G and c.8755-1G>A classified as pathogenic [52], whereas in c.9501+3A>T the full-length transcript was predominant and therefore the role in breast cancer risk is questionable and variant c.9501+3A>T

was reclassified as VUS [49]. Several *BRCA2* splice variants retain the ability to produce partially in-frame transcripts, which might have a residual function: c.7007G>A and c.8486A>G.

Spliceogenic variants are more frequent in *BRCA2*, but naturally occurring

Tab. 10 – continuing. *BRCA2* missense variants detected in Czech patients classified as pathogenic (class 5) and likely pathogenic (class 4).

cDNA level (HGVS nomenclature)	Protein	Number of families	NFE freq. gnom	Align-GVGD	Prior	[reference]: functional defect // Ω mRNA analysis	[reference]: other information	LOVD-IARC class [4] // our class (if different or not specified)
c.8168A>G	p.Asp2723Gly	3	–	0,81	C65	[76]: functional assays: inactivated; [80],[33]: HDR assay: pathogenic // Predicted new donor site Ω [67]; [72]: full length transcript + del of 164 nt from 3' of Ex 18. [50]: full length transcript (69,6%), Ex 18 del-164 (25,9%); ex 18 skipping (4,5%);	[79]: protein likelihood ratio: likely deleterious; [34]: pathogenic; [39]: pathogenic	class 5, pathogenic
c.8350C>T	p.Arg2784Trp	1	0.00090%	0,81	C65	[81]: functional complementation of mouse embryonic stem cells: poor survival, HDR capacity 15%; [33]: HDR assay: pathogenic	[79]: protein likelihood ratio: likely deleterious;	conflicting: class 3; class 4 // class 4, likely pathogenic
c.9004G>A	p.Glu3002Lys	1	–	0,66	C55	[82]: mouse ES cell-based assay: pathogenic; [33]: HDR assay: pathogenic; [81]: Functional complementation of mouse embryonic stem cells: inability to rescue the cell lethality	[79]: protein likelihood ratio: likely deleterious;	class 4, likely pathogenic
c.9154C>T	p.Arg3052Trp	3	0.00090%	0,81	C65	[76]: functional assays: inactivated; [80]: HDR assay: as mutant control // Ω [60]: no aberrant	[79]: protein likelihood ratio: likely deleterious; [34]: pathogenic; [39]: pathogenic	class 5, pathogenic
c.9226G>A	p.Gly3076Arg	1	– // novel	0,81	C65	[33]: HDR assay: pathogenic		– // class 4, likely pathogenic
c.9371A>T	p.Asn3124Ile	16	0.0018%	0,81	C65	[82]: mouse ES cell-based assay: pathogenic; [80],[33]: HDR assay: pathogenic	[79]: protein likelihood ratio: likely deleterious; [34]: likely pathogenic;	class 4, likely pathogenic

cDNA – coding DNA reference sequence, HGVS – Human Genome Variation Society, NFE – non-Finnish European, mRNA – messenger RNA, LOVD – Leiden Open Variation Database, IARC – International Agency for Research on Cancer, HDR – homology directed repair, mouse ES – embryonic stem cells

alternative splicing at the *BRCA1* might influence the significance of mutations in particular regions as well. According to several reports, the relative expression levels of the most abundant alter-

native transcripts $\Delta(9,10)$, $\Delta 11q$ and $\Delta(9,10,11q)$ are tissue-specific, cell-cycle regulated and markedly altered in tumour samples [53]. A few years ago a case was described of a woman iden-

tified with a bi-allelic mutation in *BRCA1* c.[594-2A>C; 2681_2682delAA] without symptoms of Fanconi anaemia, which led to the later revelation that c.594-2A>C was not a high-risk mu-

Tab. 11. *BRCA2* large intragenic rearrangements detected in Czech patients.

<i>BRCA2</i> NM_000059.3) exons affected	HGVS nomenclature	Number of families	Breakpoints; predicted change	LOVD-IARC class [4] // our class (if different or not specified)
deletion of exon 18	c.(7976+1_7977-1)_(8331+1_8332-1)del	1	breakpoints not characterized; detected by CNV analysis and confirmed by MLPA analysis; predicted r.(7977_8331del) => frame-shift	class 5, pathogenic
deletion of exons 19_24	c.(8331+1_8332-1)_(9256+1_9257-1)del	1	breakpoints not characterized; predicted at least: r.(8332_9256del) => frame-shift	class 5, pathogenic
complex rearrangement involving exons 21_27	c.[(8632+1_8633-1)_(8754+1_?)dup, (8886_9195)del, (?_9256+1)_(?1_?)dup]	1	duplication of Ex 21 and duplication from 3' end of Ex 24 to Ex 27 combined with 310bp deletion affecting the coding sequence from exon 22 to 5' end of Ex 24: c.8886_9195del (Fig. 1)	// class 4, likely pathogenic
duplication of exons 22_27	c.(8754+1_8755-1)_(?1_?)dup	1	breakpoints not characterized?	// class 4, likely pathogenic

HGVS – Human Genome Variation Society, LOVD – Leiden Open Variation Database, IARC – International Agency for Research on Cancer, CNV – copy number variations, MLPA – Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification

tation [54]. The spliceogenic effect of c.594-2A>C was confirmed to upregulate viable Δ(9,10) in-frame isoform and a previously described pathogenic mutation specified as causing exon 10 skipping (a truncating alteration) was reclassified as a variant of VUS [54,55]. A naturally occurring isoform Δ(9,10) might be the cause of survival in a Fanconi anaemia-like case with bi-allelic *BRCA1* mutations c.594_597del (localised in exon 10) and p.Arg1699Trp [56]. Therefore we classified our novel frameshift mutation located in exon 10 of the *BRCA1* gene: c.622_625dup as likely pathogenic (class 4), because of the possibility to bypass this truncating mutation by a naturally occurring isoform Δ(9,10) and its putative hypomorphic effect.

The comprehensive description of *BRCA1* alternative splicing is highly relevant for diagnosis, in particular when assessing the impact of *BRCA1* germline variants on splicing. Recently in a consanguineous Danish family with several cases of breast/ovarian cancer a 58-year-old healthy homozygous carrier of the *BRCA1* c.4096+3A>G was identified which led to the reclassification of this splice site mutation to a 'variant of uncer-

tain significance' or even to a 'likely benign variant' [28]. *BRCA1* c.4096+3A>G has been shown to enhance the abundance of the naturally occurring isoforms: skipping of exon 11 and lacking 3309 nucleotides from exon 11 (Δ11q): c.[671_4096del,787_4096del]p.[Ala224_Leu1365del,Ser264_Leu1365del], which was previously assumed to affect function [27]. Currently, there is evidence that in-frame (naturally occurring) alternative transcripts may rescue gene functionality. If the cells are viable to overcome the loss of large segments of the coding sequences in the central part of the *BRCA1* gene in naturally occurring isoforms Δ(9,10), Δ11q and Δ(9,10,11q), it is unlikely that there could be any clinically significant missense mutation in this region. A potentially spliceogenic variant in the *BRCA1* gene c.4675+1G>A was confirmed to have residual full-length transcript [8] (Tab. 2). With the exception of one novel mutation all *BRCA* splice site mutations were characterised at the mRNA level (Tab. 2, 9). Novel *BRCA1* c.4185+1G>C was classified as likely pathogenic (class 4) on the basis of the prediction to cause exon skipping and confirmed exon skipping for several other variants detected in this

splice site: c.4185+1G>T, c.4185+1G>A, c.4185+2T>C, c.4185G>A (Tab. 2).

The use of MLPA to detect large-scale rearrangements is now a standard component of *BRCA1* and *BRCA2* gene testing in the clinical setting even if it is currently also widely used CNV analysis with next generation sequencing (NGS) data available. Genomic rearrangements accounted for 10.4% of all *BRCA* mutations detected in our study – 102 in *BRCA1*, 16 unique (Tab. 4), and only 4 in *BRCA2*, 4 unique (Tab. 11). Several breakpoints in *BRCA1* rearrangements were characterised [8] and a range of several deletions was confirmed by long-range PCR (Tab. 4). Genomic rearrangements are probably frequent in the *BRCA1* gene because of the extremely high density of intronic Alu repeats and the presence of a duplicated promoter region containing a *BRCA1* pseudogene that could provide hotspots for unequal homologous recombination [9]. However, genomic rearrangements in the *BRCA2* gene are very rare in our region. *BRCA2* deletion of exons 22 to 24 was detected by MLPA. The deletion of *BRCA2* exon 18 was originally detected by CNV analysis from NGS data and confirmed on two DNA samples by MLPA analysis. Suspected du-

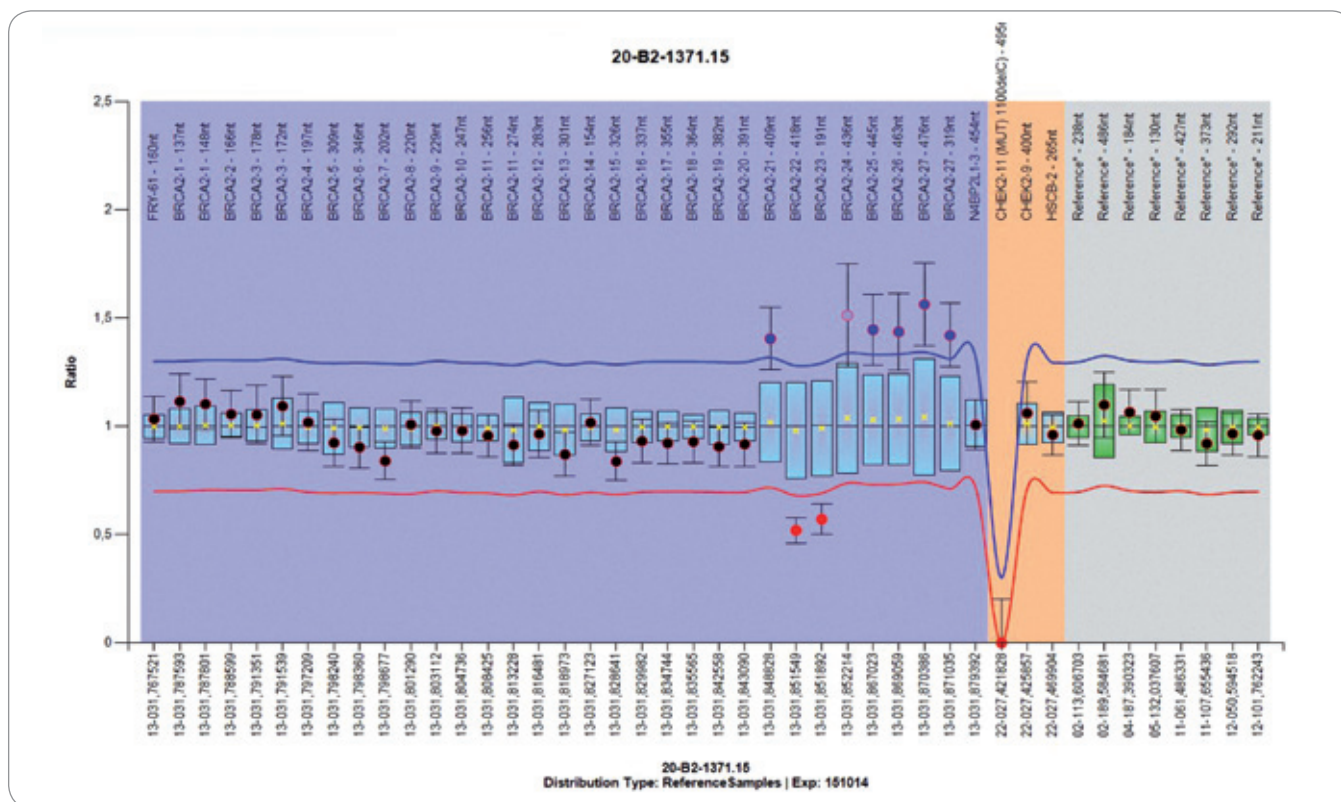


Fig. 1. Results of Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification analysis using the Coffalyser software – family-96 with complex BRCA2 rearrangements (identical profile detected in mother and in her son). Duplication of exon 21 and 3’ end of exon 24 to exon 27 combined with deletion affecting the coding sequence of exons 22 and 5’ end of exon 24: c.8886_9195del310 – confirmed by polymerase chain reaction affecting the coding sequence of exons 21.Forward and exon 24.Reverse) and Sanger sequencing. BRCA2 Probemix P045 (MRC Holland): probe 08267-L23772 of exon 24 (9455-9454 reverse GAAACGACAAAT-CCTATTAGTCC) corresponds to the systematic position c.9227-9228.

plication of BRCA2 exons 22–27 come originally from the Children’s Clinic after comparative genomic hybridisation analysis beyond more 3’ distant region and was confirmed by MLPA. In one of the complex BRCA2 rearrangements we have not been able to reveal the exact character of the changes (Fig. 1). MLPA analysis revealed a duplication of exon 21; deletion of exons 22 and 23 followed by duplication of exons 24 to exon 27. The deleted sequence was confirmed by PCR amplification and Sanger sequencing as c.8886_9195del310. The same MLPA profile (and CNV profile) was detected in two individuals – in a mother and in her son. Probably all detected BRCA2 rearrangements are novel, not reported in public databases from other populations.

We may discuss whether MLPA will remain the standard technology to detect CNVs. Has it ever evaluated whether the

data generated by the NGS panel are robust enough to evaluate CNVs?

During the 20 years of BRCA analysis a number of variants, which were originally reported as of VUS, was gradually reclassified as likely benign or benign (supplementary Tab. 6, 7, 12, 13). As soon as information confirming the neutrality of any missense or intronic variant was available, we ceased to register their frequency and stopped reporting them. Reports indicate that common polymorphisms have not been included in the report and clinicians may not be aware of what common polymorphisms are in our population. Our clinicians were always informed when a variant was reclassified as pathogenic, but they were not always aware of the fact of neutrality. The laboratory’s interpretation has always been dependent on the information available at the time of the conclusion of the report. Thus, we decided to publish all detected

variants, even those already confirmed as neutral. This can serve clinicians in our region to review data in the patient records.

Some variants of VUS could not be classified unequivocally recently. Several new potentially significant missense variants have been detected for further analysis. The limited number of individual variants and lack of experimental validation lead to inconclusive interpretations but data sharing can help to speed up clarification of significance for some of them. Functional studies of potentially significant variants and population-level data with accurate phenotyping will improve variant classification and reduce uncertainties in future. By understanding more about the VUS interpretation, clinicians can help navigate medical decision-making using the best available information and become comfortable with accepting the fact that many DNA results cannot be interpreted with the tools and data available today.

Thanks to the technical laboratory staff at the MMCI involved in laboratory analysis: Hana Pavlu, Jitka Kuklova, Veronika Kosinova, Zuzana Juraskova and Marcela Macku. Thanks to other genetic counselling centres in the Czech Republic participating in the recruitment of patients examined in the MMCI: Institute of Biology and Medical Genetics of the 2nd Faculty of Medicine and Faculty Hospital Motol in Prague; Department of Medical Genetics, Thomayer Hospital in Prague; Department of Medical Genetics, Faculty Hospital Hradec Kralove; Department of Medical Genetics, Faculty Hospital Olomouc; Department of Medical Genetics, Faculty Hospital Ostrava; Department of Medical Genetics, Faculty Hospital Brno; Department of Clinical Genetics, Hospital Ceske Budejovice, Department of Clinical Genetics, Masaryk Hospital Usti nad Labem; and other genetic counsellors from different regions of the Czech Republic.

Děkujeme laborantkám MOÚ, které se podílely na laboratorních analýzách: Hana Pavlů, Jitka Kuklová, Veronika Kosinová, Zuzana Jurášková, Marcela Macků. Děkujeme lékařům ostatních genetických pracovišť v České republice, kteří se podíleli na indikaci pacientů vyšetřovaných v MOÚ: Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol v Praze; Klinika lékařské genetiky Thomayerovy nemocnice v Praze; Klinika lékařské genetiky FN Hradec Králové; Klinika lékařské genetiky FN Olomouc; Klinika lékařské genetiky FN Ostrava; Oddělení lékařské genetiky FN Brno; Klinika klinické genetiky Nemocnice České Budějovice; Klinika klinické genetiky Masarykovy nemocnice Usti nad Labem; a další genetici poradci z různých oblastí České republiky.

References

1. Maxwell KN, Domchek SM, Nathanson KL et al. Population frequency of germline BRCA1/2 mutations. *J Clin Oncol* 2016; 34(34): 4183–4185. doi: 10.1200/JCO.2016.67.0554.
2. Manickam K, Buchanan AH, Schwartz MLB et al. Exome sequencing-based screening for BRCA1/2 expected pathogenic variants among adult biobank participants. *JAMA Netw Open* 2018; 1(5): e182140. doi:10.1001/jamanetworkopen.2018.2140.
3. Kuchenbaecker KB, Hopper JL, Barnes DR et al. Risks of breast, ovarian, and contralateral breast cancer for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *JAMA* 2017; 317(23): 2402–2416. doi: 10.1001/jama.2017.7112.
4. 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.
5. Richards CS, Bale S, Bellissimo DB et al. ACMG recommendations for standards for interpretation and reporting of sequence variations: Revisions 2007. *Genet Med* 2008; 10(4): 294–300. doi: 10.1097/GIM.0b013e31816b5cae.
6. Enigma consortium.org. Evidence-based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles: ENIGMA criteria. [online]. Available from: <https://enigmaconsortium.org/library/general-documents/enigma-classification-criteria>.
7. Foretova L, Machackova E, Palacova M et al. Recommended extension of indication criteria for genetic testing of BRCA1 and BRCA2 mutations in hereditary breast and ovarian cancer syndrome. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 1): 9–13. doi: 10.14735/amko201659.
8. 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.
9. Vasicckova P, Machackova E, Lukesova M et al. High occurrence of BRCA1 intragenic rearrangements in here-

- ditary breast and ovarian cancer syndrome in the Czech Republic. *BMC Med Genet* 2007; 8: 32. doi: 10.1186/1471-2350-8-32.
10. Machackova E, Hazova J, Stahlova Hrabincova E et al. Retrospective NGS study in high-risk hereditary cancer patients at Masaryk Memorial Cancer Institute. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 1): 35–45. doi: 10.14735/amko2016535.
11. Soukupova J, Zemankova P, Lhotova K et al. Validation of CZECA (CZEch CAncer paNel for Clinical Application) for targeted NGS-based analysis of hereditary cancer syndromes. *PLoS One* 2018; 13(4): e0195761. doi: 10.1371/journal.pone.0195761.
12. HGVS.org. Human Genome Variation Society. [online]. Available from: <http://varnomen.hgvs.org/>.
13. den Dunnen JT, Dalgleish R, Maglott DR et al. HGVS recommendations for the description of sequence variants: 2016 update. *Hum Mutat* 2016; 37(6): 564–569. doi: 10.1002/humu.22981.
14. NNSplice. BDGP Splice Site Prediction by Neural Network, National Human Genome Research Institute. [online]. Available from: http://www.fruitfly.org/seq_tools/splice.html.
15. NetGene2. Technical University of Denmark, DTU Bioinformatics. [online]. Available from: <http://www.cbs.dtu.dk/services/NetGene2/>.
16. GeneSplicer. University of Maryland, CBCB: Centre for Bioinformatics and Computational Biology. [online]. Available from: http://www.cbcb.umd.edu/software/GeneSplicer/gene_spl.shtml.
17. MaxEntScan. Massachusetts Institute of Technology, Burge Laboratory web server. [online]. Available from: http://genes.mit.edu/burgelab/maxent/Xmaxentscan_scoreseq.html.
18. SpliceSiteFinder-like. Aix-Marseille University, Bioinformatics and Genetics Team, Human Splicing Finder. [online]. Available from: <http://www.umd.be/HSF3/HSF.shtml>.
19. 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. doi: 10.1002/gcc.10221.
20. Baert A, Machackova E, Coene I et al. Thorough in silico and in vitro cDNA analysis of 21 putative BRCA1 and BRCA2 splice variants and a complex tandem duplication in BRCA2 allowing the identification of activated cryptic splice donor sites in BRCA2 exon 11. *Hum Mutat* 2018; 39(4): 515–526. doi: 10.1002/humu.23390.
21. Align-GVGD. Huntsman Cancer Institute University of Utah. [online]. Available from: <http://agvgd.hci.utah.edu>.
22. Vallée MP, Di Sera TL, Nix DA et al. Adding in silico assessment of potential splice aberration to the integrated evaluation of BRCA gene unclassified variants. *Hum Mutat* 2016; 37(7): 627–639. doi: 10.1002/humu.22973.
23. PROVEAN. Protein Variation Effect Analyser, J. Craig Venter Institute. [online]. Available from: http://provean.jcvi.org/seq_submit.php.
24. Choi Y, Chan AP. PROVEAN web server: a tool to predict the functional effect of amino acid substitutions and indels. *Bioinformatics* 2015; 31(16): 2745–2747. doi: 10.1093/bioinformatics/btv195.
25. Kapanos C, Tsiolkas V, Kouris A et al. VarSome: the human genomic variant search engine. *Bioinformatics* 2019; 35(11): 1978–1980. doi: 10.1093/bioinformatics/bty897.
26. Meeks HD, Song H, Michalidou K et al. BRCA2 polymorphic stop codon K3326X and the risk of breast, prostate, and ovarian cancers. *J Nat Cancer Inst* 2016; 108(2): djv315. doi: 10.1093/jnci/djv315.
27. Wappenschmidt B, Becker AA, Hauke J et al. Analysis of 30 putative BRCA1 splicing mutations in hereditary breast and ovarian cancer families identifies exonic splice site mutations that escape in silico prediction. *PLoS One* 2012; 7(12): e50800. doi: 10.1371/journal.pone.0050800.
28. Byrjalsen A, Steffensen AY, Hansen TO et al. Classification of the spliceogenic BRCA1 c.4096+3A>G variant

- as likely benign based on cosegregation data and identification of a healthy homozygous carrier. *Clin Case Rep* 2017; 5(6): 876–879. doi: 10.1002/ccr3.944.
29. Hoffman JD, Hallam SE, Venne VL, Lyon E et al. Implications of a novel cryptic splice site in the BRCA1 gene. *Am J Med Genet* 1998; 2; 80(2): 140–144.
30. Sanz DJ, Acedo A, Infante M et al. A high proportion of DNA variants of BRCA1 and BRCA2 is associated with aberrant splicing in breast/ovarian cancer patients. *Clin Cancer Res* 2010; 16(6):1957–1967. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2564.
31. Spurdle AB, Whitley PJ, Thompson B et al. BRCA1 R1699Q variant displaying ambiguous functional abrogation confers intermediate breast and ovarian cancer risk. *J Med Genet* 2012; 49(8): 525–532. doi: 10.1136/jmedgenet-2012-101037.
32. Thompson ME. BRCA1 16 years later: nuclear import and export processes. *FEBS J* 2010; 277(15): 3072–3078. doi: 10.1111/j.1742-4658.2010.07733.x.
33. Guidugli L, Shmelis H, Masica DL et al. Assessment of the clinical relevance of BRCA2 missense variants by functional and computational approaches. *Am J Hum Genet* 2018; 102(2): 233–248. doi: 10.1016/j.ajhg.2017.12.013.
34. Lindor MN, 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 Jan; 33(1): 8–21. doi: 10.1002/humu.21627.
35. Morris JR, Pangon L, Boutell C, et al. Genetic analysis of BRCA1 ubiquitin ligase activity and its relationship to breast cancer susceptibility. *Hum Mol Genet* 2006; 15(4): 599–606. doi: 10.1093/hmg/ddi476.
36. Sarkar M, Magliery TJ. Re-engineering a split-GFP reassembly screen to examine RING-domain interactions between BARD1 and BRCA1 mutants observed in cancer patients. *Mol Biosyst* 2008; 4(6): 599–605. doi: 10.1039/b802481b.
37. Machackova E, Damborsky J, Valik D et al. Novel germline BRCA1 and BRCA2 mutations in breast and breast/ovarian cancer families from the Czech Republic. *Hum Mutat* 2001; 18(6): 545. doi: 10.1002/humu.1232.
38. Tavtigian SV, Deffenbaugh AM, Yin L et al. Comprehensive statistical study of 452 BRCA1 missense substitutions with classification of eight recurrent substitutions as neutral. *J Med Genet* 2006; 43(4): 295–305. doi: 10.1136/jmg.2005.033878.
39. Shmelis H, Mesman RLS, Von Nicolai C et al. BRCA2 hypomorphic missense variants confer moderate risks of breast cancer. *Cancer Res* 2017; 77(11): 2789–2799. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2568.
40. Thomassen M, Blanco A, Montagna M et al. Characterization of BRCA1 and BRCA2 splicing variants: a collaborative report by ENIGMA consortium members. *Breast Cancer Res Treat*; 132(3): 1009–1023. doi: 10.1007/s10549-011-1674-0.
41. Chen CF, Li S, Chen Y et al. The nuclear localization sequences of the BRCA1 protein interact with the importin-alpha subunit of the nuclear transport signal receptor. *J Biol Chem* 1996; 271(51): 32863–32868. doi: 10.1074/jbc.271.51.32863.
42. Spain BH, Larson CJ, Shihabuddin LS et al. Truncated BRCA2 is cytoplasmic: implications for cancer-linked mutations. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96(24): 13920–13925. doi: 10.1073/pnas.96.24.13920.
43. Tram E, Savas S, Ozcelik H. Missense variants of uncertain significance (VUS) altering the phosphorylation patterns of BRCA1 and BRCA2. *PLoS* 2013; 8(5): e62468. doi: 10.1371/journal.pone.0062468.
44. Svojkř K, Sumerauer D, Puchmajerova A et al. Fanconi anemia with biallelic FANCD1/BRCA2 mutations – case report of a family with three affected children. *Eur J Med Genet* 2016; 59(3): 152–157. doi: 10.1016/j.ejmg.2015.11.013.

45. Reid S, Renwick A, Seal S et al. Biallelic BRCA2 mutations are associated with multiple malignancies in childhood including familial Wilms tumour. *J Med Genet* 2005; 42(2): 147–51. doi: 10.1136/jmg.2004.022673.
46. Offit K, Levran O, Mullaney B et al. Shared genetic susceptibility to breast cancer, brain tumors, and Fanconi anemia. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95(20): 1548–1551. doi: 10.1093/jnci/djg072.
47. Fackenthal JD, Yoshimatsu T, Zhang B et al. Naturally occurring BRCA2 alternative mRNA splicing events in clinically relevant samples. *J Med Genet* 2016; 53(8): 548–558. doi: 10.1136/jmedgenet-2015-103570.
48. Thirthagiri E, Klarmann KD, Shukla AK et al. BRCA2 minor transcript lacking exons 4–7 supports viability in mice and may account for survival of humans with a pathogenic biallelic mutation. *Hum Mol Genet* 2016; 25(10): 1934–1945. doi: 10.1093/hmg/ddw066.
49. Acedo A, Hernández-Moro C, Curiel-García A et al. Functional classification of BRCA2 DNA variants by splicing assays in a large minigene with 9 exons. *Hum Mutat* 2015; 36(2): 210–221. doi: 10.1002/humu.22725.
50. Fraile-Bethencourt E, Díez-Gómez B, Velásquez-Zapata V et al. Functional classification of DNA variants by hybrid minigenes: identification of 30 spliceogenic variants of BRCA2 exons 17 and 18. *PLoS Genet* 2017; 13(3): e1006691. doi: 10.1371/journal.pgen.1006691.
51. Fraile-Bethencourt E, Valenzuela-Palomo A, Díez-Gómez B et al. Identification of eight spliceogenic variants in BRCA2 exon 16 by minigene assays. *Front Genet* 2018; 9: 188. doi: 10.3389/fgene.2018.00188.
52. Colombo M, De Vecchi G, Caleca L et al. Comparative in vitro and in silico analyses of variants in splicing regions of BRCA1 and BRCA2 genes and characterization of novel pathogenic mutations. *PLoS One* 2013; 8(2): e57173. doi: 10.1371/journal.pone.0057173.
53. Colombo M, Blok MJ, Whiley P et al. Comprehensive annotation of splice junctions supports pervasive alternative splicing at the BRCA1 locus: a report from the ENIGMA consortium. *Hum Mol Genet* 2014; 23(14): 3666–3680. doi: 10.1093/hmg/ddu075.
54. Wong-Brown M, McPhillips M, Gleeson M et al. When is a mutation not a mutation: the case of the c.594-2A>C splice variant in a woman harbouring another BRCA1 mutation in trans. *Hered Cancer Clin Pract* 2016; 14: 6. doi: 10.1186/s13053-015-0045-y.
55. de la Hoya M, Soukariéh O, López-Perolio I et al. Combined genetic and splicing analysis of BRCA1 c.[594-2A>C; 641A>G] highlights the relevance of naturally occurring in-frame transcripts for developing disease gene variant classification algorithms. *Hum Mol Genet* 2016; 25(11): 2256–2268. doi: 10.1093/hmg/ddw094.
56. Sawyer SL, Tian L, Kähkönen M et al. Biallelic mutations in BRCA1 cause a new Fanconi anemia subtype. *Cancer Discov* 2015; 5(2): 135–142. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-1156.
57. Steffensen AY, Dandanel M, Jønson L et al. Functional characterization of BRCA1 gene variants by mini-gene splicing assay. *Eur J Hum Genet* 2014; 22(12): 1362–1368. doi: 10.1038/ejhg.2014.40.
58. Whiley PJ, Guidugli L, Walker LC et al. Splicing and multifactorial analysis of intronic BRCA1 and BRCA2 sequence variants identifies clinically significant splicing aberrations up to 12 nucleotides from the intron/exon boundary. *Hum Mutat* 2011; 32(6): 678–687. doi: 10.1002/humu.21495.
59. 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-predisposition genes. *Am J Hum Genet* 2007; 81(5): 873–883. doi: 10.1086/521032.
60. Walker LC, Whiley PJ, Couch FJ et al. Detection of splicing aberrations caused by BRCA1 and BRCA2 sequence variants encoding missense substitutions: implications for prediction of pathogenicity. *Hum Mutat* 2010; 31(6): E1484–E1505. doi: 10.1002/humu.21267.
61. Rebbeck TR, Friebel TM, Friedman E et al. Mutational spectrum in a worldwide study of 29,700 families with BRCA1 or BRCA2 mutations. *Hum Mutat* 2018; 39(5): 593–620. doi: 10.1002/humu.23406.
62. Menéndez M, Castellsagué J, Mirete M et al. Assessing the RNA effect of 26 DNA variants in the BRCA1 and BRCA2 genes. *Breat Cancer Res Treat* 2012; 132(3): 979–992. doi: 10.1007/s10549-011-1661-5.
63. Sweet K, Senter L, Pilarski R et al. Characterization of BRCA1 ring finger variants of uncertain significance. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 119(3): 737–743. doi: 10.1007/s10549-009-0438-6.
64. Thouvenot P, Ben Yamin B, Fourrière L et al. Functional assessment of genetic variants with outcomes adapted to clinical decision-making. *PLoS Genet* 2016; 12(6): e1006096. doi: 10.1371/journal.pgen.1006096.
65. Lee MS, Green R, Marsillac SM et al. Comprehensive analysis of missense variations in the BRCT domain of BRCA1 by structural and functional assays. *Cancer Res* 2010; 70(12): 4880–4890. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4563.
66. Vallon-Christersson J, Cayanán C, Haraldsson K et al. Functional analysis of BRCA1 C-terminal missense mutations identified in breast and ovarian cancer families. *Hum Mol Genet* 2001; 10(4): 353–360. doi: 10.1093/hmg/10.4.353.
67. Houdayer C, Caux-Moncoutier V, Krieger S et al. Guidelines for splicing analysis in molecular diagnosis derived from a set of 327 combined in silico/in vitro studies on BRCA1 and BRCA2 variants. *Hum Mutat* 2012; 33(8): 1228–1238. doi: 10.1002/humu.22101.
68. Tavtigian SV, Byrnes GB, Goldgar DE et al. Classification of rare missense substitutions, using risk surfaces, with genetic- and molecular-epidemiology applications. *Hum Mutat* 2008; 29(11): 1342–1354. doi: 10.1002/humu.20896.
69. Preisler-Adams S, Schönbuchner I, Fiebig B et al. Gross rearrangements in BRCA1 but not BRCA2 play a notable role in predisposition to breast and ovarian cancer in high-risk families of German origin. *Cancer Genet Cytogenet* 2005; 168(1): 44–49. doi: 10.1016/j.cancergen.2005.07.005.
70. Judkins T, Hendrickson BC, Deffenbaugh AM et al. Application of embryonic lethal or other obvious phenotypes to characterize the clinical significance of genetic variants found in trans with known deleterious mutations. *Cancer Res* 2005; 65(21): 10096–10103. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1241.
71. Liu J, Pan Y, Ma B et al. “Similarity trap” in protein-protein interactions could be carcinogenic: simulations of p53 core domain complexed with 53BP1 and BRCA1 BRCT domains. *Structure* 2006; 14(12): 1811–1821. doi: 10.1016/j.str.2006.10.009.
72. Théry JC, Krieger S, Gaildrat P et al. Contribution of bioinformatics predictions and functional splicing assays to the interpretation of unclassified variants of the BRCA genes. *Eur J Hum Genet* 2011; 19(10): 1052–1058. doi: 10.1038/ejhg.2011.100.
73. Bonnet C, Krieger S, Vezain M et al. Screening BRCA1 and BRCA2 unclassified variants for splicing mutations using reverse transcription PCR on patient RNA and an ex vivo assay based on a splicing reporter minigene. *J Med Genet* 2008; 45(7): 438–446. doi: 10.1136/jmg.2007.056895.
74. Bonatti F, Pepe C, Tancredi M et al. RNA-based analysis of BRCA1 and BRCA2 gene alterations. *Cancer Genet Cytogenet* 2006; 170(2): 93–101. doi: 10.1016/j.cancergen.2006.05.005.
75. Heramb C, Wangenstee T, Grindedal EM et al. BRCA1 and BRCA2 mutation spectrum – an update on mutation distribution in a large cancer genetics clinic in Norway. *Hered Cancer Clin Pract* 2018; 16: 3. doi: 10.1186/s13053-017-0085-6.
76. Farrugia DJ, Agarwal MK, Pankratz VS, et al. Functional assays for classification of BRCA2 variants of uncertain significance. *Cancer Res* 2008; 68(9): 3523–3531. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-1587.
77. Biswas K, Das R, Alter BP et al. A comprehensive functional characterization of BRCA2 variants associated with Fanconi anemia using mouse ES cell-based assay. *Blood* 2011; 118(9): 2430–2442. doi: 10.1182/blood-2010-12-324541.
78. Pölsler L, Fiegl H, Wimmer K et al. High prevalence of BRCA1 stop mutation c.4183C>T in the Tyrolean population: implications for genetic testing. *Eur J Hum Genet* 2016; 24(2): 258–262. doi: 10.1038/ejhg.2015.108.
79. Karchin R, Agarwal M, Andrej Sali A et al. Classifying variants of undetermined significance in BRCA2 with protein likelihood ratios. *Cancer Inform* 2008; 6: 203–216.
80. Guidugli L, Carreira A, Caputo SM et al. Functional assays for analysis of variants of uncertain significance in BRCA2. *Hum Mutat* 2014; 35(2): 151–164. doi: 10.1002/humu.22478.
81. Mesman RL, Calléja FM, Hendriks G et al. The functional impact of variants of uncertain significance in BRCA2. *Genet Med* 2019; 21(2): 293–302. doi: 10.1038/s41436-018-0052-2.
82. Biswas K, Das R, Eggington JM et al. Functional evaluation of BRCA2 variants mapping to the PALB2-binding and C-terminal DNA-binding domains using a mouse ES cell-based assay. *Hum Mol Genet* 2012; 21(18): 3993–4006. doi: 10.1093/hmg/dds222.
83. Muller D, Rouleau E, Schultz I et al. An entire exon 3 germ-line rearrangement in the BRCA2 gene: pathogenic relevance of exon 3 deletion in breast cancer predisposition. *BMC Med Genet* 2011; 12: 121. doi: 10.1186/1471-2350-12-121.
84. Colombo M, López-Perolio I, Meeks HD et al. The BRCA2 c.687T > A variant is not pathogenic: a model for clinical calibration of spliceogenicity. *Hum Mutat* 2018; 39(5): 729–741. doi: 10.1002/humu.23411.
85. Joosse SA, Brandwijk KI, Devilee P et al. Prediction of BRCA2-association in hereditary breast carcinomas using array-CGH. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 132(2): 379–389. doi: 10.1007/s10549-010-1016-7.

Článek včetně kompletních příloh naleznete na www.linkos.cz.

Přínos masivního paralelního sekvenování pro diagnostiku dědičných forem nádorů ovaria v České republice

Contribution of Massive Parallel Sequencing to Diagnosis of Hereditary Ovarian Cancer in the Czech Republic

Soukupová J.¹, Lhotová K.¹, Zemánková P.¹, Vočka M.², Janatová M.¹, Stolařová L.¹, Borecká M.¹, Kleiblová P.³, Macháčková E.⁴, Foretová L.⁴, Koudová M.⁵, Lhota F.⁵, Tavandzis S.⁶, Zikán M.⁷, Stránecký V.⁸, Veselá K.³, Panczak A.^{3,9}, Kotlas J.³, 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 epidemiologie a genetiky nádorů, Masarykův onkologický ústav, Brno

⁵ Centrum lékařské genetiky a reprodukční medicíny GENNET, Praha

⁶ Oddělení lékařské genetiky, Laboratoře AGEL, Nový Jičín

⁷ Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a Nemocnice na Bulovce, Praha

⁸ Ústav dědičných metabolických poruch, 1. LF UK a VFN v Praze

⁹ Radioterapeutická a onkologická klinika FN Královské Vinohrady, Praha

Souhrn

Východiska: Karcinom ovaria, závažné nádorové onemocnění s vysokou mortalitou, je v České republice diagnostikováno každým rokem přibližně u 1 000 žen. Riziko vzniku onemocnění je zvýšeno u nosiček mutací v některých nádorových predispozičních genech. S vysokým relativním rizikem (RR > 5) jsou spojeny mutace v genech *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, geny Lynchova syndromu, *RAD51C*, *RAD51D*, *STK11*; s možným zvýšením rizika mutace v genech *ATM*, *CHEK2*, *NBN*, *PALB2*, *BARD1*. Cílem práce bylo určit frekvenci mutací v nádorových predispozičních genech v naší populaci. **Metody a výsledky:** Celkem 1 057 pacientek s karcinomem ovaria a 617 nenádorových kontrol bylo vyšetřeno pomocí panelového sekvenování nové generace na platformě Illumina. Patogenní mutace ve vysoko rizikových genech, vč. velkých genomových přestaveb, byly v našem souboru zachyceny u 30,6 % pacientek; u neselektovaných pacientek byla frekvence mutací téměř 25 %, u pacientek s negativní rodinnou anamnézou 18 %. Nejčastěji mutovanými predispozičními geny byly *BRCA1* a *BRCA2*, součet frekvence mutací v ostatních ovariálních predispozičních genech odpovídal frekvenci mutací v genu *BRCA2*. Záchyt mutací u pacientek starších 70 let byl více než třikrát vyšší v porovnání s pacientkami ve věku pod 30 let. **Závěr:** Karcinom ovaria je heterogenní onemocnění s vysokým podílem dědičné formy onemocnění. Vzhledem k nedostatku adekvátních screeningových modalit pro včasnou diagnostiku onemocnění je identifikace nosiček mutací v ovariálních predispozičních genech klíčová, s vysokým potenciálem k celkovému snížení mortality z důvodu karcinomu ovaria.

Klíčová slova

karcinom ovaria – nádorové geny – mutace – masivní paralelní sekvenování – sekvenování nové generace – panel genů

Tato práce byla podpořena grantem AZV 15-27695A, SVV2019/260367, PROGRES Q28/LF1.

This work was supported by grants AZV 15-27695A, SVV2019/260367, PROGRES Q28/LF1.

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. Jana Soukupová, Ph.D.

Ústav biochemie a experimentální onkologie

1. LF UK v Praze

U Nemocnice 5

128 53 Praha 2

e-mail: jproko@lf1.cuni.cz

Obdrženo/Submitted: 7. 3. 2019

Přijato/Accepted: 24. 4. 2019

doi: 10.14735/amko2019572

Summary

Background: Ovarian cancer is a disease with high mortality. Approximately 1,000 women are diagnosed with ovarian cancer in the Czech Republic annually. Women harboring a mutation in cancer-predisposing genes face an increased risk of tumor development. Mutations in *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, and Lynch syndrome genes (*RAD51C*, *RAD51D*, and *STK11*) are associated with a high risk of ovarian cancer, and mutations in *ATM*, *CHEK2*, *NBN*, *PALB2*, and *BARD1* appear to increase the risk. Our aim was to examine the frequency of mutations in cancer-predisposing genes in the Czech Republic. **Materials and methods:** We analyzed 1,057 individuals including ovarian cancer patients and 617 non-cancer controls using CZEKANCA panel next-generation sequencing on the Illumina platform. Pathogenic mutations in high-risk genes, including CNVs, were detected in 30.6% of patients. The mutation frequency reached 25.0% and 18.2% in subgroups of unselected ovarian cancer patients and patients with a negative family cancer history, respectively. The most frequently mutated genes were *BRCA1* and *BRCA2*. The overall frequency of mutations in non-*BRCA* genes was comparable to that in *BRCA2*. The mutation frequency in ovarian cancer patients aged >70 years was three times higher than that in patients diagnosed before the age of 30. **Conclusion:** Ovarian cancer is a heterogeneous disease with a high proportion of hereditary cases. The lack of efficient screening for early diagnosis emphasizes the importance of identifying carriers of mutations in ovarian cancer-predisposing genes; this is because proper follow-up and prevention strategies can reduce overall ovarian cancer-related mortality.

Key words

ovarian neoplasms – cancer genes – mutation – massively-parallel sequencing – next generation sequencing – gene panel

Úvod

Karcinom ovaria patří mezi závažná nádorová onemocnění žen v ČR. Každým rokem je diagnostikován u přibližně 1 000 žen a zhruba 700 žen tomuto onemocnění podlehe [1]. Incidence ovariálního karcinomu stoupá s věkem a nejvyšší prevalence dosahuje mezi 6. a 7. dekadou. Celoživotní riziko rozvoje ovariálního karcinomu v běžné populaci se u žen pohybuje kolem 1,5 %, avšak je významně zvýšeno u nosiček zárodečných mutací v některých nádorových predispozičních genech.

Dědičná forma karcinomu ovaria představuje přibližně 20 % případů, tedy významně více než u jiných běžných typů nádorů. V současné době jsou proto ke genetickému vyšetření indikovány všechny pacientky s karcinomem ovaria (ale i vejcovodů a primárního peritoneálního karcinomu) bez ohledu na věk. Identifikace mutací predisponujících ke vzniku karcinomu ovaria umožňuje nabídnout nosičkám odpovídající léčebnou strategii a genetické poradenství a je podmínkou cílené preventivní péče o asymptomatické osoby s mutací.

Hlavními genetickými faktory dědičné formy karcinomu ovaria jsou, podobně jako u hereditární formy karcinomu prsu, mutace v genech *BRCA1* a *BRCA2*. Celoživotní riziko rozvoje karcinomu ovaria se pohybuje u nosiček mutací v genu *BRCA1* mezi 35–60 %, u nosiček mutací v *BRCA2* mezi 12–25 % [2,3]. Ačkoliv je klinický význam mutací v *BRCA1/2* vysoký, nevysvětluje všechny případy fa-

miliárních forem onemocnění. Zvýšené riziko vzniku karcinomu ovaria bylo prokázáno i u nosiček mutací v dalších genech kódujících proteiny, které se podobně jako *BRCA1* a *BRCA2* podílejí na reparaci dvouřetězcových zlomů DNA cestou homologní rekombinace. V současné době existují klinická doporučení zohledňující zvýšené riziko vzniku karcinomu ovaria u nosiček mutací v 10 genech (*BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *EPCAM*, *MSH2*, *MLH1*, *MSH6*, *RAD51C*, *RAD51D*, *STK11*) a zvýšené riziko vzniku karcinomu prsu pro 12 genů (*ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CDH1*, *CHEK2*, *NBN*, *NF1*, *PALB2*, *PTEN*, *STK11*, *TP53*) [4].

V porovnání s četností mutací v genech *BRCA1/2* je frekvence mutací v dalších predispozičních genech výrazně (často řádově) nižší a významně se liší mezi populacemi. Postupná analýza jednotlivých genů je z důvodu značné finanční a časové náročnosti v praxi nepoužitelná. K dramatické změně možností diagnostiky došlo s rozvojem sekvenování nové generace (next generation sequencing – NGS), jež umožnilo vyšetření většího počtu genů v krátké době při příznivých ekonomických nákladech [5].

Pro diagnostické účely identifikace nádorové predispozice jsme zkonstruovali a validovali univerzální panel CZEKANCA (CZEch CAncer paNel for Clinical Application) [6] pro komplexní, rentabilní a rychlou analýzu germinálních mutací vč. velkých přestavb v hlavních predispozičních genech, ale i v kandidátních genech asociovaných se zvýšeným rizi-

kem vzniku nejčastějších solidních nádorů v naší populaci [7].

Metody

Pomocí panelu CZEKANCA v1.0, který obsahuje sondy cílící na kódující sekvence 219 genů, jsme analyzovali 1 057 pacientek s karcinomem ovaria. Analýza probíhala v laboratořích Ústavu biochemie a experimentální onkologie 1. LF UK v Praze, Masarykova onkologického ústavu v Brně, v laboratořích Gennet v Praze a Agel v Novém Jičíně. Medián věku v době diagnózy byl 52,6 roku (14,8–86,2). Klinické charakteristiky pacientek jsou uvedeny v tab. 1.

Abychom mohli odlišit vzácné patologické a populačně specifické mutace, vyšetřili jsme pomocí stejného panelu genů skupinu 617 zdravých kontrol (jedinci starší 60 let bez osobní a rodinné nádorové anamnézy u přímých příbuzných).

Vzorky genomové DNA izolované z leukocytů periferní krve od pacientů indikovaných ke genetickému vyšetření byly analyzovány podle jednotného protokolu, který zahrnoval i následné bioinformatické zpracování dat [6].

Identifikované zárodečné varianty v genech spojených se syndromem dědičného karcinomu prsu a ovaria byly prioritizovány na základě frekvence výskytu varianty u méně než 1 % vzorků v projektu 1 000 Genomes [8] a současně u méně než 1 % vzorků našich populačních kontrol. Zbývající raritní varianty byly klasifikovány do 5 tříd dle IARC (International Agency for Research on Cancer): 1 – benigní, 2 –

pravděpodobně benigní, 3 – varianta nejasného významu (variant of unknown significance – VUS), 4 – pravděpodobně patogenní, 5 – patogenní. Jako patogenní nebo pravděpodobně patogenní byly dle doporučení ENIGMA (Evidence-based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles) konsorcia [9] označeny varianty vedoucí k předčasnému zkrácení proteinu (nonsense a posunové mutace, velké genomové přestavby, pokud nejsou klasifikovány jinak), mutace postihující konzervativní sestřihová místa a missense mutace klasifikované jako patogenní v databázi ClinVar [10].

V analyzovaném souboru jsme se zaměřili na hodnocení prokazatelně patogenních alterací v genech, ke kterým v současnosti existují klinická doporučení péče o nosičky mutací zohledňující riziko vzniku karcinomu ovaria (*BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *EPCAM*, *MSH2*, *MLH1*, *MSH6*, *RAD51C*, *RAD51D*, *STK11*) a prsu (*ATM*, *BARD1*, *CHEK2*, *NBN*, *PALB2*) [4].

Výsledky

Mutace v genech predisponujících ke vzniku dědičné formy karcinomu ovaria (*BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *EPCAM*, *MSH2*, *MLH1*, *MSH6*, *RAD51C*, *RAD51D*, *STK11*)

Patogenní dědičnou mutaci v některém z genů predisponujících ke karcinomu ovaria jsme identifikovali celkem u 323 z 1 057 (30,6 %) analyzovaných patientek s karcinodem ovaria (tab. 2). Nejvíce patogenních mutací jsme zachytili v hlavních predispozičních genech *BRCA1* (210/1 057; 19,9 %) a *BRCA2* (75/1 057; 7,1 %). Mutace v genech způsobujících Lynchův syndrom byly nalezeny u 9 z 1 057 (0,9 %) patientek. Zbývající 3 % nalezených mutací se rovnoměrně rozdělila mezi 29 nosiček mutací v genech *RAD51C*, *RAD51D*, *BRIP1*. Ve skupině kontrol byly v uvedených genech s prokázanou asociací s karcinodem ovaria zachyceny patogenní mutace pouze u 4 z 617 osob (0,7 %; tab. 2).

Klinické a histopatologické charakteristiky ovlivňující pravděpodobnost výskytu germinálních mutací

S ohledem na osobní onkologickou anamnézu (tab. 3) je nejvyšší pravdě-

Tab. 1. Charakteristika souboru 1 057 patientek s karcinodem ovaria.

	Počet patientek	% ze známých
Věk v době diagnózy		
do 29 let	75	7,2
30–49 let	365	35,2
50–69 let	529	51
> 70 let	68	6,6
není k dispozici	20	
Histologie		
high-grade serózní	375	41,3
serózní, bez určení grade	138	15,2
low-grade serózní	75	8,3
endometrioidní	77	8,5
mucinózní	35	3,9
ze světlých buněk	12	1,3
jiný maligní histologický typ	81	8,9
border-line tumors	121	13,3
není k dispozici	143	
Osobní anamnéza		
pouze karcinom ovaria	817	77,3
karcinom ovaria a prsu	180	17
karcinom ovaria a jiný nádor (mimo karcinom prsu)	60	5,7
Rodinná anamnéza		
bez onkologického onemocnění	495	48,2
karcinom prsu a ovaria v rodině	288	28
karcinom ovaria v rodině	102	9,9
mnohočetný výskyt nádorových onemocnění v rodině	143	13,9
není k dispozici	29	

podobnost výskytu mutací u patientek s duplicitou karcinomu prsu a ovaria, kde mutaci nacházíme u téměř dvou třetin vyšetřovaných (107/180; 59,4 %). U čtvrtiny vyšetřovaných se dědičné mutace vyskytovaly u patientek se solitární diagnózou karcinomu ovaria (203/817; 24,8 %) nebo u patientek, které kromě karcinomu ovaria vyvinuly i jiné nádorové onemocnění (15/60; 25,0 %). Mutace v genech *RAD51C*, *RAD51D* a *BRIP1* převažovaly u patientek s diagnózou so-

litárního ovariálního karcinomu (25/29; 86 %).

Vzhledem k rodinné anamnéze (tab. 3) jsme našli nejvyšší procento mutací u patientek z rodin, ve kterých se vyskytoval pouze karcinom ovaria (55/102; 53,9 %), přičemž mutace téměř výhradně postihovaly geny *BRCA1* (43/55; 78 %) a *BRCA2* (10/55; 18 %). Vysoký výskyt mutací v predispozičních genech jsme zaznamenali i u patientek s rodinným výskytem karcinomu ovaria a prsu

Tab. 2. Frekvence patogenních mutací v genech jasně predisponujících ke vzniku dědičné formy karcinomu ovaria.

	Pacientky; n = 1 057 n (%)	Kontroly; n = 617 n (%)	p
<i>BRCA1</i>	210 (19,9 %)	0	$2,2 \times 10^{-16}$
<i>BRCA2</i>	75 (7,1 %)	4 (0,6 %)	$2,8 \times 10^{-11}$
<i>RAD51C</i>	11 (1,0 %)	0	0,009
<i>BRIP1</i>	9 (0,9 %)	0	0,031
<i>RAD51D</i>	9 (0,9 %)	0	0,031
<i>MLH1</i>	5 (0,5 %)	0	0,031
<i>MSH2</i>	2 (0,2 %)	0	
<i>MSH6</i>	2 (0,2 %)	0	
celkem	323 (30,6 %)	4 (0,6 %)	$2,2 \times 10^{-16}$

(129/288; 44,8 %) a u pacientek s rodinným výskytem karcinomu ovaria a dalších typů nádorů (45/143; 31,5 %). Mutace však byla zachycena i u 18,2 % pacientek s negativní rodinnou anamnézou (90/495), což ve výsledku znamená, že tato skupina zahrnovala více než čtvrtinu nosiček patogenních mutací (90/323; 27,9 %).

Zastoupení histologických typů ovariálních tumorů u nosiček mutací v predispozičních genech ukazuje, že serózní nádory tvoří přibližně dvě třetiny ovariálních karcinomů ve skupinách nosiček s mutacemi v genech predisponujících ke vzniku hereditárního karcinomu ovaria (graf 1). Výjimkou byla malá skupina devíti nosiček mutací v genech Lynchova syndromu, ve které jsme za-

Tab. 3. Výskyt germinálních mutací v genech predisponujících ke vzniku karcinomu ovaria v závislosti na klinických a histopatologických charakteristikách.

	<i>BRCA1</i> (%)	<i>BRCA2</i> (%)	<i>BRIP1,</i> <i>RAD51C,</i> <i>RAD51D</i> (%)	<i>MLH1,</i> <i>MSH2,</i> <i>MSH6</i> (%)	Celkem (%)
Dle osobní anamnézy					
pouze karcinom ovaria (n = 817)	132 (16,2)	43 (5,3)	25 (3,1)	3(0,4)	203 (24,8)
karcinom prsu a ovaria (n = 180)	72 (40,0)	29 (16,1)	3 (1,7)	3 (0,6)	107 (59,4)
karcinom ovaria a jiný nádor mimo karcinom prsu (n = 60)	6 (10,0)	3 (5,0)	1 (1,7)	5 (8,3)	15 (25,0)
Dle rodinné anamnézy					
pouze karcinom ovaria v rodině (n = 102)	43 (42,2)	10 (9,8)	0	2 (2,0)	55 (53,9)
karcinom prsu a ovaria v rodině (n = 288)	86 (29,9)	33 (11,5)	8 (2,8)	2 (0,7)	129 (44,8)
karcinom ovaria a jiný nádor mimo karcinom prsu v rodině (n = 143)	31 (21,7)	11 (7,8)	1 (0,7)	2 (1,4)	45 (31,5)
bez rodinné anamnézy (n = 495)	48 (9,7)	21 (4,2)	18 (3,6)	3 (0,6)	90 (18,2)
není k dispozici (n = 29)	2	0	2	0	4
Dle histologického typu					
high-grade serózní (n = 357)	88 (23,5)	35 (9,3)	12 (3,2)	3 (0,8)	150 (40,0)
serózní bez specifikovaného grade (n = 138)	35 (25,4)	8 (5,8)	5 (3,6)	0	50 (36,2)
low-grade serózní (n = 75)	9 (12,0)	3 (4,0)	1 (1,3)	0	13 (17,3)
endometrioidní (n = 77)	14 (18,2)	2 (2,6)	4 (5,2)	2 (2,6)	26 (36,4)
mucinózní (n = 38)	3 (8,6)	2 (5,7)	0	0	7 (20,0)
ze světlých buněk (n = 12)	1 (8,3)	0	0	1 (8,3)	2 (16,7)
jiný maligní histologický typ (n = 81)	2 (2,5)	1 (1,2)	1 (1,2)	1 (1,2)	9 (11,1)
border-line tumors (n = 121)	34 (28,1)	7 (5,8)	3 (2,5)	0	47 (38,8)
není k dispozici (n = 143)	24 (16,8)	17 (14,0)	3 (2,5)	2 (1,4)	53 (37,1)

znamenal vyšší zastoupení endometroidních nádorů a nádorů ze světlých buněk.

Nejnižší průměrný věk v době diagnózy karcinomu ovaria byl u nosiček vzácných mutací v genu *MSH2* (42,2 roku), následovaly geny *RAD51C* (49,2 roku), *MLH1* (49,9 roku), *BRCA1* (50,3 roku), *RAD51D* (53,9 roku), *BRIP1* (54,4 roku), *BRCA2* (57,6 roku) a *MSH6* (62,0 roku). Výskyt patogenních mutací v uvedených genech byl překvapivě více než trojnásobný u pacientek starších 70 let (14/68; 21,0 %) v porovnání s pacientkami mladšími 30 let (4/75; 6,7 %; $p = 0,01$).

Mutace v genech predisponujících ke vzniku dědičné formy karcinomu prsu (*ATM, BARD1, CHEK2, NBN, PALB2*)

V dalších genech, jejichž mutace jsou spojeny se zvýšeným rizikem vzniku karcinomu prsu a kde bychom mohli předpokládat rovněž zvýšení rizika rozvoje karcinomu ovaria, jsme zachytili patogenní mutace celkem u 36/1 057 (3,4 %) pacientek a 7/617 (1,1 %) kontrol (celkem $p = 0,0037$; tab. 4).

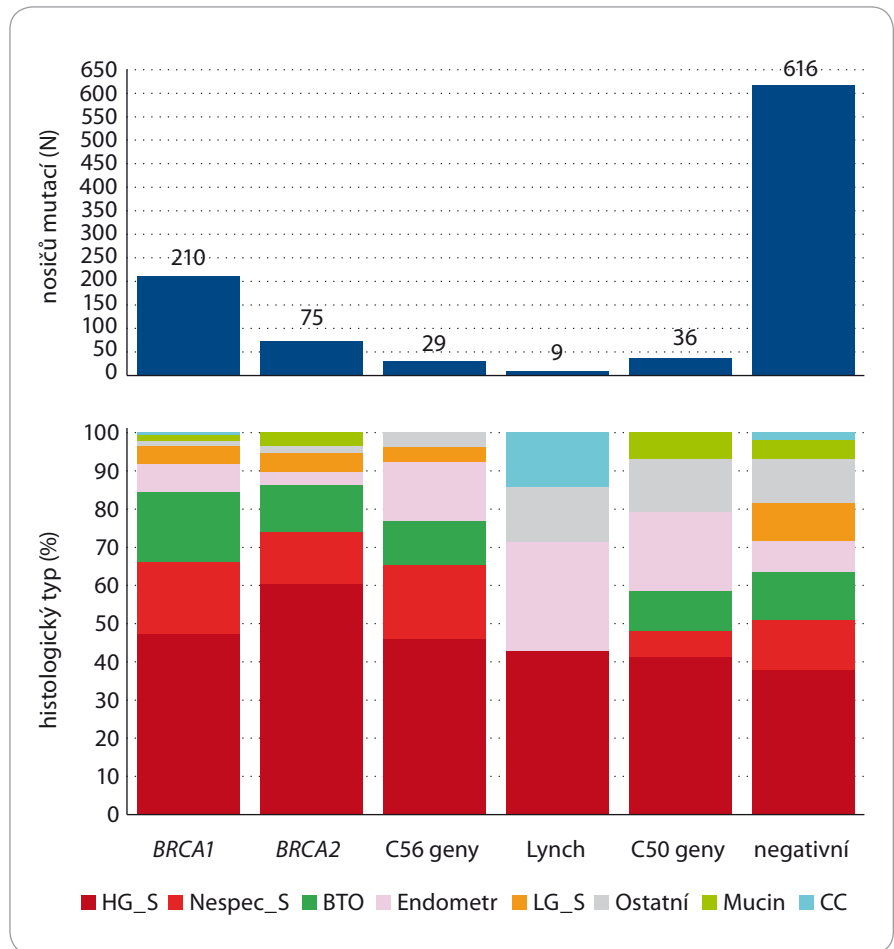
Nejvyšší frekvence mutací v těchto genech jsme našli ve skupině pacientek s diagnózou karcinomu prsu a ovaria v osobní anamnéze (11/180; 6,1 %) a u pacientek z rodin s výskytem pouze karcinomu ovaria (6/102; 5,9 %) (tab. 3). Nejnižší věk v době diagnózy karcinomu ovaria byl u pacientek s mutacemi v genu *CHEK2* (41,8 roku), následován geny *ATM* (49,6 roku), *NBN* (51,1 roku), *BARD1* (54,7 roku) a *PALB2* (61,4 roku).

V dalších genech spojených se syndromem dědičného karcinomu prsu a ovaria – *NF1, PTEN, STK11, TP53, CDH1* – jsme v našem souboru nezachytili žádnou patogenní alteraci.

Více než jedna patogenní mutace v genech spojených se syndromem dědičného karcinomu prsu a ovaria byla nalezena u 7 pacientek (0,66 %, což zahrnovalo heterozygotní nosičky mutací v *BRCA1* a *BRCA2* (2x), *BRCA1* a *NBN* (2x), *BRCA1* a *CHEK2*, *BRCA1* a *ATM*, *BRCA1* a *MLH1*).

Diskuze a závěr

Rozvoj NGS umožňuje paralelní analýzu germinálních mutací řady nádorových



Graf 1. Zastoupení histologických typů u nosiček mutací v predispozičních genech.

Tab. 4. Záchyt mutací v genech predisponujících ke karcinomu prsu.

	Pacientky n = 1 057 (%)	Kontroly n = 617 (%)	
<i>NBN</i>	13 (1,2)	2 (0,3)	
<i>CHEK2</i>	8 (0,8)	1 (0,2)	
<i>PALB2</i>	6 (0,6)	2 (0,3)	
<i>BARD1</i>	5 (0,5)	0	
<i>ATM</i>	4 (0,4)	2 (0,3)	
celkem	36 (3,4)	7 (1,1)	$p = 0,0037$

predispozičních genů. U karcinomu ovaria jsou s prokázaným vysokým rizikem onemocnění (relativní riziko (RR) > 5) v současné době spojeny mutace v genech *BRCA1, BRCA2, BRIP1, RAD51C, RAD51D, STK11, MSH2* a *MLH1*. Analýza může být provedena zároveň u několika desítek pacientů, což vede ke zrychlení diagnostického procesu. Vyšetření roz-

sáhlých populací indikovaných pacientů umožňuje získat dostatečné informace o frekvenci výskytu příčinných mutací v populaci, které jsou nezbytným předpokladem k postupnému zpřesňování rizik spojených se vznikem dědičných nádorů u nosičů mutací v nádorových predispozičních genech. Výskyt mutací v některých nově identifikovaných pre-

dispozičních genech (*BRIP1*, *RAD51C*, *RAD51D* a geny Lynchova syndromu) je však velmi vzácný a k vyhodnocení jejich podílu na vzniku karcinomu ovaria je nezbytná spolupráce diagnostických týmů v ČR i zahraničí. Na základě takto získaných poznatků se dynamicky vyvíjejí nejen indikační kritéria ke genetickému vyšetření, ale i klinická doporučení péče o nosiče patogenních mutací [11].

Z provedených analýz u pacientek s ovariálním karcinomem v ČR vyplývá, že mezi nosiči příčinných mutací v genech s jasně prokázanou asociací se zvýšeným rizikem vzniku ovariálního karcinomu dominují nosičky mutací *BRCA1* a *BRCA2* (88 %). Zbývajících nezanedbatelných 12 % případů v naší populaci představují nosičky mutací v dalších ovariálních predispozičních genech (*BRIP1*, *RAD51C*, *RAD51D* a geny Lynchova syndromu). Z výsledků naší analýzy vyplývají určitá populační specifika v zastoupení mutací v těchto nových predispozičních genech v ČR. Zatímco v naší populaci bylo zastoupení mutací v těchto genech rovnoměrné, práce Norquista et al (USA) popisuje dvojnásobnou frekvenci mutací v genu *BRIP1* (26/1 915; 1,3 %) v porovnání s četností mutací v genech *RAD51C* a *RAD51D* (každý 11/1 915; 0,6 %) [12]. V německé populaci byla popsána frekvence mutací v genu *BRIP1* u pacientek s karcinomem ovaria dokonce 2,6 %, přestože v této studii nebyly hodnoceny velké genomové přestavby [13]. Ve skupině genů spojených s Lynchovým syndromem jsme nejvíce mutací našli v genu *MLH1* (gen *PMS2* nebyl vyšetřován), podobně jako je tomu u pacientů s kolorektálním karcinomem, zatímco v některých pracích jsou u pacientek s karcinomem ovaria popisovány mutace především v genu *MSH6* a *PMS2* [12]. Porovnání výsledků našich analýz s výsledky zahraničních studií však komplikuje skutečnost, že některé studie neanalyzují přítomnost velkých genomových přestaveb v zárodečném genomu, protože jejich identifikace pomocí NGS může být obtížná. V naší práci jsme tyto důležité (a v případě delecí v naprosté většině i patogenní) genetické aberace potvrdili z vyšetření CZECANCA panelem, který byl optimalizován na detekci velkých přestaveb [6],

u 3,1 % (33/1 057) pacientek, a to v genech *BRCA1* (22), *BRIP1* (4), *MLH1* (2), *CHEK2* (4) a *PALB2* (1). V genu *BRIP1* představovaly rozsáhlé delece dokonce polovinu všech nalezených mutací. Četnost velkých genomových přestaveb ukazuje, že jejich analýza musí být nepostradatelnou součástí genetického testování nádorových predispozičních genů.

Podíl alterací v dalších kandidátních predispozičních genech s možným podílem na vzniku karcinomu ovaria (*ATM*, *BARD1*, *CHEK2*, *NBN*, *PALB2*) je srovnatelný s celkovou frekvencí mutací v genech *BRIP1*, *RAD51C*, *RAD51D* a genů Lynchova syndromu.

Záchyt sedmi vícenásobných nosičů patogenních variant v našem souboru ukazuje důležitost genetické konzultace a v indikovaných případech opodstatňuje nové testování pacientek pomocí NGS (u probandů z rodin se závažnou rodinnou onkologickou anamnézou či u pacientek s nádorovými multiplicitami negativně testovaných dříve použitými metodami). Genetická konzultace a následné vyšetření hlavních predispozičních genů jsou indikovány dle současných kritérií pro každou pacientku s karcinomem ovaria, bez ohledu na věk, osobní či rodinnou anamnézu či histologický typ nádoru. Toto doporučení podporují i výsledky naší práce, která analyzuje 1 057 pacientek s karcinomem ovaria, což přibližně odpovídá roční incidenci tohoto onemocnění v ČR (998 případů v roce 2016). Patogenní mutace v genech s jasným klinickým významem pro karcinom ovaria jsme zachytili u 323/1 057 (30,6 %) vyšetřovaných pacientek. Srovnatelnou frekvenci mutací (24 %) popsal Walsh et al [14], avšak v některých studiích byla nalezená frekvence mutací v ovariálních predispozičních genech značně nižší (např. Carter et al 13 %) [15]. Rozdíly ve frekvenci mutací u pacientek s karcinomem ovaria mezi jednotlivými pracemi ilustrují nejen odlišnosti ve výskytu patogenních mutací mezi populacemi, ale i ve výběru analyzovaných pacientek, vyšetřovaných predispozičních genů či typu hodnocených mutací. Naš soubor byl obohacen o mladé pacientky a pacientky s pozitivní rodinnou anamnézou. Zatímco frekvence mutací u nemocných

před rokem 2010 přesahovala 40 %, po rozšíření indikačních kritérií v roce 2015 [16–19] bylo u 334 pacientek analyzovaných na 1. LF UK zachyceno 83 nosiček mutací (25 %). U neselektovaných, prospektivně testovaných vzorků analyzovaných ve spolupracujících laboratořích zahrnutých v našem souboru pacientek byly zachyceny patogenní mutace u 33/156 (21,2 %) nemocných. Lze tedy obecně konstatovat, že přibližně každá čtvrtá pacientka s karcinomem ovaria v naší populaci je nosičkou patogenní mutace v klinicky významném genu s prokázaným vysokým rizikem vzniku ovariálního karcinomu. U pacientek s negativní rodinnou anamnézou je to přibližně každá pátá. Vysoký podíl pacientek s karcinomem ovaria s hereditární formou onemocnění se do budoucna díky identifikaci mutací v dalších genech s predispozicí ke karcinomem ovaria patrně ještě mírně zvýší. Frekvence mutací je u pacientek starších 70 let více než třikrát vyšší v porovnání s velmi mladými pacientkami (s diagnózou ve věku pod 30 let). Nižší frekvenci patogenních mutací u velmi mladých pacientek lze částečně vysvětlit vyšším zastoupením histologických typů, především low-grade serózních a mucinózních karcinomů, pro které je typická nižší frekvence mutací v predisponujících genech, zatímco u pacientek starších 70 let převažovaly high-grade serózní karcinomy. Přesto byla nízká frekvence mutací ve sledovaných predispozičních genech u velmi mladých pacientek překvapivá a ukazuje na možnou úlohu dalších genů při vzniku onemocnění.

Vzhledem k omezeným možnostem časné diagnostiky karcinomu ovaria je pro nosičky mutací v genech spojených s vysokým rizikem onemocnění (RR > 5) doporučena preventivní salpingooforektomie (risk-reducing salpingo-ophorectomy – RRSO). RRSO je spojena s řadou vedlejších účinků, proto je nutné její vhodné načasování, které se odvíjí od průměrného věku v době diagnózy u nosiček mutací či podle věku onemocnění v rodině (tab. 5). S ohledem na frekvenci mutací v genech vysokého rizika u pacientek s ovariálním karcinomem v ČR může racionální indikace RRSO přispět ke snížení mortality z důvodu karcinomu ovaria v ČR.

Serózní adenokarcinomy představují 60–80 % ze všech histopatologických typů ovariálních tumorů [20]. V našem souboru jsme high-grade serózní karcinom ovaria našli u dvou třetin pacientek s identifikovanou zárodečnou mutací v některém z ovariálních predispozičních genů, s výjimkou genů Lynchova syndromu. Frekvence mutací u žen s nádory jiného histologického typu však byla také významná a opodstatňuje genetické testování bez ohledu na histologický typ nádoru.

Se vzrůstajícím množstvím poznatků o nádorové predispozici se rozšiřuje spektrum klinicky relevantních genů. Použití větších panelů genů v rutinní diagnostické praxi umožňuje nejen pružně reagovat na rostoucí požadavky onkologů a klinických genetiků, ale v případě rozšíření počtu genů s klinickou utilitou umožňuje vyhodnotit tyto geny zpětně bez nutnosti nového sekvenování, a tedy dodatečných finančních nákladů. Identifikace hereditárních alterací v genech *BRCA1* a *BRCA2* (a pravděpodobně i dalších predispozičních genech, jejichž proteinové produkty se spolupodílejí na reparaci genomové DNA) umožňuje využít genetické analýzy jako prognostického ukazatele pro konvenční chemoterapii (genotoxickými chemoterapeutiky) i cílenou a specifickou léčbu (PARP inhibitory) [21].

Literatura

- uzis.cz. Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR. [online]. Dostupný z <http://www.uzis.cz>.
- Pennington KP, Swisher EM. Hereditary ovarian cancer: beyond the usual suspects. *Gynecol Oncol* 2012; 124(2): 347–353. doi: 10.1016/j.jygyno.2011.12.415.
- 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. *Am J Hum Genet* 2003; 72(5): 1117–1130. doi: 10.1086/375033.
- nccn.org. National Comprehensive Cancer Network; version 3.2019. [online]. Available from: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/genetics_screening.pdf.
- Soukupová J. Úskalí interpretace sekvenčních dat v diagnostice dědičných nádorových syndromů. *Labor Aktuell* 2016; 20(4): 4.
- Soukupová J, Zemánková P, Lhotová K et al. Validation of CZE CANCA (CZEch CAncer paNel for Clinical Application) for targeted NGS-based analysis of hereditary cancer syndromes. *PLoS One* 2018; 13(4): e0195761. doi: 10.1371/journal.pone.0195761.

Tab. 5. Existující doporučení péče o nosičky patogenních mutací v genech predisponujících ke karcinomu ovaria [4].

Gen	Riziko vzniku karcinomu ovaria**	Doporučení RRSO
<i>ATM</i> *	?	dle RA
<i>BRCA1</i>	35–60 %	RRSO (35–40let)
<i>BRCA2</i> *	12–25 %	RRSO (40–45let)
<i>BRIP1</i> *	10–15 %	RRSO (45–50let)
<i>BARD1</i>	?	dle RA
<i>CHEK2</i>	?	dle RA
<i>MSH2</i>	15–24 % do 70 let	dle RA
<i>MLH1</i>	11–20 % do 70 let	dle RA
<i>MSH6</i>	?	dle RA
<i>PMS2</i> *	?	dle RA
<i>EPCAM</i>	?	dle RA
<i>NBN</i> *	?	dle RA
<i>PALB2</i> *	?	dle RA
<i>RAD51C</i> *	10–15 %	RRSO (45–50let)
<i>RAD51D</i>	10–15 %	RRSO (45–50let)
<i>STK11</i>	18–21 %	dle RA

*AR sy, **populační riziko 1,3 %

RRSO – riziko redukující salpingooforektomie, RA – rodinná anamnéza

- Soukupová J, Zemánková P, Kleiblová P et al. CZE-CANCA: CZEch CAncer paNel for Clinical Application – návrh a příprava cíleného sekvenčního panelu pro identifikaci nádorové predispozice u rizikových osob v České republice. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 1): S46–S54. doi: 10.14735/amko2016S46.
- internationalgenome.org. The 1000 Genomes Browser. [online]. Available from: <http://www.internationalgenome.org/1000-genomes-browsers>.
- enigmaconsortium.org. ENIGMA (Evidence-based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles). [online]. Available from: <https://enigmaconsortium.org/>.
- ncbi.nlm.nih.gov. ClinVar. [online]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>.
- Nielsen SM, Eccles DM, Romero IL et al. Genetic testing and clinical management practices for variants in non-*BRCA1/2* breast (and breast/ovarian) cancer susceptibility genes: an international survey by the Evidence-Based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles (ENIGMA) clinical working group. *J Clin Oncol* 2018; 36(2): 1–42.
- Norquist BM, Harrel MI, Brady MF et al. Inherited mutations in women with ovarian carcinoma. *JAMA Oncol* 2016; 2(4): 482–90. doi: 10.1001/jamaoncol.2015.5495.
- Weber-Lassalle N, Hauke J, Ramser J et al. *BRIP1* loss-of-function mutations confer high risk for familial ovarian cancer, but not familial breast cancer. *Breast Cancer Res* 2018; 20(1): 7. doi: 10.1186/s13058-018-0935-9.
- Walsh T, Casadei S, Lee MK et al. Mutations in 12 genes for inherited ovarian, fallopian tube, and peritoneal car-

- cinoma identified by massively parallel sequencing. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(44): 18032–18037. doi: 10.1073/pnas.1115052108.
- Carter NJ, Marshall ML, Susswein LR et al. Germline pathogenic variants identified in women with ovarian tumors. *Gynecol Oncol* 2018; 151(3): 481–488. doi: 10.1016/j.jygyno.2018.09.030.
- Foretová L, Macháčková E, Palácová M et al. Doporučení rozšíření indikačních kritérií ke genetickému testování mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2* u hereditárního syndromu nádorů prsu a ovarií. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 1): S9–S13. doi: 10.14735/amko2016S9.
- Plevová P, Novotný J, Petráková K et al. Syndrom hereditárního karcinomu prsu a ovarií. *Klin onkol* 2009; 22 (Suppl 1): S8–S11.
- Petráková K, Palácová M, Schneiderová M et al. Syndrom hereditárního karcinomu prsu a ovarií. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 1): S14–S21. doi: 10.14735/amko2016S14.
- Zikán M. Gynekologická prevence a gynekologické aspekty péče u nosiček mutací genů *BRCA1* a *BRCA2*. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 1): S22–S30. doi: 10.14735/amko2016S22.
- Levanon K, Crum C, Drapkin R. New insights into the pathogenesis of serous ovarian cancer and its clinical impact. *J Clin Oncol* 2008; 26(32): 5284–93. doi: 10.1200/JCO.2008.18.1107.
- Morgan RD, Clamp AR, Evans DG et al. PARP inhibitors in platinum-sensitive high-grade serous ovarian cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2018; 81(4): 647–658. doi: 10.1007/s00280-018-3532-9.

Vzácné pediatrické ovariální tumory a jejich genetické příčiny

Genetic Causes of Rare Pediatric Ovarian Tumors

Plevová P.^{1,2}, Geržová H.³

¹ Oddělení lékařské genetiky, FN Ostrava

² Katedra biomedicínských oborů, LF Ostravské univerzity, Ostrava

³ Gynekologicko-porodnická klinika FN Ostrava

Souhrn

Východiska: Ovariální nádory v dětství a adolescenci se liší od nádorů dospělého věku histologickými typy. Mohou být první známkou manifestace syndromu dědičné predispozice k nádorům v rodině a správná diagnóza tohoto syndromu může umožnit sledování dalších členů rodiny ohrožených tímto rizikem. **Cíl:** Shrnout současné poznatky o typech ovariálních nádorů dětského a adolescentního věku, které se mohou vyskytnout v rámci geneticky definovaného syndromu predispozice k nádorovým onemocněním. Juvenilní nádor z buněk granulózy může vzniknout v souvislosti s Ollierovou chorobou a Maffucciho syndromem způsobenými post-zygotickou mutací genů *IDH1* a *IDH2*. Nádory ze Sertoliho-Leydigových buněk obvykle vznikají v rámci syndromu *DICER1* na podkladě zárodečných mutací genu *DICER1*. Gonadální nádory s anulárními tubuly a nádory ze Sertoliho buněk se mohou vyskytnout u Peutzova-Jeghersova syndromu způsobeného zárodečnými mutacemi genu *STK11*. Většina případů nádorů ze zárodečných buněk vzniká na podkladě gonadální dysgeneze, a to zejména u pacientů s gonadální dysgenézí nesoucí materiál chromozomu Y. Příčinou mohou být strukturální a numerické anomálie pohlavních chromozomů nebo mutace v genech, které se uplatňují při vývoji a diferenciaci gonád. Je zde vysoké riziko gonadoblastomu s potenciálem maligní transformace do dysgerminomu. Malobuněčný karcinom vaječníku hyperkalcemického typu je obvykle způsoben ztrátovými mutacemi v genu *SMARCA4*. **Závěr:** Ovariální nádory u dětí a v adolescenci jsou vzácné. Vždy je nutné zvažovat možnou gonadální dysgenezi či některý ze syndromů dědičné predispozice k nádorům. Problematika vyžaduje mezioborový přístup s důrazem na pečlivou osobní a rodinnou anamnézu, precizní klinické a laboratorní vyšetření a diferenciální diagnostiku s dobrou znalostí genetických syndromů. Patologická diagnostika těchto nádorů je komplikovaná. Správné histologické zařazení typu nádoru může být vodítkem k příslušnému hereditárnímu nádorovému syndromu.

Klíčová slova

nádory vaječníků – dítě – adolescence – dědičné nádorové syndromy

Práce byla podpořena MZ ČR – RVO-FNOs/2015.

The work was supported by the Ministry of Health of the Czech Republic – Conceptual Development of Research Organization, Faculty Hospital of Ostrava /2015.

Děkujeme MUDr. Lence Foretové, Ph.D., (MOÚ, Brno) a MUDr. Radoslavě Tomanové (Ústav patologie FN Ostrava) za cenné rady, Janě Němcové (Oddělení lékařské genetiky FN Ostrava), Bc. Ludmile Stuchlé a Lence Živčákové (Lékařská knihovna, FN Ostrava) za asistenci při přípravě rukopisu.

We thank to Lenka Foretová, M.D., Ph.D., (MMCI, Brno) and Radoslava Tomanová, M.D., (Institute of Pathology, University Hospital Ostrava) for rewarding advice, Mrs. Jana Němcová (Department of Medical Genetics, University Hospital Ostrava), Bc. Ludmila Stuchlá and Mrs. Lenka Živčáková (Medical Library, University Hospital Ostrava) for help during manuscript preparation.

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 zaslané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Pavlína Plevová, Ph.D.
Oddělení lékařské genetiky
FN Ostrava
17. listopadu 1790
708 52 Ostrava-Poruba
e-mail: pavlina.plevova@fno.cz

Obdrženo/Submitted: 10. 3. 2019

Přijato/Accepted: 16. 4. 2019

doi: 10.14735/amko2019579

Summary

Background: Ovarian tumors in childhood and adolescence are distinguished from those that arise in adulthood by their histological subtype. These tumors may arise as the first manifestation of a cancer predisposition syndrome. Correct diagnosis of the syndrome may offer the possibility of surveillance for other members of the patient's family. **Purpose:** To summarize current knowledge about paediatric ovarian tumors that may be associated with genetically defined cancer syndromes. Juvenile granulosa cell tumors occur in those with Ollier disease and Maffucci syndrome; they are caused by postzygotic *IDH1* and *IDH2* gene mutations. Sertoli–Leydig cell tumors usually arise in association with *DICER1* syndrome, which is caused by germline *DICER1* gene mutations. Sex cord tumors with annular tubules and Sertoli cell tumors may arise in patients with Peutz–Jeghers syndrome; this syndrome is caused by germline *STK11* gene mutations. The majority of germ cell tumors develop in the context of gonadal dysgenesis. In XY gonadal dysgenesis, the presence of a Y chromosome material renders the patient at increased risk for developing gonadal malignancy. Characteristically, these patients develop gonadoblastoma, which has the potential to evolve into dysgerminoma and exhibit malignant behavior. Sex-chromosome aneuploidy syndromes or mutations in genes involved in gonadal development and differentiation may cause gonadal dysgenesis. Small cell carcinoma of the ovary of a hypercalcaemic type is usually caused by loss-of-function mutations in the *SMARCA4* gene. **Conclusion:** Ovarian tumors are uncommon during childhood and adolescence. It is always necessary to consider gonadal dysgenesis or any of the inherited cancer syndromes. These patients require interdisciplinary care, careful noting of personal and family history, precise clinical examination, laboratory testing, and differential diagnosis by a clinician with a good knowledge of genetic syndromes. Expert pathological review may be required for correct diagnoses. This is necessary for appropriate management and to establish an association with hereditary cancer syndromes.

Key words

ovarian neoplasms – child – adolescent – hereditary cancer syndromes

Úvod

Ovariální malignity v dětském věku a v adolescenci představují 10–20 % všech ovariálních nádorových onemocnění a přibližně 1–2 % všech dětských nádorů. Jsou nejčastější gynekologickou malignitou u generace mladší 20 let [1]. Výskyt ovariálních nádorů v dětské populaci není častý, jejich incidence je odhadována na 2,6/100 tisíc děvčat za rok [2]. Incidence se liší podle věku, např. u nejčastější formy těchto nádorů, tj. nádorů ze zárodečných buněk, je u premenarchálních dívek mladších 12 let incidence velmi nízká, uvádí se 3/1 milion za rok, zatímco u adolescentních dívek incidence stoupá až na 15/1 milion za rok [3].

Ovariální nádory v dětství a adolescenci zahrnují benigní a maligní nádory ze zárodečných buněk (60–80 %), povrchové epiteliální stromální nádory (15–20 %), gonadostromální nádory (10–20 %) a jiné (např. gonadoblastom, maligní lymfom a leukemie, malobuněčný karcinom a nádory z měkkých tkání, méně než 5 %) podle platné klasifikace World Health Organisation (WHO) z roku 2014 (tab. 1) [3,4].

Ovariální nádory v dětství a adolescenci mohou souviset se syndromy predispozice k nádorovým onemocněním. Liší se od nádorů dospělého věku histologickými podtypy a odlišnými syndromy predispozice k nádorům, s nimiž mohou souviset. Ovariální nádor u dítěte může být první známkou manifestace syndromu predispozice k nádorům v rodině a správná diagnóza tohoto syndromu může umožnit sledování dalších členů rodiny ohrožených tímto rizikem [5].

Nejčastější pediatrické ovariální nádory, které jsou součástí hereditárních syndromů, jsou neepiteliální. Naproti tomu nádorová onemocnění vaječníků v dospělosti nejčastěji spadají do kategorie epiteliálních nádorů [3,6]. Nejčastějším ovariálním karcinomem u dospělých žen s mutací v genech *BRCA1* nebo *BRCA2* je high-grade serózní karcinom. Tento epiteliální nádor je však extrémně vzácný ve věku pod 18 let. Mucinózní epiteliální nádory se ve věku pod 18 let vyskytnout mohou, avšak není známo, že by souvisely se syndromy dědičné predispozice k nádorům [5].

V tomto článku uvádíme přehled nádorových onemocnění ovarií dětského věku, která mohou vznikat na podkladě dědičných syndromů predispozice k nádorovým onemocněním. Histologické typy nádorových onemocnění ovarií, o kterých je pojednáváno, jsou vyznačeny v tab. 1.

Juvenilní nádor z buněk granulózy
Charakteristika nádoru
Juvenilní nádor z buněk granulózy je vzácný nádor ze skupiny gonadostromálních nádorů (tab. 1). Tvoří méně než 1 % ovariálních nádorů, ale dvě třetiny

gonadostromálních nádorů, které vzniknou v dětství [5,7]. Polovina těchto nádorů je diagnostikována v 1. dekádě života a další třetina ve 2. U více než 95 % pacientek je onemocnění omezeno na vaječník a tyto pacientky s nízkým stadiem onemocnění mají vynikající prognózu s více než 90% celkovým přežitím po chirurgické léčbě obvykle v rozsahu jednostranné adnexektomie [8]. Většina nádorů je jednostranných, pouze 2–5 % nádorů vzniká oboustranně [5,7]. Nádor se obvykle manifestuje izosexuální předčasnou pseudopubertou, neboť tyto nádory často secernují estrogen [8,9]. Vzácně jsou spojeny s androgenní manifestací [5].

Sdružené genetické syndromy

Juvenilní nádor z buněk granulózy v kombinaci s předčasnou pseudopubertou byl popsán v souvislosti s Ollierovou chorobou a Maffucciho syndromem [10–12]. V literatuře je popsáno 24 takových případů [5,12–14].

Ollierova choroba a Maffucciho syndrom jsou podtypy syndromu enchondromatózy. U Maffucciho syndromu bývají přítomny také hemangiomy měkkých tkání. U některých pacientů mohou vznikat i jiné nádory, např. gliomy nebo akutní myeloidní leukemie [15]. Enchondromy vznikají ve velmi mladém věku a bývají mnohočetné s asymetrickou distribucí. Prevalence je odhadována na 1/100 tisíc [5]. Je zde zvýšené riziko

Tab. 1. WHO klasifikace nádorů vaječníků [4].

1) Epiteliální nádory**Serózní nádory**

Benigní: serózní cystadenom, serózní adenofibrom, serózní povrchový papilom

Hraniční malignity: serózní nádor hraniční malignity / atypicky proliferující serózní nádor; serózní nádor hraniční malignity – mikropapilární varianta / neinvazivní serózní low-grade karcinom

Maligní: serózní low-grade karcinom; serózní high-grade karcinom

Mucinózní nádory

Benigní: mucinózní cystadenom; mucinózní adenofibrom

Hraniční malignity: mucinózní nádor hraniční malignity / atypicky proliferující mucinózní nádor

Maligní: mucinózní karcinom

Endometroidní nádory

Benigní: endometroidní cista; endometroidní cystadenom; endometroidní adenofibrom

Hraniční malignity: endometroidní nádor hraniční malignity / atypicky proliferující endometroidní nádor

Maligní: endometroidní karcinom

Nádory z jasných buněk

Benigní: cystadenom z jasných buněk; adenofibrom z jasných buněk

Hraniční malignity: nádor z jasných buněk hraniční malignity / atypicky proliferující nádor z jasných buněk

Maligní: karcinom z jasných buněk

Brennerovy nádory

Benigní: Brennerův nádor

Hraniční malignity: Brennerův nádor hraniční malignity / atypicky proliferující Brennerův nádor

Maligní: maligní Brennerův nádor

Seromucinózní nádory

Benigní: seromucinózní cystadenom; seromucinózní adenofibrom

Hraniční malignity: seromucinózní nádor hraniční malignity / atypicky proliferující seromucinózní nádor

Maligní: seromucinózní karcinom

Nediferencovaný karcinom**2) Mezenchymální nádory**

low-grade endometroidní stromální sarkom; high-grade endometroidní stromální sarkom

3) Smíšené epiteliální a mezenchymální nádory

adenosarkom; karcinosarkom (dříve smíšený Müllerianský nádor)

4) Gonadostromální nádory

Čisté stromální nádory: fibrom; buněčný fibrom; tecom; luteini-zační tecom spojený se sklerotizující peritonitidou; fibrosarkom; sklerotizující stromální nádor; stromální nádor typu pečetiho prstene; mikrocystický stromální nádor; nádor z Leydigových buněk; nádor ze steroidních buněk; maligní nádor ze steroidních buněk

Čisté gonadální nádory: adultní nádor z buněk granulózy; **juvenilní nádor z buněk granulózy; nádor ze Sertoliho buněk; gonadální nádor s anulárními tubuly**

Smíšené gonadostromální nádory: **nádory ze Sertoliho-Leydigových buněk** (dobře, středně, špatně diferencované, retiformní); gonadostromální nádory (gynandroblastom)

5) Nádory ze zárodečných buněk

dysgerminom; nádor ze žloutkového váčku; embryonální karcinom; negestační choriokarcinom; zralý teratom; nezralý teratom; smíšený nádor ze zárodečných buněk

6) Monodermální teratom a nádory somatického typu vznikající z dermoidní cysty

benigní struma ovaria; maligní struma ovaria; karcinoid (stromální, mucinózní); nádor neuroektodermálního typu; sebaceózní nádory (adenom, karcinom); jiné vzácné monodermální teratomy; karcinomy (karcinom ze sebaceózních buněk, jiné)

7) Nádory ze zárodečných buněk – gonadostromální

gonadoblastom, vč. gonadoblastomu s maligním nádorem ze zárodečných buněk; neklasifikovaný smíšený nádor ze zárodečných buněk – gonadostromální

8) Různé nádory

nádory rete ovarii (adenom, adenokarcinom); wolffianský nádor; **malobuněčný karcinom hyperkalcemického typu**; malobuněčný karcinom plicního typu; Wilmsův tumor; paragangliom; solidní pseudopapilární neoplazie

9) Mezoteliální nádory

adenomatoidní nádor, mezoteliom

10) Nádory z měkkých tkání

myxom, jiné

11) Nádorům podobné léze

folikulární cista; cista corporis uteri; velká solitární luteinizová folikulární cista, hyperreactio luteinalis; graviditas luteoma; stromální hyperplázie; stromální hypertekóza; fibromatóza; masivní edém; hyperpláze Leydigových buněk; jiné

12) Lymfoidní a myeloidní nádory

lymfomy; plazmacytom; myeloidní neoplazie

13) Sekundární nádory

WHO – Světová zdravotnická organizace

maligní transformace enchondromů do chondrosarkomu, a to zejména v případě enchondromů lokalizovaných

v pánvi. Riziko se uvádí 20–46 %, věk pacientů se pohybuje od 10 do 69 let (průměr 52 let) [13]. U většiny pacientů je již

diagnostikována enchondromatóza před diagnózou juvenilního nádoru z buněk granulózy [5]. Byl popsán případ tohoto

nádoru u novorozence s Ollierovou chorobou [16]. Ovariální nádory často vznikají ipsilaterálně k predominantnímu výskytu enchondromů [17]. Dlouhé kosti a gonády vznikají z mezodermy. Existují proto hypotézy, že postižení vaječniku je manifestací generalizovaného dysplastického postižení mezodermy [5,17]. Ollierova choroba a Maffucciho syndrom jsou vzácná genetická onemocnění, která vznikají postzygotickou mutací genů *IDH1* a *IDH2*, jež je pravděpodobně společnou genetickou změnou etiopatogeneticky související s tumorigenezí u těchto pacientů [15]. Somatické mutace v genech *IDH1* a *IDH2*, které klasicky postihují kodony R132 genu *IDH1* nebo R172 genu *IDH2*, byly detekovány v enchondromech, hemangiomech, leukemických buňkách a ovariálním buněčném fibromu u pacientů s Ollierovou chorobou a Maffucciho syndromem [18–20]. Je pravděpodobné, že somatické mutace v genech *IDH1* a *IDH2* se podílejí také na etiopatogenezi juvenilního nádoru z buněk granulózy u těchto syndromů [5,18,21].

Ojedinele byl juvenilní nádor z buněk granulózy popsán také v souvislosti s jinými syndromy predispozice k nádorům, a to s Cowdenovým syndromem (gen *PTEN*), syndromem Li-Fraumeni (gen *TP53*) a syndromem *DICER1* (viz dále) [22,23]. Somatické mutace v „hot-spot“ oblastech genu *DICER1* byly zjištěny v některých případech juvenilního nádoru z buněk granulózy, nicméně definitivní souvislost mezi tímto nádorem a mutacemi genu *DICER1* je nutno potvrdit na větších souborech pacientů [5]. Vzhledem k tomu, že mutace v genu *DICER1* jsou časté u ovariálního nádoru ze Sertoliho-Leydigových buněk, je možné, že popsané případy juvenilního nádoru z buněk granulózy s mutací v tomto genu jsou ve skutečnosti chybně diagnostikované nádory ze Sertoliho-Leydigových buněk [5,21].

Doporučení ke genetickému testování a preventivní opatření

U pacientek s juvenilním nádorem z buněk granulózy by fyzikální vyšetření mělo zahrnovat pátrání po enchondromatóze. Měl by být pravidelně sledován růst a pubertální vývoj [5]. U pacientek

se syndromy enchondromatózy je vhodné dispenzární gynekologické vyšetření 1krát ročně.

Diferenciální diagnostika

Diferenciální diagnóza juvenilního nádoru z buněk granulózy zahrnuje jiné gonadostromální nádory a malobuněčný karcinom vaječniku hyperkalcemického typu. Nejsnáze morfologicky zaměnitelným nádorem je adultní nádor z buněk granulózy a nádor ze Sertoliho-Leydigových buněk. U 30 % pacientek s juvenilním nádorem z buněk granulózy je nacházena somatická mutace v onkogenu *GSP*, nejčastěji p.R201C nebo p.R201H, která je spojena s horší prognózou [24]. U více než 60 % těchto nádorů byla zjištěna aktivující inframe duplikace v exonu 3 genu *AKT1* [25]. Naopak u adultních nádorů z buněk granulózy, extrémně vzácných u dětí, je v 95 % případů nacházena pro tento nádor specifická somatická missense mutace c.402C>G, p.C134W v genu *FOX2* [26,27].

Pacientky s malobuněčným karcinomem vaječniku hyperkalcemického typu mohou mít hyperkalcemii, nemívají příznaky předčasné pseudopuberty nebo jiné hormonální manifestace a jejich nádory vykazují specifickou ztrátu exprese proteinu *SMARCA4* [5].

Nádory ze Sertoliho-Leydigových buněk

Charakteristika nádoru

Nádory ze Sertoliho-Leydigových buněk jsou vzácné nádory ze skupiny gonadostromálních ovariálních nádorů (tab. 1). Obsahují Sertoliho a Leydigovy buňky, což jsou nezárodečné podpůrné buňky mužských gonád. Tyto nádory vznikají z primitivních buněk pregranulózy a představují pseudo-mušskou gonadální dysgenezi ovaria [28]. Tvoří asi 1–2 % dětských nádorů vaječníků a méně než 0,5 % všech ovariálních nádorů [28,29]. Ve více než 95 % jsou jednostranné, omezené na vaječník [28]. Byly popsány u žen ve věku od 2 do 75 let, ale většinou se vyskytují ve 2. nebo 3. dekádě života [30]. Podle WHO klasifikace jsou děleny na dobře, středně a špatně diferencované, a retiformní [4]; většinou jsou středně nebo špatně diferencované [28]. Poslední tři

podtypy mohou obsahovat ve 20 % heterologní prvky původem z endodermy nebo mezodermy, např. jaterní nebo gastrointestinální buňky, chrupavku nebo kosterní sval [31].

Pacientky s těmito nádory mají často hormonální příznaky spojené s nadměrnou produkcí androgenů, tedy projevy virilizace (amenorea, hirsutismus, hlubší hlas, zvětšení klitoris) [9,28]. Méně často jsou přítomny estrogenní příznaky v podobě předčasné pseudopuberty nebo poruch menstruace. Retiformní nádory se často vyvíjejí v mladším věku a nejsou tak často spojené s endokrinní manifestací. Stupeň diferenciaci těchto nádorů koreluje s prognózou. Dobře diferencované nádory se obvykle chovají jako benigní, zatímco špatně diferencované mají maligní chování [5,30].

Sdružené genetické syndromy

Nádory ze Sertoliho-Leydigových buněk mohou vznikat v rámci syndromu *DICER1*, který je způsoben zárodečnými mutacemi genu *DICER1*. Tento typ nádoru byl poprvé popsán v souvislosti s familiárním pleuropulmonálním blastomem v roce 2009 [32]. Pacienti se syndromem *DICER1* mají zvýšené riziko vývoje velmi specifických vzácných nádorů, které se manifestují obvykle v jakémkoli věku do 25 let. Nádory, které mohou u syndromu *DICER1* vzniknout, zahrnují multinodulární strumu, pleuropulmonální blastom, embryonální rhabdomyosarkom (cervikální/ovariální), cystický nefrom, meduloepiteliom řasnatého tělesa, diferencovaný karcinom štítné žlázy, anaplastický sarkom ledviny, gonadostromální ovariální nádor (nádor ze Sertoliho a Leydigových buněk, gynandroblastom), pineoblastom, blastom hypofýzy, meduloblastom/infratentoriální primitivní neuroektodermální nádor, nádory ze zárodečných buněk, nazální chondromezenchymální hamartom [33,34]. Pleuropulmonální blastom, cystický nefrom a pituitární blastom vznikají predominantně ve věku do 6 let. Onemocnění štítné žlázy a některé nádory, např. cervikální embryonální rhabdomyosarkom a ovariální gonadostromální nádory mohou vznikat i ve věku mezi 40. a 50. rokem [33,35,36]. Může se

vyskytnout také Wilmsův tumor, intestinální juvenilní hamartomatózní polypy a neuroblastom [33,34,37], avšak u těchto nádorů není souvislost se syndromem DICER1 jednoznačná [36].

Nádory ze Sertoliho-Leydigových buněk jsou nejčastější gynekologickou manifestací syndromu DICER1. U většiny středně nebo špatně diferencovaných forem tohoto nádoru lze detekovat zárodečné nebo somatické mutace v genu *DICER1*, na rozdíl od vzácných, dobře diferencovaných forem, kde tyto mutace detekovány nejsou (G/22). Středně nebo špatně diferencované nádory bez mutace v genu *DICER1* jsou většinou chybně klasifikované jiné nádorové typy [5,38].

Přítomnost zárodečných mutací v genu *DICER1* nemá na základě současných poznatků vliv na léčbu nebo přežití pacientek. Syndrom DICER1 má neúplnou penetranci. Penetrance je vyšší u žen z důvodu výskytu gynekologických nádorů a onemocnění štítné žlázy [36]. Kumulativní riziko onemocnění štítné žlázy charakteru multinodulární strumy bez narušení funkce žlázy, popř. vzácně papilárního karcinomu vzniklého sekundárně po chemoterapii, se odhaduje na 75 % u žen do věku 40 let [39,40]. Je odhadováno, že až 80 % mužů se zárodečnými mutacemi v genu *DICER1* je asymptomatických [36]. Mutace v genu *DICER1* mohou také vznikat *de novo*. Současný výskyt ovariálního nádoru ze Sertoliho-Leydigových buněk s karcinomem štítné žlázy je vysoce suspektní ze syndromu DICER1 [41].

Protein DICER je endoribonukleáza odpovědná za tvorbu zralých mikroRNA, které hrají důležitou roli v regulaci genové exprese pomocí represe syntézy proteinů. Pacienti se syndromem DICER1 mají obvykle ztrátové zárodečné mutace v genu *DICER1*, které ukončí čtecí rámec před koncem RNáza IIIb domény a vedou ke kompletní ztrátě funkce proteinu [42]. Současně bývá v nádorové tkáni zjišťována somatická missense mutace, nejčastěji v exonech 24 nebo 25 v jednom z pěti „hotspot“ kodonů (E1705, D1709, E1788, D1810, E1813) nacházejících se v oblasti pro RNáza IIIb doménu genu *DICER1* v pozici trans [43–45]. Existují také sporadické

Tab. 2. Doporučení ke sledování osob s predispozicí k syndromu DICER1 [34].

Plíce – screening pleuropulmonálního blastomu

- iničiální CT hrudníku ve věku 3–6 měsíců;
- CT hrudníku ve věku 2,5–3 roky;
- rentgen hrudníku každých 6 měsíců do 8 let věku;
- rentgen hrudníku ročně od 8 do 12 let věku.

Ledviny – screening cystického nefromu, anaplastického sarkomu ledviny, Wilmsova tumoru

- ultrazvukové vyšetření břicha každých 6 měsíců do 8 let;
- ultrazvukové vyšetření břicha ročně od 8 do 12 let.

Mozek – screening pineoblastomu a blastomu hypofýzy

- pravidelné sledování pomocí NMR je sporné, neboť tyto nádory jsou vzácné u syndromu DICER1 (výskyt pod 1 %);
- akutní NMR mozku v případě jakékoli intrakraniální patologie.

Gynekologické orgány – screening nádoru ze Sertoliho-Leydigových buněk, gynandroblastomu, cervikálního nebo ovariálního rhabdomyosarkomu

- 1–2krát ročně ultrazvukové vyšetření pánve od narození do dospělosti.

Štítná žláza – uzly ve štítné žláze, multinodulární struma, diferencovaný karcinom štítné žlázy

- ultrazvukové vyšetření štítné žlázy ve věku 8 let, při normálním nálezu poté 1krát za 3 roky.

Okolo – meduloepiteliom řasnatého tělesa

- pacienta poučit o riziku a příznacích.

Nos – nazální chondromezenchymální hamartom

- pacienta poučit o riziku a příznacích;
- ORL vyšetření a nazální endoskopie v případě nazální obstrukce.

Gastrointestinální trakt – hamartomatózní polypy

- pacienta poučit o riziku a příznacích;
- příslušné vyšetření v případě příznaků z intestinální obstrukce.

CT – počítačová tomografie, NMR – nukleární magnetická rezonance, ORL – otorhinolaryngologické

případy se dvěma somatickými mutacemi v genu *DICER1* [5].

Nádory ze Sertoliho-Leydigových buněk byly také popsány u mladých žen a dívek s Peutzovým-Jeghersovým syndromem [46,47], avšak kauzální souvislost těchto onemocnění není prozatím jednoznačná [5].

Doporučení ke genetickému testování a preventivní opatření

Všechny pacientky s nádory ze Sertoliho-Leydigových buněk by měly být odeslány na genetické pracoviště za účelem vyšetření genu *DICER1* [5].

Pro pacienty se syndromem DICER1 byla v roce 2016 navržena na workshopu týkajícím se predispozice k dětským nádorům společnosti American Asso-

ciation for Cancer Research doporučení ke sledování, která jsou uvedena v tab. 2 [34].

Diferenciální diagnostika

Diagnóza nádorů ze Sertoliho-Leydigových buněk může být často obtížná, jednak pro jejich vzácnost a jednak pro širokou diferenciální diagnostiku. Morfologicky se tyto nádory mohou překrývat s jinými gonadostromálními nádory a imunohistochemie často jednotlivé typy nerozliší. Imunohistochemicky lze odlišit tyto nádory od endometroidního karcinomu. Retiformní forma může být morfologicky obtížně odlišitelná od serózních epiteliálních nádorů, které se však vyskytují v pozdějším věku a mají odlišný imunofenotyp [5].

Gonadální nádory s anulárními tubuly

Charakteristika nádoru

Gonadální nádory s anulárními tubuly jsou velmi vzácné, tvoří přibližně 1–2,3 % ovariálních gonadostromálních nádorů [5,48]. Hlavní komponenta těchto nádorů má přechodné morfolo- gické rysy mezi nádory z buněk granulózy a nádory ze Sertoliho buněk a může docházet k diferenciaci do jednoho z těchto dvou typů [49]. Byly popsány u žen ve věku od 5 do 57 let, přičemž méně než polovina se jich manifestuje ve věku pod 18 let. Většina nádorů je omezena na vaječník, jsou benigní a nedochází u nich k hormonální manifestaci [49,50]. Případy asociované s Peutzovým-Jeghersovým syndromem bývají velmi malé, často jen mikroskopicky detekovatelné, oboustranné, mnohočetné, s kalcifikacemi, klinicky benigní, pouze malá část se chová maligně s extraovariálním šířením. Sporadické případy bývají naopak obvykle jednostranné, rozsáhlé a symptomatické a ve 20 % se mohou chovat maligně a šířit se mimo vaječník [5,49,51].

Sdružené genetické syndromy

Přibližně 30–36 % případů gonadálního nádoru s anulárními tubuly se vyskytuje v souvislosti s Peutzovým-Jeghersovým syndromem způsobeným zárodečnými mutacemi genu *STK11* [49,52]. Peutzův-Jeghersův syndrom je autozomálně dominantně dědičné onemocnění charakterizované mukokutánními melanocytárními lézemi, gastrointestinálními hamartomatózními polypy a zvýšeným rizikem rozvoje různých benigních a maligních nádorů (karcinom tenkého a tlustého střeva, jícnu, pankreatu, prsu) [5,53]. U pacientek s tímto syndromem mohou být diagnostikovány také jiné gynekologické nádory, např. ovariální gonadostromální nádory, adenokarcinom děložního čípku gastrického typu non-HPV (lidský papilomavirus) a mucinózní nádory v různých lokalizacích vč. ovarií. Muži s tímto syndromem mohou onemocnět velkobuněčným kalcifikujícím testikulárním nádorem ze Sertoliho buněk [54].

Zárodečné mutace genu *STK11* jsou detekovány u 80–90 % pacientů s kli-

nickými projevy Peutzova-Jeghersova syndromu, přičemž přibližně 25 % případů vzniká *de novo* [55]. V gonadálních nádorech s anulárními tubuly u pacientek s Peutzovým-Jeghersovým syndromem bývá detekována somatická ztráta heterozygotnosti v lokusu 19q13.1 [56].

Kumulativní riziko onemocnění nádorem vaječníku se pro ženu – nosičku patogenní mutace v genu *STK11* – odhaduje na 20 % ve věku 5–64 let, přičemž gonadální nádory s anulárními tubuly tvoří většinu těchto onemocnění [5,49].

Doporučení ke genetickému testování a preventivní opatření

Vzhledem k raritě gonadálního nádoru s anulárními tubuly je doporučováno, aby byly všechny dívky s tímto nádorem odeslány ke genetickému vyšetření a testovány na zárodečné mutace v genu *STK11*. V současnosti nejsou platná specifická doporučení pro sledování gonadálních nádorů u dětí s Peutzovým-Jeghersovým syndromem [5]. V souladu s platným doporučením České gynekologicko-porodnické společnosti České lékařské společnosti J. E. Purkyně a pojistným zdravotním plánem v ČR by mělo být prováděno preventivní gynekologické vyšetření vč. expertního ultrazvukového vyšetření od 15 let 1krát ročně.

Diferenciální diagnostika

Gonadální nádory s anulárními tubuly mají obvykle charakteristické morfolo- gické rysy a jejich diagnostika nebývá komplikovaná. Problémem může být jejich vzácnost. Diferenciální diagnostika zahrnuje jiné typy gonadostromálních nádorů, gonadoblastom a smíšený nádor ze zárodečných buněk – gonadostromální [49,57].

Nádory ze Sertoliho buněk

Charakteristika nádoru

Nádory ze Sertoliho buněk tvoří méně než 5 % gonadostromálních nádorů a většinou vznikají u žen v reprodukčním věku, průměrný věk onemocnění je 30 let. Přibližně šestina případů vzniká prepubertálně [58]. U těchto nádorů často dochází k hormonální manifestaci, obvykle androgenní [57,58]. Nádory ze

Sertoliho buněk jsou většinou nádory omezené na vaječník a mají vynikající prognózu s nízkým rizikem recurence. Byl popsán vzácný, na lipidy bohatý a oxyfilní podtyp těchto nádorů [59].

Sdružené genetické syndromy

Podle některých studií až 10 % nádorů ze Sertoliho buněk, zejména na lipidy bohatý a oxyfilní podtyp, může vznikat v souvislosti s Peutzovým-Jeghersovým syndromem (viz výše) [5,60].

Doporučení ke genetickému testování a preventivní opatření

Je vhodné, aby ke genetickému vyšetření a testování na zárodečné mutace v genu *STK11* byly odeslány dívky s ovariálním nádorem ze Sertoliho buněk, kdy se jedná o na lipidy bohatý nebo oxyfilní podtyp nádoru a/nebo v jejichž osobní či rodinné anamnéze jsou přítomny také další příznaky charakteristické pro Peutzův-Jeghersův syndrom [5]. Doporučení ke sledování je obdobné jako u gonadálních nádorů s anulárními tubuly.

Diferenciální diagnostika

Diferenciální diagnostika nádorů ze Sertoliho buněk je široká a zahrnuje jiné gonadostromální nádory (nádory ze Sertoliho-Leydigových buněk, adultní nádor z buněk granulózy, gonadální nádory s anulárními tubuly), endometroidní karcinom, karcinoid a různé metastatické adenokarcinomy [58]. Správnou diagnózu umožňuje imunohistochemické vyšetření na různé markery [5].

Nádory ze zárodečných buněk

Charakteristika nádoru

Maligní nádory ze zárodečných buněk tvoří 75 % ovariálních nádorů, které vznikají v prvních 2 dekádách života, a 15 % malignit u adolescentek ve věku 15–19 let [5].

Jsou heterogenní skupinou nádorů, které vznikají z pluripotentních primordiálních zárodečných buněk a zahrnují teratom (zralý a nezralý), choriokarcinom, nádor ze žlutkového váčku, dysgerminom, embryonální karcinom a smíšené podtypy (tab. 1). Výskyt jednotlivých podtypů nádorů ze zárodečných buněk je věkově specifický [3].

Teratomy (většina z nich jsou zralé teratomy) jsou nejčastější, po nich následuje dysgerminom a nádor ze žlutkového váčku [61]. Gonadoblastom je smíšený nádor ze zárodečných buněk – gonadostromální, který téměř vždy vzniká v dysgenetických gonádách s přítomností chromozomu Y [62]. Manifestuje se obvykle ve 2. dekádě, ale byly popsány případy v časném kojeneckém věku [63,64]. Je prekurzorovou lézí pro invazivní nádory. V 50–60 % případů dojde k maligní transformaci, nejčastěji do dysgerminomu, popř. nádoru ze žlutkového váčku, seminomu, nezralého teratomu, embryonálního karcinomu nebo choriokarcinomu [64–66].

Ovariální nádory ze zárodečných buněk se nejčastěji manifestují jako hmatný tumor s bolestí břicha a až v 10 % se projeví jako náhlá příhoda břišní v důsledku torze, krvácení nebo ruptury [67]. U některých podtypů může být zvýšená hladina β lidského choriového gonadotropinu (β HCG), α -fetoproteinu, CA125, laktátdehydrogenázy (LDH), karcinoembryonálního antigenu (CEA) nebo hladiny kalcia [68]. Maligní nádory ze zárodečných buněk jsou dobře léčitelné s 89–98% přežitím [5,61].

Sdružené genetické syndromy

Předpokládá se, že většina případů gonadoblastomu s potenciálem maligní transformace do dysgerminomu vzniká na podkladě gonadální dysgeneze [5]. Zvýšené riziko vzniku nádorů v dysgenetických gonádách mají zejména pacienti s gonadální dysgenézí nesoucí chromozom Y nebo materiál chromozomu Y [66,69–72].

Gonadální dysgeneze neboli defektní vývoj gonád (ovarií nebo varlat) vzniká jako důsledek strukturálních nebo numerických anomálií pohlavních chromozomů nebo mutací v genech, které se uplatňují při diferenciaci gonád [72,73].

Dysgenetické gonády jsou charakterizovány variabilním stupněm nezralosti a dysfunkce, která se může manifestovat somatickými anomáliemi a různým stupněm nejednoznačnosti genitálu. Gonadální dysgenézi je možné klasifikovat jako čistou nebo smíšenou v závislosti na genetické příčině a morfologii gonád [72,74].

Čistá gonadální dysgeneze

U čisté gonadální dysgeneze (alternativní názvy kompletní gonadální dysgeneze; 46,XY porucha sexuální diferenciace; Swyerův syndrom) nedochází k testikulární diferenciaci a v důsledku absence steroidních hormonů se jedinec vyvíjí pasivně ženským směrem. Jedná se fenotypově o ženy s karyotypem 46,XY, přičemž jsou přítomné oboustranné lištovité gonády, děloha, vejcovody, pochva a ženské zevní genitálie. V důsledku nefunkčních gonád dochází k hypergonadotropnímu hypogonadizmu [72]. Pacientky mají primární amenorheu, nedochází k vývoji prsních žláz, axilární a pubické ochlupení chybí nebo je sporé [75]. Někteří pacienti mohou mít opožděný psychomotorický vývoj, snížené IQ, obtíže s učením a určitý kognitivní deficit [76,77]. Incidence syndromu je 1/80–100 tisíc narozených [64,76–78]. Příčinou jsou mutace v genu *SRY* (z angl. „sex-determining gene on Y-chromosome“; typ SRXY1, z angl. „46,XY sex reversal“) nebo v dalších genech lokalizovaných na chromozomu X nebo autozomech (geny *NROB1*, *NR5A1*, lokus 9p24.3, *CBX2*, *MAP3K1*, *DHH*, *AKR1C2*, *ZFPM2*, *XYSR*, tj. typy SRXY2 – 10), v důsledku čehož dojde k selhání vývoje varlat [72,79]. Mutace nebo delece genu *SRY* jsou odpovědné za 10–20 % případů čisté formy 46,XY gonadální dysgeneze [80–82]. Přesto přibližně polovina případů zůstává neobjasněna [77,79,83]. Riziko vzniku malignity se v případě čisté 46,XY gonadální dysgeneze uvádí 37,5–45 %. U pacientů s gonadální malignitou se ve 22–66 % jedná o dysgerminom [72]. Většina případů gonadoblastomu nebo dysgerminomu je diagnostikována v době diagnózy XY čisté gonadální dysgeneze, což je obvykle v adolescenci, ačkoli někdy může malignita vzniknout u dětí [72].

Smíšená gonadální dysgeneze

U smíšené gonadální dysgeneze (alternativní název parciální gonadální dysgeneze) dochází k nekompletnímu vývoji varlat s následnou anomálií genitálu různé závažnosti, která závisí na stupni testikulární funkce. Mohou být přítomna oboustranná dysgenetická varlata nebo unilaterální lištovitá gonáda a kontra-

laterální dysgenetické varle, vzácně se může vyskytnout dysgenetické varle nebo lištovitá gonáda na jedné straně a normální funkční varle na straně druhé [72].

Jedná se buď o důsledek aneuploidii pohlavních chromozomů, nebo mohou být příčinou syndromy způsobené zárodečnými mutacemi strukturních genů *SOX9*, *WT1* a *ATRX* nebo parciální deleci chromozomální oblasti 11p13 a charakterizované specifickými extragonadálními nálezy [72].

Nejčastějším karyotypem u smíšené gonadální dysgeneze je 45,X/46,XY. Může však být přítomen také karyotyp 46,XY, 45X/47,YYY nebo jiné formy mozaicismu zahrnující chromozom Y [72]. Fenotypově se může jednat o ženy se syndromem Turnerové, ženy s nejednoznačnými genitáliemi, muže s hypovirilizací nebo normální muže. Klinické příznaky syndromu Turnerové zahrnují lymfédem rukou a nohou po narození, poruchu růstu, širokou kožní řasu v oblasti krku, nízkou vlasovou hranici, opožděnou pubertu, mohou být přítomny srdeční vady, zejména koarktace aorty nebo anomálie aortální chlopně u fenotypově žen s dělohou, ženskými zevními genitáliemi a dysgenetickými gonádami, hypergonadotropním hypogonadizmem a opožděnou pubertou [84]. U pacientek se syndromem Turnerové, které jsou z genetického hlediska mozaikami se zastoupením genetického materiálu chromozomu Y (např. mozaicismus 45,X/46,XY), se uvádí riziko vzniku nádorů ze zárodečných buněk (zejména gonadoblastomu) 2,2–50 % [72]. Pacientky se syndromem Turnerové bez materiálu chromozomu Y riziko vzniku gonadoblastomu nemají [85]. U některých pacientek však nemusí být materiál chromozomu Y detekovatelný pomocí karyotypu, ale může být zachycen citlivějšími molekulárně genetickými metodami [86].

Kampomelická dysplazie je autozomálně dominantně dědičný syndrom charakterizovaný těžkou malformací skeletu s malým vzrůstem, ohnutím dlouhých tubulárních kostí zejména dolních končetin, hypoplastickými lopatkami a poruchou mineralizace hrudních pediklů, způsobený zárodečnými muta-

cemí genu *SOX9* [72,79,87]. Syndrom je často letální během prvního roku života v důsledku respirační insuficience způsobené malou velikostí hrudníku a tracheo-bronchiální hypoplazií [87]. Absence genu *SOX9* a oblasti jeho zesilovače nebo missense mutace v tomto genu mohou být spojeny se 46,XY poruchou sexuální diferenciace s variabilním stupněm gonadální dysgeneze a zvýšeným rizikem gonadoblastomu a maligních nádorů, neboť gen *SOX9* hraje důležitou roli v sexuální diferenciaci [82,88]. Byl popsán také případ gonadoblastomu v terénu XY gonadální dysgeneze s karmelicovou dysplazií způsobenou chromozomální translokací 46,XY,t(2;17)(p15;q24.2), kdy místo zlomu na chromozomu 17q se nacházelo mimo oblast známého zesilovače genu *SOX9* [89].

Frasierův a Denys-Drashův syndrom jsou charakterizovány predispozicí k steroid-rezistentní progresivní nefropatii, poruše sexuální diferenciace se zvýšeným rizikem rozvoje gonadálních nádorů (zejména gonadoblastomu) a Wilmsova nádoru [90]. Jsou způsobeny zárodečnou mutací genu *WT1*. Gen *WT1* je nádorový supresor, který kóduje transkripční faktor se zinkovými prsty podílející se na regulaci časného gonadálního a renálního vývoje [5,91,92]. Jako důsledek dvou alternativních sestřihových míst v exonech 5 a 9 vznikají čtyři různé izoformy proteinu WT1. Sestřih ve druhém alternativním místě, tj. exonu 9, má velký biologický význam, vede k zařazení tří aminokyselin, lyzinu, treoninu a serinu (KTS), čímž vzniká KTS-pozitivní izoforma, na rozdíl od KTS-negativní izoformy, která tyto tři aminokyseliny neobsahuje. Přesný poměr KTS-pozitivní a KTS-negativní izoformy je zřejmě klíčový pro normální funkci proteinu WT1 [93].

Zárodečné missense mutace v exonech 8 a 9 genu *WT1*, které kódují zinkový prst 2 a 3, vedou ke ztrátě regulační funkce proteinu s následnými abnormalitami vývoje glomerulů a gonadální diferenciace v rámci Denys-Drashova syndromu [94]. Většina případů tohoto syndromu je způsobena jednou nebo dvěma missense mutacemi lokalizovanými v exonu 9: c.1180C>T (p.Arg394Trp) nebo c.1186G>A (p.Asp396Asn) [94,95].

Mutace, které narušují druhé donorové alternativní místo sestřihu intronu 9 (zejména c.1432+4C>T, dříve IVS9+4C>T) genu *WT1*, vedou ke změně normálního poměru KTS-pozitivní / KTS-negativní izoformy z 2 : 1 na 1 : 2, což vede k abnormalitám vývoje glomerulů a gonadální diferenciace v rámci Frasierova syndromu [5,96]. Naproti tomu parciální delece chromozomální oblasti 11p13, která zahrnuje geny *PAX6* a *WT1*, je příčinou syndromu WAGR (Wilmsův tumor, aniridie, anomálie urogenitálního systému, mentální retardace), který je charakterizován strukturálními abnormalitami močového systému bez nefropatie [97].

Frasierův syndrom je charakterizován pomalu progredující glomerulopatií s rozvojem nefrotického syndromu často v 1. dekádě života a s renálním selháním v důsledku nespecifické fokální a segmentální glomerulární sklerózy ve 2. nebo 3. dekádě [98–101]. Tito pacienti mají gonadální dysgenezi s lištovitými gonádami. Frekvence jednostranného nebo oboustranného gonadoblastomu u těchto pacientů je uváděna 37–60 % [93,98–100]. Byli popsáni pacienti s Frasierovým syndromem, u nichž došlo k rozvoji dysgerminomu, přičemž některé tyto nádory měly gonadoblastomovou komponentu [5,101].

Ezaki et al navrhli klasifikaci Frasierova syndromu založenou na karyotypu a fenotypu pacientů [93]. Nejčastější je typ 1, při němž jsou pacienti fenotypově ženy s karyotypem 46,XY, mají normální ženské zevní genitálie a lištovité gonády [93]. U tohoto typu jsou gonadální nádory popisovány v 67 % [96]. Pacienti s typem 2 mají predominantně mužský fenotyp s karyotypem 46,XY; v literatuře bylo prozatím popsáno kolem 10 pacientů [93]. Tito pacienti mají obvykle hypospadii a nesestouplá varlata [102,103]. U typu 2 jsou gonadální nádory popisovány v 37,5 % [96]. V případě typu 3 se jedná o fenotypově ženy s karyotypem 46,XX. Gonadální nádory se u těchto pacientek nevyskytují [93]. Wilmsův tumor není u Frasierova syndromu častý [96].

Denys-Drashův syndrom je charakterizován nefrotickým syndromem s časným počátkem vzniku a progresí do renálního selhání, mužským pseudohermafroditizmem a rizikem rozvoje

Wilmsova tumoru [90]. Wilmsův tumor je nejčastější malignitou pozorovanou u pacientů s tímto syndromem. Jednostranné nebo oboustranné gonadoblastomy vznikají u 4 % pacientů, typicky mezi 1. a 3. rokem věku [90,104]. Gonadoblastom, Wilmsův tumor a onemocnění renálního parenchymu se většinou vyvíjejí časně, s průměrným věkem manifestace 1,7 roku pro nádory a 1,4 roku pro onemocnění ledvin [90].

Syndrom WAGR bývá také diagnostikován u dětských pacientek s ovariálním gonadoblastomem. Bývá však zodpovědný za menší část případů než Frasierův nebo Denys-Drashův syndrom [105].

Při diagnóze gonadoblastomu jsou osobní anamnéza Wilmsova nádoru, onemocnění renálního parenchymu, aniridie nebo anomálie urogenitálního systému vysoce podezřelé z poškození genu *WT1*. Vzhledem k vzácnosti familiárních poruch genu *WT1* nemusí být rodu anamnéza nápomocná [106].

Vzácný syndrom α -talasemie / X-vázané mentální retardace je charakterizován mentální retardací, často spojenou s α -talasemií a gonadálními abnormalitami charakteru nesestouplých varlat, testikulární dysgeneze a nejednoznačnými zevními genitáliemi [79,107,108]. Je způsoben zárodečnými mutacemi genu *ATRX* [107,108]. V souvislosti s tímto syndromem však není v literatuře popsán případ malignity.

U ovariálních nádorů ze zárodečných buněk jiných než gonadoblastom není spojení se syndromy dědičné predispozice k nádorům jasné. Byly popsány familiární případy ovariálních nádorů ze zárodečných buněk, např. benigních teratomů, ale kauzální geny nebyly zjištěny [109]. Anekdoticky byly popsány případy ovariálních nádorů ze zárodečných buněk v kontextu různých syndromů, jednoznačná souvislost však není prokázána [5].

Diferenciální diagnostika

Zralé teratomy jsou obvykle snadno diagnostikovány. Diferenciální diagnostika jiných morfologických podtypů může zahrnovat široké spektrum dalších zhoubných i nezahubných nádorů vaječníků [5].

Doporučení ke genetickému testování a preventivní opatření

U pacientů s podezřením na 46,XY gonadální dysgenezi by mělo být mimo jiné provedeno genetické vyšetření vzhledem k vysokému riziku maligní transformace buněk v dysgenetické gonádě a za účelem zjištění příčiny onemocnění. Posloupnost laboratorních genetických vyšetření, která by měla být indikována, je uvedena v tab. 3. Při přítomnosti chromozomu Y je u asymptomatických pacientek indikována oboustranná profylaktická gonadektomie se salpingektomií a ponecháním dělohy pro případný budoucí embryotransfer. Obdobně je postupováno u pacientek s diagnostikovaným jednostranným gonadoblastomem či maligním nádorem v nízkém stadiu. Neradikální konzervativní způsob operace charakteru „fertility sparing surgery“ je indikován také u pokročilých a metastatických nádorů. U těchto stadií následuje systémová chemoterapie, která je vysoce účinná vzhledem k velmi dobré chemosenzitivitě onemocnění [110]. Toto doporučení se týká také karpomelické dysplazie, Denys-Drashova a Frasierova syndromu, s výjimkou Frasierova syndromu typu 3 [5,93].

Malobuněčný karcinom vaječnicku hyperkalcemického typu

Charakteristika nádoru

Malobuněčný karcinom vaječnicku hyperkalcemického typu je vzácný agresivní nádor, který je obvykle diagnostikován u mladých žen ve 2. nebo 3. dekádě života [111]. Je často doprovázen paraneoplastickou hyperkalcemií [112]. Jedná se o jednotku spadající do skupiny malobuněčných neuroendokrinních karcinomů s výskytem v jiných anatomických lokalizacích [113]. Přes jeho vzácnost je jedná o nejčastější nediferencovaný ovariální nádor u žen ve věku pod 40 let. Byl pozorován ve věku od 14 měsíců do 56 let, s průměrným věkem diagnózy 24 let [5,112,114–116]. Jedná se o extrémně agresivní onemocnění, u 65 % pacientek dochází k relapsu onemocnění po primární léčbě. Dlouhodobé přežití je 33–55 % pro časná stadia onemocnění a 0–30 % pro pokročilá stadia onemocnění [116,117]. Vzhledem k agresivní povaze nádorů je stanovení

Tab. 3. Doporučená genetická vyšetření u pacientů s čistou nebo smíšenou gonadální dysgenezí [72].

1. Karyotyp a array CGH / SNP array.
2. Průkaz přítomnosti genu *SRY* metodou FISH nebo molekulárně geneticky.*
3. Sekvence genů *SRY*, *NSSA1* a *DHH*.**
4. Testování duplikace genu *NROB1*.**
5. U čisté formy vyloučení vzácných příčin – vyšetření delece v lokusu 9p24.3, sekvenace genů *CBX2* a *MAP3K1*.**
6. U smíšené formy, pokud jsou přítomny specifické klinické syndromické rysy při fyzikálním vyšetření, měla by být provedena sekvenace těchto genů:**
 - *SOX9*, jsou-li u pacienta přítomny známky karpomelické dysplazie;
 - *WT1*, jsou-li příznaky charakteristické pro Denysův-Drashův nebo Frasierův syndrom (delece způsobující syndrom WAGR je zachycena metodou array CGH / SNP array);
 - *ATRX*, jsou-li známky syndromu α -thalasemie / X-vázané mentální retardace.

* U pacientek se syndromem Turnerové je toto vyšetření nutné k vyloučení kryptického mozaicismu s chromozomem Y.

** V souvislosti s rozvojem sekvenace nové generace lze v dnešní době doporučit testování panelu genů asociovaných s gonadální dysgenezí, který zahrnuje všechny kauzální geny; z metody lze získat informaci jak o bodových patogenních mutacích, tak o velkých delecích a duplikacích; pro detekci delecí nebo duplikací genů lze také použít metodu array CGH/SNP array, popř. MLPA.

CGH – komparativní genomová hybridizace, SNP – jednonukleotidový polymorfismus, FISH – fluorescenční *in situ* hybridizace, syndrom WAGR – Wilmsův tumor, aniridie, anomálie urogenitálního systému, mentální retardace; MLPA – metoda amplifikace mnohočetných sond závislá na jejich ligaci

správné diagnózy zásadní. V současnosti probíhají klinické studie s novými léčivými charakteru inhibitorů H3K27 histon metyltransferázy EZH2, např. tazemetostat a ponatinibu [118,119].

Sdružené genetické syndromy

Malobuněčný karcinom vaječnicku hyperkalcemického typu je způsoben ztrátovými mutacemi v genu *SMARCA4*. Gen *SMARCA4* je nádorový supresorový gen, který kóduje protein, jenž se podílí na remodelaci chromatinu [120,121]. Somatická nebo zárodečná ztrátová patogenní mutace v genu *SMARCA4* je zjišťována v 91,5 % těchto nádorů [113]. V tkáni nádoru bývají inaktivovány obě alely genu *SMARCA4*, jedna v důsledku zárodečné mutace a druhá v důsledku somatické mutace, nebo obě v důsledku somatické mutace [122,123]. Přibližně 50 % pacientek nese zárodečnou mutaci [113,124]. Mutace v genu *SMARCA4* byly detekovány v 7 % ovariálních nádorů jiných histologických typů,

což vedlo k reklasifikaci na malobuněčný karcinom vaječnicku hyperkalcemického typu [113].

Již dříve byla známa souvislost mezi zárodečnými ztrátovými mutacemi genů *SMARCB1* a *SMARCA4* a predispozicí k rozvoji rhabdoidních tumorů; jedná se o syndromy predispozice k rhabdoidním nádorům 1 (5–15 % případů) a 2 (85–95 % případů) [125,126]. Rhabdoidní nádory mohou vznikat v jakékoli lokalizaci. V centrálním nervovém systému jsou označovány jako atypické teratoidní/rhabdoidní nádory a 50 % jich vzniká v mozečku. Nádory vzniklé v extrakraniálních lokalizacích jsou označovány jako maligní rhabdoidní nádory [127,128]. Mohou vznikat v ledvinách, v oblasti hlavy a krku, paravertebálních svalech, játrech, močovém měchýři, mediastinu, retroperitoneu, pánvi a srdci. Jedná se o špatně diferencované, vysoce agresivní nádory s výskytem nejčastěji u kojenců a batolat do 3 let věku. Vzácněji mohou vznikat později v dět-

ském věku či mladé dospělosti [79,128]. Rhabdoidní nádory na podkladě mutací genu *SMARCA4* nebyly pozorovány u pacientů starších 46 let [129]. Jedinci trpící syndromem predispozice k rhabdoidním nádorům obvykle onemocní ve věku méně než 12 měsíců synchronními rhabdoidními nádory s velmi agresivním klinickým chováním [128]. Malobuněčný karcinom vaječniku hyperkalcemického typu je morfoloogicky podobný rhabdoidním nádorům. Je zvažováno, že by mohl být součástí spektra extrakraniálních rhabdoidních nádorů [124].

Ženy nosičky patogenních mutací v genu *SMARCA4* jsou ve zvýšeném riziku vzniku malobuněčného karcinomu vaječniku hyperkalcemického typu, ale pravděpodobně také rhabdoidních nádorů [5]. Jedná se obvykle o pacientky s negativní rodinnou anamnézou malobuněčného karcinomu vaječniku hyperkalcemického typu nebo rhabdoidních nádorů, které mutaci zdědily od svého otce [5,130]. Mutace může také vzniknout *de novo*. Penetrance těchto mutací je neznámá [5].

Zatímco příčinou malobuněčného karcinomu vaječniku jsou ztrátové mutace v genu *SMARCA4*, missense mutace v tomto genu jsou příčinou syndromu Coffin-Siris [131]. Syndrom Coffin-Siris je dědičný autozomálně dominantně, ale obvykle vzniká v důsledku mutací *de novo*. Jeho hlavní klinické znaky zahrnují mentální deficit, hypotonii, poruchu příjmu potravy, hypertrichózu, typickou faciální stigmatizaci, volné klouby a poruchu vývoje nehtů [132,133]. Není přítomna predispozice k nádorovým onemocněním. Nicméně byl popsán případ pacientky s *de novo* nonsense variantou v genu *SMARCA4*, která měla příznaky syndromu Coffin-Siris, mikroftalmii a malobuněčný karcinom vaječniku hyperkalcemického typu ve 13 letech [134].

Doporučení ke genetickému testování a preventivní opatření

Vzhledem k vysokému záhytu zárodečných mutací v genu *SMARCA4* doporučujeme u všech patientek s tímto nádorem genetickou konzultaci a testování genu [124]. Ačkoli lze doporučit prediktivní testování příbuzným, si-

tuaci komplikuje neznámá penetrance onemocnění.

V současnosti nejsou dostupná oficiální doporučení pro ženy nosičky mutací ve *SMARCA4*. Účinnou prevencí by jistě byla oboustranná adnexektomie [135], ale bez známé penetrance je obtížné stanovit optimální věk pro toto opatření. Účinnost sledování není známa.

Lze doporučit gynekologické vyšetření vč. transvaginálního ultrazvuku 2–3krát ročně a vyšetření markerů CA125 a LDH 2krát ročně. Elevace obou markerů byla popsána u tohoto typu nádoru, ačkoli u markeru CA125 nejsou hodnoty tak vysoké jako u epitelálních nádorů ovaria [119,136].

Co se týče doporučení ke sledování zdravých osob se syndromy predispozice k rhabdoidním nádorům, opět nejsou k dispozici oficiální doporučení. U pacientů s mutacemi genu *SMARCB1*, kteří již rhabdoidním nádorem mozku nebo extrakraniální oblasti onemocněli, je doporučováno v 1. roce věku fyzikální a neurologické vyšetření 1krát měsíčně, ultrazvukové vyšetření hlavy 1krát měsíčně (po uzavření velké fontanely nukleární magnetická rezonance (NMR) hlavy 1krát za 2–3 měsíce), ultrazvukové vyšetření břicha a pánve nejlépe 1krát měsíčně (max. 1krát za 2–3 měsíce). A dále od 1. roku do 4.–5. roku věku NMR mozku, páteře a celého těla každé 3 měsíce. Po 4.–5. roce 2krát ročně fyzikální vyšetření s cíleným vyšetřením zobrazovacími metodami zaměřeným na symptomatologické oblasti. U missense variant v genu *SMARCB1* se screening nedoporučuje s ohledem na nízké riziko vzniku nádorů [128].

Diferenciální diagnostika

Diferenciální diagnóza je široká a zahrnuje adultní a juvenilní nádor z buněk granulózy, nádory ze zárodečných buněk, endometriální stromální sarkomy, maligní melanom, primární a metastatický malobuněčný neuroendokrinní karcinom a různé nádory z malých kulatých modrých buněk. Pro stanovení správné diagnózy je často nutné zhodnocení expertním patologem [5]. Mutace genu *SMARCA4* jsou provázeny ztrátou exprese proteinu *SMARCA4* v 97 %

případů a imunohistochemické barvení na *SMARCA4* je velmi přínosné v diagnostice onemocnění [137].

Závěr

Ovariální nádory u dětí a adolescentek jsou vzácné a je vždy nutné zvažovat možnou gonadální dysgenezi či některý ze syndromů dědičné predispozice k nádorům. Problematika vyžaduje mezioborový přístup s důrazem na pečlivou rodinnou a osobní anamnézu, precizní klinické vyšetření a diferenciální diagnostiku s dobrou znalostí syndromů, kompletní předoperační screening vč. vyšetření hormonálního spektra, onkologických markerů, karyotypizace a zobrazovacích metod.

Diagnostika souvislosti ovariálních nádorů dětského a adolescentního věku s hereditárními nádorovými syndromy je komplikována složitostí patologické diagnostiky těchto nádorů. Zásadním bodem je totiž stanovení správného histologického typu nádoru patologem. Vzhledem k raritě těchto onemocnění a morfoloogickému překryvu mezi jednotlivými typy ovariálních nádorů může dojít ke stanovení nesprávné histologické diagnózy. V důsledku toho pak nejenže nemůže být správně diagnostikován příslušný syndrom, ale může to vést k neadekvátní péči o pacientku. Proto je u dětských ovariálních nádorů vhodné expertní patologické vyšetření a stanovení specifických imunohistochemických markerů nebo molekulárně genetické testování pro stanovení správné diagnózy. V literatuře jsou většinou popsány jednotlivé případy nebo malé soubory patientek s těmito onemocněními. Opět je zapotřebí mít na paměti, že u vzácných případů nádorů publikovaných v souvislosti s konkrétním syndromem predispozice k nádorům nemusí být správně stanoven histologický typ nádoru. Postupné shromáždění informací o větších souborech patientek umožní upřesnění rizik a stanovení klinických doporučení pro sledování patientek s těmito nádorovými syndromy [5]. S rozvojem nových molekulárně genetických metod lze očekávat, že budou odhaleny další geny způsobující vznik těchto onemocnění.

1. Literatura

1. Heo SH, Kim JW, Shin SS et al. Review of ovarian tumors in children and adolescents: radiologic-pathologic correlation. *Radiographics* 2014; 34(7): 2039–2055. doi: 10.1148/rg.347130144.
2. Skinner MA, Schlatter MG, Heifetz SA et al. Ovarian neoplasms in children. *Arch Surg* 1993; 128(8): 849–853.
3. Poynter JN, Amatruda JF, Ross JA. Trends in incidence and survival of pediatric and adolescent germ cell tumors in the United States, 1975–2006. *Cancer* 2010; 116(20): 4882–4891.
4. Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS et al (eds). WHO classification of tumours of female reproductive organs. WHO Classification of Tumours. 4. ed. Lyon: IARC 2014.
5. Goudie C, Witkowski L, Vairy S et al. Paediatric ovarian tumours and their associated cancersusceptibility syndromes. *J Med Genet* 2018; 55(1): 1–10. doi: 10.1136/jmedgenet-2017-104926.
6. Schultz KA, Sencer SF, Messenger Y et al. Pediatric ovarian tumors: a review of 67 cases. *Pediatr Blood Cancer* 2005; 44(2): 167–173. doi: 10.1002/pbc.20233.
7. Wu H, Pangas SA, Eldin KW et al. Juvenile granulosa cell tumor of the ovary: a clinicopathologic study. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2017; 30(1): 138–143. doi: 10.1016/j.jpjag.2016.09.008.
8. Auguste A, Bessière L, Todeschini AL et al. Molecular analyses of juvenile granulosa cell tumors bearing AKT1 mutations provide insights into tumor biology and therapeutic leads. *Hum Mol Genet* 2015; 24(23): 6687–6698. doi: 10.1093/hmg/ddv373.
9. Schneider DT, Calaminus G, Wessalowski R et al. Ovarian sex cord-stromal tumors in children and adolescents. *J Clin Oncol* 2003; 21(12): 2357–2363. doi: 10.1200/JCO.2003.05.038.
10. Tamimi HK, Bolen JW. Enchondromatosis (Ollier's disease) and ovarian juvenile granulosa cell tumor. *Cancer* 1984; 53(7): 1605–1608.
11. Vaz RM, Turner C. Ollier disease (enchondromatosis) associated with ovarian juvenile granulosa cell tumor and precocious pseudopuberty. *J Pediatr* 1986; 108(6): 945–947.
12. Tanaka Y, Sasaki Y, Nishihira H et al. Ovarian juvenile granulosa cell tumor associated with Maffucci's syndrome. *Am J Clin Pathol* 1992; 97(4): 523–527. doi: 10.1093/ajcp/97.4.523.
13. Herget GW, Strohm P, Rottenburger C et al. Insights into enchondroma, enchondromatosis and the risk of secondary chondrosarcoma. Review of the literature with an emphasis on the clinical behaviour, radiology, malignant transformation, and the follow up. *Neoplasma* 2014; 61(4): 365–378. doi: 10.4149/neo_2014_046.
14. Burgetova A, Matejovsky Z, Zikan M et al. The association of enchondromatosis with malignant transformed chondrosarcoma and ovarian juvenile granulosa cell tumor (Ollier disease). *Taiwan J Obstet Gynecol* 2017; 56(2): 253–257. doi: 10.1016/j.tjog.2017.02.002.
15. Tan CL, Vellayappan B, Wu B et al. Molecular profiling of different glioma specimens from an Ollier disease patient suggests a multifocal disease process in the setting of IDH mosaicism. *Brain Tumor Pathol* 2018; 35(4): 202–208. doi: 10.1007/s10014-018-0327-y.
16. Leyva-Carmona M, Vázquez-López MA, Lendinez-Molinós F. Ovarian juvenile granulosa cell tumors in infants. *J Pediatr Hematol Oncol* 2009; 31(4): 304–306. doi: 10.1097/MPH.0b013e318196a70e.
17. Gell JS, Stannard MW, Ramnani DM et al. Juvenile granulosa cell tumor in a 13-year-old girl with enchondromatosis (Ollier's disease): a case report. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 1998; 11(3): 147–150.
18. Amary MF, Damato S, Halai D et al. Ollier disease and Maffucci syndrome are caused by somatic mosaic mutations of IDH1 and IDH2. *Nat Genet* 2011; 43(12): 1262–1265. doi: 10.1038/ng.994.
19. Akiyama M, Yamaoka M, Mikami-Terao Y et al. Somatic mosaic mutations of IDH1 and NPM1 associated with cup-like acute myeloid leukemia in a patient with Maffucci syndrome. *Int J Hematol* 2015; 102(6): 723–728. doi: 10.1007/s12185-015-1892-z.
20. Kenny SL, Patel K, Humphries A et al. Ovarian cellular fibroma harbouring an isocitrate dehydrogenase 1 (IDH1) mutation in a patient with Ollier disease: evidence for a causal relationship. *Histopathology* 2013; 62(4): 667–670. doi: 10.1111/his.12054.
21. Foulkes WD, Gore M, McCluggage WG. Rare non-epithelial ovarian neoplasms: Pathology, genetics and treatment. *Gynecol Oncol* 2016; 142(1): 190–198. doi: 10.1016/j.ygyno.2016.04.005.
22. Plon SE, Pirics ML, Nuchtern J et al. Multiple tumors in a child with germ-line mutations in TP53 and PTEN. *N Engl J Med* 2008; 359(5): 537–539. doi: 10.1056/NEJMc0800627.
23. Schultz KA, Pacheco MC, Yang J et al. Ovarian sex cord-stromal tumors, pleuropulmonary blastoma and DICER1 mutations: a report from the International Pleuropulmonary Blastoma Registry. *Gynecol Oncol* 2011; 122(2): 246–50. doi: 10.1016/j.ygyno.2011.03.024.
24. Kalfa N, Ecochard A, Patte C et al. Activating mutations of the stimulatory protein in juvenile ovarian granulosa cell tumors: a new prognostic factor? *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(5): 1842–1847. doi: 10.1210/jc.2005-2710.
25. Bessière L, Todeschini AL, Auguste A et al. A hot-spot of in-frame duplications activates the oncoprotein AKT1 in juvenile granulosa cell tumors. *EBioMedicine* 2015; 2(5): 421–431. doi: 10.1016/j.ebiom.2015.03.002.
26. Shah SP, Köbel M, Senz J et al. Mutation of FOXL2 in granulosa-cell tumors of the ovary. *N Engl J Med* 2009; 360(26): 2719–2729. doi: 10.1056/NEJMoa0902542.
27. Fuller PJ, Leung D, Chu S. Genetics and genomics of ovarian sex cord-stromal tumors. *Clin Genet* 2017; 91(2): 285–291. doi: 10.1111/cge.12917.
28. Gui T, Cao D, Shen K et al. A clinicopathological analysis of 40 cases of ovarian Sertoli-Leydig cell tumors. *Gynecol Oncol* 2012; 127(2): 384–389. doi: 10.1016/j.ygyno.2012.07.114.
29. Pommert L, Bradley W. Pediatric gynecologic cancers. *Curr Oncol Rep* 2017; 19(7): 44. doi: 10.1007/s11912-017-0604-7.
30. Young RH, Scully RE. Ovarian Sertoli-Leydig cell tumors. A clinicopathological analysis of 207 cases. *Am J Surg Pathol* 1985; 9(8): 543–569.
31. Horta M, Cunha TM, Marques RC et al. Ovarian Sertoli-Leydig cell tumor with heterologous elements of gastrointestinal type associated with elevated serum alpha-fetoprotein level: an unusual case and literature review. *J Radiol Case Rep* 2014; 8(11): 30–41. doi: 10.3941/jrcr.v8i11.2272.
32. Hill DA, Ivanovich J, Priest JR et al. Germline DICER1 mutations in familial pleuropulmonary blastoma. *Science* 2009; 325(5943): 965. doi: 10.1126/science.1174334.
33. Slade I, Bacchelli C, Davies H et al. DICER1 syndrome: clarifying the diagnosis, clinical features and management implications of a pleiotropic tumour predisposition syndrome. *J Med Genet* 2011; 48(4): 273–278. doi: 10.1136/jmg.2010.083790.
34. Schultz KA, Rednam SP, Kamihara J et al. PTEN, DICER1, FH and their associated tumor susceptibility syndromes: clinical features, genetics and surveillance recommendations in childhood. *Clin Cancer Res* 2017; 23(12): e76–e82. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0629.
35. Choong CS, Priest JR, Foulkes WD. Exploring the endocrine manifestations of DICER1 mutations. *Trends Mol Med* 2012; 18(9): 503–505. doi: 10.1016/j.molmed.2012.07.003.
36. Foulkes WD, Priest JR, Duchaine TF. DICER1: mutations, microRNAs and mechanisms. *Nat Rev Cancer* 2014; 14(10): 662–672. doi: 10.1038/nrc3802.
37. Kim J, Schultz KA, Hill DA et al. The prevalence of germline DICER1 pathogenic variation in cancer populations. *Mol Genet Genomic Med* 2019; e555. doi: 10.1002/mgg3.555.
38. de Kock L, Terzic T, McCluggage WG et al. DICER1 mutations are consistently present in moderately and poorly differentiated sertoli-leydig cell tumors. *Am J Surg Pathol* 2017; 41(9): 1178–1187. doi: 10.1097/PAS.0000000000000895.
39. Khan NE, Bauer AJ, Schultz KAP et al. Quantification of thyroid cancer and multinodular goiter risk in the DICER1 syndrome: a family-based cohort study. *J Clin Endocrinol Metab* 2017; 102(5): 1614–1622. doi: 10.1210/jc.2016-2954.
40. Rutter MM, Jha P, Schultz KA et al. DICER1 mutations and differentiated thyroid carcinoma: evidence of a direct association. *J Clin Endocrinol Metab* 2016; 101(1): 1–5. doi: 10.1210/jc.2015-2169.
41. Durieux E, Descotes F, Mauduit C et al. The co-occurrence of an ovarian Sertoli-Leydig cell tumor with a thyroid carcinoma is highly suggestive of a DICER1 syndrome. *Virchows Arch* 2016; 468(5): 631–636. doi: 10.1007/s00428-016-1922-0.
42. Breneman M, Field A, Yang J et al. Temporal order of RNase IIIb and loss-of-function mutations during development determines phenotype in pleuropulmonary blastoma / DICER1 syndrome: a unique variant of the two-hittumor suppression model. *F1000Res* 2015; 4: 214. doi: 10.12688/f1000research.6746.2.
43. Anglesio MS, Wang Y, Yang W et al. Cancer-associated somatic DICER1 hotspot mutations cause defective miRNA processing and reverse-strand expression bias to predominantly mature 3p strands through loss of 5p strand cleavage. *J Pathol* 2013; 229(3): 400–409. doi: 10.1002/path.4135.
44. Witkowski L, Mattina J, Schönberger S et al. DICER1 hotspot mutations in non-epithelial gonadal tumours. *Br J Cancer* 2013; 109(10): 2744–2750. doi: 10.1038/bjc.2013.637.
45. Heravi-Moussavi A, Anglesio MS, Cheng SW et al. Recurrent somatic DICER1 mutations in nonepithelial ovarian cancers. *N Engl J Med* 2012; 366(3): 234–242. doi: 10.1056/NEJMoa1102903.
46. Howell L, Bader A, Mullassery D et al. Sertoli Leydig cell ovarian tumour and gastric polyps as presenting features of Peutz-Jeghers syndrome. *Pediatr Blood Cancer* 2010; 55(1): 206–207. doi: 10.1002/pbc.22433.
47. Ravishanker S, Mangray S, Kurkchubasche A et al. Unusual sertoli cell tumor associated with sex cord tumor with annular tubules in peutz-jeghers syndrome: report of a case and review of the literature on ovarian tumors in peutzjehgers syndrome. *Int J Surg Pathol* 2016; 24(3): 269–273. doi: 10.1177/1066896915620663.
48. Brown J, Sood AK, Deavers MT et al. Patterns of metastasis in sex cord-stromal tumors of the ovary: can routine staging lymphadenectomy be omitted? *Gynecol Oncol* 2009; 113(1): 86–90. doi: 10.1016/j.ygyno.2008.12.007.
49. Young RH, Welch WR, Dickersin GR et al. Ovarian sex cord tumor with annular tubules: review of 74 cases including 27 with Peutz-Jeghers syndrome and four with adenoma malignum of the cervix. *Cancer* 1982; 50(7): 1384–1402.
50. Qian Q, You Y, Yang J et al. Management and prognosis of patients with ovarian sex cord tumor with annular tubules: a retrospective study. *BMC Cancer* 2015; 15: 270. doi: 10.1186/s12885-015-1277-y.
51. Han Y, Li S, Wu L et al. Non-Peutz-Jeghers syndrome-associated ovarian sex cord tumor with annular tubules: report of a malignant case. *J Obstet Gynaecol Res* 2016; 42(2): 224–227. doi: 10.1111/jog.12883.
52. Scully RE. Sex cord tumor with annular tubules a distinctive ovarian tumor of the Peutz-Jeghers syndrome. *Cancer* 1970; 25(5): 1107–1121.

53. Puchmajerová A, Vasovčák P, Křepelová A. Peutz-Jeghersův syndrom. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl 1): S36–S37.
54. Meserve EE1, Nucci MR2. Peutz-Jeghers syndrome: pathobiology, pathologic manifestations, and suggestions for recommending genetic testing in pathology reports. *Surg Pathol Clin* 2016; 9(2): 243–268. doi: 10.1016/j.path.2016.01.006.
55. Schreiberman IR, Baker M, Amos C et al. The hamartomatous polyposis syndromes: a clinical and molecular review. *Am J Gastroenterol* 2005; 100(2): 476–490. doi: 10.1111/j.1572-0241.2005.40237.x.
56. Connolly DC, Katabuchi H, Cliby WA et al. Somatic mutations in the STK11 / LKB1 gene are uncommon in rare gynecological tumor types associated with Peutz-Jegher's syndrome. *Cancer* 2000; 156(1): 339–345. doi: 10.1016/S0002-9440(10)64735-9.
57. Young RH. Sex cord-stromal tumors of the ovary and testis: their similarities and differences with consideration of selected problems. *Mod Pathol* 2005; 18 (Suppl 2): S81–S98. doi: 10.1038/modpathol.3800311.
58. Oliva E, Alvarez T, Young RH. Sertoli cell tumors of the ovary: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 54 cases. *Am J Surg Pathol* 2005; 29(2): 143–156.
59. Tavassoli FA, Norris HJ. Sertoli tumors of the ovary. A clinicopathologic study of 28 cases with ultrastructural observations. *Cancer* 1980; 46(10): 2281–2297.
60. Massa G, Roggen N, Renard M et al. Germline mutation in the STK11 gene in a girl with an ovarian Sertoli cell tumour. *Eur J Pediatr* 2007; 166(10): 1083–1085. doi: 10.1007/s00431-006-0352-4.
61. Poynter JN, Amatruda JF, Ross JA. Trends in incidence and survival of pediatric and adolescent patients with germ cell tumors in the United States, 1975 to 2006. *Cancer* 2010; 116(20): 4882–4891. doi: 10.1002/cncr.25454.
62. Scully RE. Gonadoblastoma: a review of 74 cases. *Cancer* 1970; 25(6): 1340–1356.
63. Hung W, Randolph JG, Chandra R. Gonadoblastoma in dysgenetic testis causing male pseudohermaphroditism in newborn. *Urology* 1981; 17(6): 584–587.
64. King TF, Conway GS. Swyer syndrome. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2014; 21(6): 504–510. doi: 10.1097/MED.0000000000000113.
65. Hart WR, Burkons DM. Germ cell neoplasms arising in gonadoblastomas. *Cancer* 1979; 43(2): 669–678.
66. Jorgensen A, Lindhardt Johansen M, Juul A et al. Pathogenesis of germ cell neoplasia in testicular dysgenesis and disorders of sex development. *Semin Cell Dev Biol* 2015; 45: 124–137. doi: 10.1016/j.semcdb.2015.09.013.
67. De Backer A, Madern GC, Oosterhuis JW et al. Ovarian germ cell tumors in children: a clinical study of 66 patients. *Pediatr Blood Cancer* 2006; 46(4): 459–464. doi: 10.1002/pbc.20633.
68. Kurman RJ, Norris HJ. Embryonal carcinoma of the ovary: a clinicopathologic entity distinct from endodermal sinus tumor resembling embryonal carcinoma of the adult testis. *Cancer* 1976; 38(6): 2420–2433.
69. Scully RE. Gonadoblastoma; a gonadal tumor related to the dysgerminoma (seminoma) and capable of sex-hormone production. *Cancer* 1953; 6(3): 455–463.
70. Skakkebaek NE, Berthelsen JG, Giwercman A. Carcinoma-in-situ of the testis: possible origin from gonocytes and precursor of all types of germ cell tumours except spermatocytoma. *Int J Androl* 1987; 10(1): 19–28.
71. Abaci A, Catli G, Berberoglu M. Gonadal malignancy risk and prophylactic gonadectomy in disorders of sexual development. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2015; 28(9–10): 1019–1027. doi: 10.1515/jpem-2014-0522.
72. McCann-Crosby B, Mansouri R, Dietrich JE et al. State of the art review in gonadal dysgenesis: challenges in diagnosis and management. *Int J Pediatr Endocrinol* 2014; 2014(1): 4. doi: 10.1186/1687-9856-2014-4.
73. MacLaughlin DT, Donahoe PK. Sex determination and differentiation. *N Engl J Med* 2004; 350(4): 367–378. doi: 10.1056/NEJMra022784.
74. Fallat ME, Donahoe PK. Intersex genetic anomalies with malignant potential. *Curr Opin Pediatr* 2006; 18(3): 305–311. doi: 10.1097/01.mop.0000193316.60580.d7.
75. Priya PK, Mishra W, Choudhary S et al. A case of primary amenorrhea with Swyer syndrome. *J Hum Reprod Sci* 2017; 10(4): 310–312. doi: 10.4103/jhrs.JHRS_128_17.
76. Bastian C, Muller JB, Lortat-Jacob S et al. Genetic mutations and somatic anomalies in association with 46,XY gonadal dysgenesis. *Fertil Steril* 2015; 103(5): 1297–1304. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.01.043.
77. Wong YS, Tam YH, Pang KKY et al. Clinical heterogeneity in children with gonadal dysgenesis associated with non-mosaic 46,XY karyotype. *J Pediatr Urol* 2017; 13(5): 508.e1–508.e6. doi: 10.1016/j.jpuro.2017.03.021.
78. Swyer GI. Male pseudohermaphroditism: a hitherto undescribed form. *Br Med J* 1955; 2(4941): 709–712. doi: 10.1136/bmj.2.4941.709.
79. Omim.org. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine; c1966-2019. [online]. Dostupné z: <https://www.omim.org>.
80. Michala L, Creighton SM. The XY female. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2010; 24(2): 139–148. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2009.09.009.
81. Rocha VB, Guerra-Junior G, Marques-de-Faria AP et al. Complete gonadal dysgenesis in clinical practice: the 46,XY karyotype accounts for more than one third of cases. *Fertil Steril* 2011; 96(6): 1431–1434. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.09.009.
82. Cameron FJ, Sinclair AH. Mutations in SRY and SOX9: testis-determining genes. *Hum Mutat* 1997; 9(5): 388–395. doi: 10.1002/(SICI)1098-1004(1997)9:5<388::AID-HUMU-2>3.0.CO;2-0.
83. Wilhelm D, Koopman P. The makings of maleness: towards an integrated view of male sexual development. *Nat Rev Genet* 2006; 7(8): 620–631. doi: 10.1038/nrg1903.
84. Cui X, Cui Y, Shi L et al. A basic understanding of Turner syndrome: incidence, complications, diagnosis, and treatment. *Intractable Rare Dis Res* 2018; 7(4): 223–228. doi: 10.5582/irdr.2017.01056.
85. Schoemaker MJ, Swerdlow AJ, Higgins CD et al. Cancer incidence in women with Turner syndrome in Great Britain: a national cohort study. *Lancet Oncol* 2008; 9(3): 239–246. doi: 10.1016/S1470-2045(08)70033-0.
86. Gravholt CH, Fedder J, Naeraa RW et al. Occurrence of gonadoblastoma in females with Turner syndrome and Y chromosome material: a population study. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(9): 3199–3202. doi: 10.1210/jcem.85.9.6800.
87. Matsushita M, Kitoh H, Kaneko H et al. A novel SOX9 H169Q mutation in a family with overlapping phenotype of mild campomelic dysplasia and small patella syndrome. *Am J Med Genet* 2013; 161A: 2528–2534. doi: 10.1002/ajmg.a.36134.
88. Tam YH, Wong YS, Pang KK et al. Tumor risk of children with 45,X/46,XY gonadal dysgenesis in relation to their clinical presentations: further insights into the gonadal management. *J Pediatr Surg* 2016; 51(9): 1462–1466. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2016.03.006.
89. Morozumi K, Ainoya K, Takemoto J et al. Newly identified t(2;17)(p15;q24.2) chromosomal translocation is associated with dysgenetic gonads and multiple somatic anomalies. *Tohoku J Exp Med* 2018; 245(3): 187–191. doi: 10.1620/tjem.245.187.
90. Mueller RF. The Denys-Drash syndrome. *J Med Genet* 1994; 31(6): 471–477. doi: 10.1136/jmg.31.6.471.
91. Kreidberg JA, Sariola H, Loring JM et al. WT-1 is required for early kidney development. *Cell* 1993; 74(4): 679–691.
92. Call KM, Glaser T, Ito CY et al. Isolation and characterization of a zinc finger polypeptide gene at the human chromosome 11 Wilms' tumor locus. *Cell* 1990; 60(3): 509–520.
93. Ezaki J, Hashimoto K, Asano T et al. Gonadal tumor in Frasier syndrome: a review and classification. *Cancer Prev Res* 2015; 8(4): 271–276. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-14-0415.
94. Pelletier J, Bruening W, Kashtan CE et al. Germline mutations in the Wilms' tumor suppressor gene are associated with abnormal urogenital development in Denys-Drash syndrome. *Cell* 1991; 67(2): 437–447.
95. Little M, Wells C. A clinical overview of WT1 gene mutations. *Hum Mutat* 1997; 9(3): 209–225. doi: 10.1002/(SICI)098-1004(1997)9:3<209::AID-HUMU2>3.0.CO;2-2.
96. Barbaux S, Niaudet P, Gubler MC et al. Donor splice-site mutations in WT1 are responsible for Frasier syndrome. *Nat Genet* 1997; 17(4): 467–470. doi: 10.1038/ng1297-467.
97. Huynh MT, Boudry-Labis E, Duban B et al. WAGR syndrome and congenital hypothyroidism in a child with a Mosaic 11p13 deletion. *Am J Med Genet A* 2017; 173(6): 1690–1693. doi: 10.1002/ajmg.a.38206.
98. Frasier SD, Bashore RA, Mosier HD. Gonadoblastoma associated with pure gonadal dysgenesis in monozygotic twins. *J Pediatr* 1964; 64: 740–745.
99. Hanning RV Jr, Chesney RW, Moorthy AV et al. A syndrome of chronic renal failure and XY gonadal dysgenesis in young phenotypic females without genital ambiguity. *Am J Kidney Dis* 1985; 6(1): 40–48.
100. Kinberg JA, Angle CR, Wilson RB. Nephropathy-gonadal dysgenesis, type 2: renal failure in three siblings with XY dysgenesis in one. *Am J Kidney Dis* 1987; 9(6): 507–510.
101. Joki-Erkila MM, Karikoski R, Rantala I et al. Gonadoblastoma and dysgerminoma associated with XY gonadal dysgenesis in an adolescent with chronic renal failure: a case of Frasier syndrome. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2002; 15(3): 145–149.
102. Melo KF, Martin RM, Costa EM et al. An unusual phenotype of Frasier syndrome due to IVS9+4C>T mutation in the WT1 gene: predominantly male ambiguous genitalia and absence of gonadal dysgenesis. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(6): 2500–2505. doi: 10.1210/jcem.87.6.8521.
103. Kitsiou-Tzeli S, Deligiorgi M, Malaktari-Skarantavou S et al. Sertoli cell tumor and gonadoblastoma in an untreated 29-year-old 46,XY phenotypic male with Frasier syndrome carrying a WT1 IVS9+4C>T mutation. *Hormones (Athens)* 2012; 11(3): 361–367. doi: 10.14310/horm.2002.1366.
104. Patel PR, Pappas J, Arva NC et al. Early presentation of bilateral gonadoblastomas in a Denys-Drash syndrome patient: a cautionary tale for prophylactic gonadectomy. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2013; 26(9–10): 971–974. doi: 10.1515/jpem-2012-0409.
105. Andersen SR, Geertinger P, Larsen HW et al. Aniridia, cataract and gonadoblastoma in a mentally retarded girl with deletion of chromosome II. A clinicopathological case report. *Ophthalmologica* 1977; 176(3): 171–177. doi: 10.1159/000308711.
106. Kaneko Y, Okita H, Haruta M et al. A high incidence of WT1 abnormality in bilateral Wilms tumours in Japan, and the penetrance rates in children with WT1 germline mutation. *Br J Cancer* 2015; 112(6): 1121–1133. doi: 10.1038/bjc.2015.13.
107. Fleming A, Vilain E. The endless quest for sex determination genes. *Clin Genet* 2005; 67(1): 15–25. doi: 10.1111/j.1399-0004.2004.00376.x.
108. Wilkie AO, Zeitlin HC, Lindenbaum RH et al. Clinical features and molecular analysis of the alpha thalassaemia/mental retardation syndromes. II. Cases without detectable abnormality of the alpha globin complex. *Am J Hum Genet* 1990; 46(6): 1127–1140.
109. Giambartolomei C, Mueller CM, Greene MH et al. A mini-review of familial ovarian germ cell tumors: an additional manifestation of the familial testicular germ cell tumor syndrome. *Cancer Epidemiol* 2009; 33(1): 31–36. doi: 10.1016/j.canep.2009.04.015.
110. Bajčiová V. Nádry ovarii u dětí a adolescentních dívek. *Onkologie* 2014; 8(2): 54–61.

111. Young RH, Oliva E, Scully RE. Small cell carcinoma of the ovary, hypercalcemic type. A clinicopathological analysis of 150 cases. *Am J Surg Pathol* 1994; 18(11): 1102–1116.
112. Dickersin GR, Kline IW, Scully RE. Small cell carcinoma of the ovary with hypercalcemia: a report of eleven cases. *Cancer* 1982; 49(1): 188–197.
113. Lin DI, Chudnovsky Y, Duggan B et al. Comprehensive genomic profiling reveals inactivating SMARCA4 mutations and low tumor mutational burden in small cell carcinoma of the ovary, hypercalcemic-type. *Gynecol Oncol* 2017; 147(3): 626–633. doi: 10.1016/j.ygyno.2017.09.031.
114. Harrison ML, Hoskins P, du Bois A et al. Small cell of the ovary, hypercalcemic type – analysis of combined experience and recommendation for management. A GCIIG study. *Gynecol Oncol* 2006; 100(2): 233–238. doi: 10.1016/j.ygyno.2005.10.024.
115. Florell SR, Bruggers CS, Matlak M et al. Ovarian small cell carcinoma of the hypercalcemic type in a 14 month old: the youngest reported case. *Med Pediatr Oncol* 1999; 32(4): 304–307.
116. Witkowski L, Goudie C, Ramos P et al. The influence of clinical and genetic factors on patient outcome in small cell carcinoma of the ovary, hypercalcemic type. *Gynecol Oncol* 2016; 141(3): 454–460. doi: 10.1016/j.ygyno.2016.03.013.
117. Estel R, Hackethal A, Kalder M et al. Small cell carcinoma of the ovary of the hypercalcaemic type: an analysis of clinical and prognostic aspects of a rare disease on the basis of cases published in the literature. *Arch Gynecol Obstet* 2011; 284(5): 1277–1282. doi: 10.1007/s00404-011-1846-5.
118. Chan-Penebre E, Armstrong K, Drew A et al. Selective killing of SMARCA2- and SMARCA4-deficient small cell carcinoma of the ovary, hypercalcemic type cells by inhibition of EZH2: in vitro and in vivo preclinical models. *Mol Cancer Ther* 2017; 16(5): 850–860. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-16-0678.
119. Lu B, Shi H. An in-depth look at small cell carcinoma of the ovary, hypercalcemic type (SCCOHT): clinical implications from recent molecular findings. *J Cancer* 2019; 10(1): 223–237. doi: 10.7150/jca.26978.
120. Hodges HC, Stanton BZ, Cermakova K et al. Dominant-negative SMARCA4 mutants alter the accessibility landscape of tissue-unrestricted enhancers. *Nat Struct Mol Biol* 2018; 25(1): 61–72. doi: 10.1038/s41594-017-0007-3.
121. Bourgo RJ, Siddiqui H, Fox S et al. SWI/SNF deficiency results in aberrant chromatin organization, mitotic failure, and diminished proliferative capacity. *Mol Biol Cell* 2009; 20(14): 3192–3199. doi: 10.1091/mbc.E08-12-1224.
122. Jelinic P, Mueller JJ, Olvera N et al. Recurrent SMARCA4 mutations in small cell carcinoma of the ovary. *Nat Genet* 2014; 46(5): 424–426. doi: 10.1038/ng.2922.
123. Ramos P, Karnezis AN, Craig DW et al. Small cell carcinoma of the ovary, hypercalcemic type, displays frequent inactivating germline and somatic mutations in SMARCA4. *Nat Genet* 2014; 46(5): 427–429. doi: 10.1038/ng.2928.
124. Witkowski L, Carrot-Zhang J, Albrecht S et al. Germline and somatic SMARCA4 mutations characterize small cell carcinoma of the ovary, hypercalcemic type. *Nat Genet* 2014; 46(5): 438–443. doi: 10.1038/ng.2931.
125. Schneppenheim R, Frühwald MC, Gesk S et al. Germline nonsense mutation and somatic inactivation of SMARCA4/BRG1 in a family with rhabdoid tumor predisposition syndrome. *Am J Hum Genet* 2010; 86(2): 279–284. doi: 10.1016/j.ajhg.2010.01.013.
126. Hasselblatt M, Gesk S, Oyen F et al. Nonsense mutation and inactivation of SMARCA4 (BRG1) in an atypical teratoid/ rhabdoid tumor showing retained SMARCB1 (INI1) expression. *Am J Surg Pathol* 2011; 35(6): 933–935. doi: 10.1097/PAS.0b013e3182196a39.
127. Foulkes WD, Clarke BA, Hasselblatt M et al. No small surprise - small cell carcinoma of the ovary, hypercalcaemic type, is a malignant rhabdoid tumour. *J Pathol* 2014; 233(3): 209–214. doi: 10.1002/path.4362.
128. Nemes K, Bens S, Bourdeaut F et al. Rhabdoid tumor predisposition syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA et al (eds). Seattle: University of Washington 1993–2018.
129. Hasselblatt M, Nagel I, Oyen F et al. SMARCA4-mutated atypical teratoid/rhabdoid tumors are associated with inherited germline alterations and poor prognosis. *Acta Neuropathol* 2014; 128(3): 453–456. doi: 10.1007/s00401-014-1323-x.
130. Witkowski L, Donini N, Byler-Dann R et al. The hereditary nature of small cell carcinoma of the ovary, hypercalcemic type: two new familial cases. *Fam Cancer* 2017; 16(3): 395–399. doi: 10.1007/s10689-016-9957-6.
131. Bögershausen N, Wollnik B. Mutational landscapes and phenotypic spectrum of SWI/SNF-related intellectual disability disorders. *Front Mol Neurosci* 2018; 11: 252. doi: 10.3389/fnmol.2018.00252.
132. Coffin GS, Siris E. Mental retardation with absent fifth fingernail and terminal phalanx. *Am J Dis Child* 1970; 119(5): 433–439.
133. Santen GW, Aten E, Vulto-van Silfhout AT et al. Coffin-Siris syndrome and the BAF complex: genotype-phenotype study in 63 patients. *Hum Mutat* 2013; 34(11): 1519–1528. doi: 10.1002/humu.22394.
134. Errichiello E, Mustafa N, Vetro A et al. SMARCA4 inactivating mutations cause concomitant Coffin-Siris syndrome, microphthalmia and small-cell carcinoma of the ovary hypercalcaemic type. *J Pathol* 2017; 243(1): 9–15. doi: 10.1002/path.4926.
135. Berchuck A, Witkowski L, Hasselblatt M et al. Prophylactic oophorectomy for hereditary small cell carcinoma of the ovary, hypercalcemic type. *Gynecol Oncol Rep* 2015; 12: 20–22. doi: 10.1016/j.gore.2015.02.002.
136. Nasioudis D, Chapman-Davis E, Frey MK et al. Small cell carcinoma of the ovary: a rare tumor with a poor prognosis. *Int J Gynecol Cancer* 2018; 28(5): 932–938. doi: 10.1097/IGC.0000000000001243.
137. Witkowski L, Goudie C, Foulkes WD et al. Small-cell carcinoma of the ovary of hypercalcemic type (malignant rhabdoid tumor of the ovary): a review with recent developments on pathogenesis. *Surg Pathol Clin* 2016; 9(2): 215–226. doi: 10.1016/j.path.2016.01.005.

Polypózy zažívacího traktu a Lynchův syndrom z pohledu patologa

Gastrointestinal Polyposis and Lynch Syndrome – a Pathologist's Perspective

Pokorová Š., Fabian P.

Oddělení onkologické patologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn

Gastrointestinální polypózy a Lynchův syndrom jsou heterogenní skupinou dědičných nádorových syndromů spojených se zvýšeným rizikem kolorektálního karcinomu i jiných zhoubných nádorů, přičemž jejich typickou časnou klinickou manifestací je – s výjimkou Lynchova syndromu – výskyt mnohočetných polypů v zažívacím traktu. Včasné rozpoznání umožňuje zařazení nosičů patogenních mutací do screeningových programů a přijetí preventivních opatření směřujících k minimalizaci rizik spojených s rozvojem nádorů. Histopatologické vyšetření gastrointestinálních lézí může v některých případech být časným indikátorem nádorového syndromu a nasměrovat pacienty a jejich rodiny k vyšetření lékařským genetikem.

Klíčová slova

kolorektální karcinom – Lynchův syndrom – gastrointestinální polypózy

Summary

Gastrointestinal polyposis and Lynch syndrome are a group of heterogeneous hereditary tumor syndromes associated with an increased risk of developing colorectal carcinoma and other malignancies. Typical early manifestations of gastrointestinal polyposis include multiple polyps in the gastrointestinal tract. Early recognition of these syndromes enables patients carrying a pathogenic mutation to undergo screening and to instigate precautions to minimize the risk of developing tumors. In some cases, gastrointestinal lesions could be an early indicator of tumor syndrome and histopathologic examination could lead to a recommendation for genetic testing of patients and their families.

Key words

colorectal carcinoma – Lynch syndrome – gastrointestinal polyposis

Podpořeno MZ ČR RVO (MOÚ, 00209805).

Supported by Ministry of Health, Czech Republic – Conceptual Development of Research Organization (MMCI, 00209805).

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. Pavel Fabian, Ph.D.
Oddělení onkologické patologie
Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
656 53 Brno
e-mail: fabian@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 16. 4. 2019

Přijato/Accepted: 6. 6. 2019

doi: 10.14735/amko2019S92

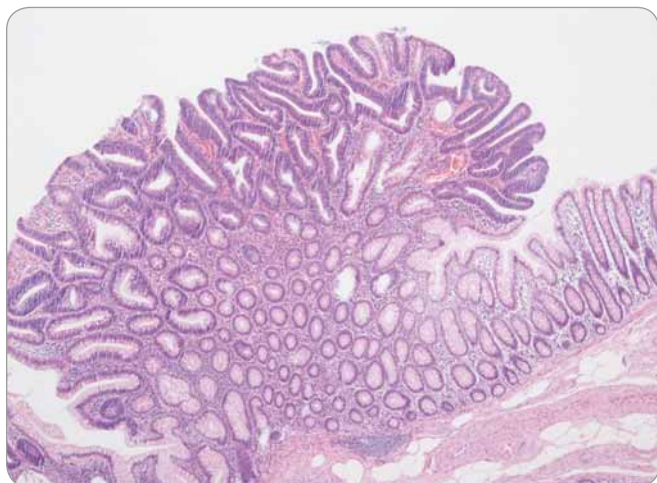
Přehled morfologie polypů GIT spojených s polypózami [1–4]

Konvenční adenomy jsou charakterizovány tubulárním (obr. 1) či vilózním (obr. 2) uspořádáním a epiteliální dysplazií převážně nízkého (low-grade – LG) či méně často vysokého (high-grade – HG) stupně. Morfologicky jsou adenomy u polypóz zcela totožné se sporadickými lézemi. Na možnost polypózy tak upozorní spíše jejich výskyt v neobvykle mladém věku či mnohočetnost. Je potřeba zmínit, že u Lynchova syndromu se mohou též vyskytovat polypózní léze – typicky jsou to v mladším věku a v proximálním colon vznikající vilózní adenomy, často s HG dysplazií. Analogicky s invazivními nádory u Lynchova syn-

dromu (LS) jsou charakteristické ztrátou exprese některého z mismatch repair (MMR) proteinů.

Pilovité (serrated) léze jsou charakterizovány epiteliální proliferací tvořící četné jemné mikropapilární projekce, takže v podélném řezu připomínají zuby pily. Do spektra serrated lézí patří: a) hyperplastické polypy – morfologicky lze definovat tři subtypy, pravděpodobně bez klinického významu – jsou tvořeny paralelně uspořádanými kryptami s povrchově lokalizovaným pilovitým reliéfem non-dysplastického epitelu (obr. 3); b) sesilní serrated adenomy/polypy (SSA/P) s podobným nekomplexním uspořádáním, pilovitá kontura je ale lokalizována zejména v bázích krypt,

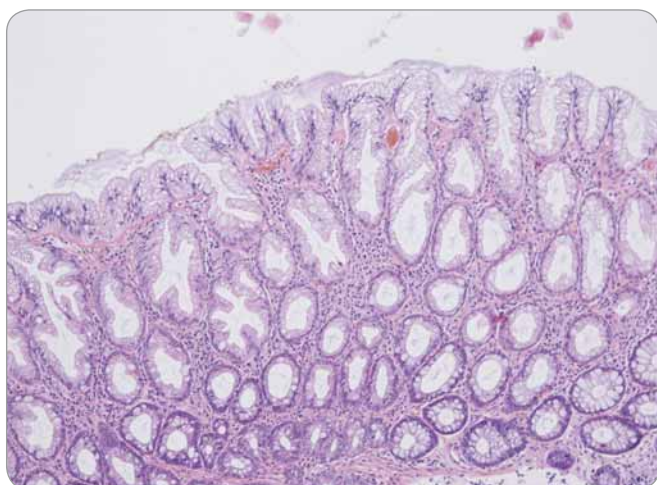
které se navíc nepravidelně dilatují a deformují (obr. 4), odlišení hyperplastického polypu od SSA/P je v některých případech obtížné až nemožné; c) tradiční serrated adenomy (TSA), jež se svou komplexní větvenou strukturou více podobají tradičním adenomům, zachovávají si ale pilovitou konturu výstelky (obr. 5). Epiteliální dysplazie v hyperplastickém polypu a SSA/P obvykle chybí, naopak v TSA je spíše pravidlem. Tato dysplazie může mít specifický vzhled (tzv. dysplazie serrated typu), ale také může mít morfolonii shodnou s konvenčními adenomy (dříve se serrated léze s konvenční dysplazií považovaly za kombinované či smíšené léze), a proto také může být v individuálním případě obtížné až



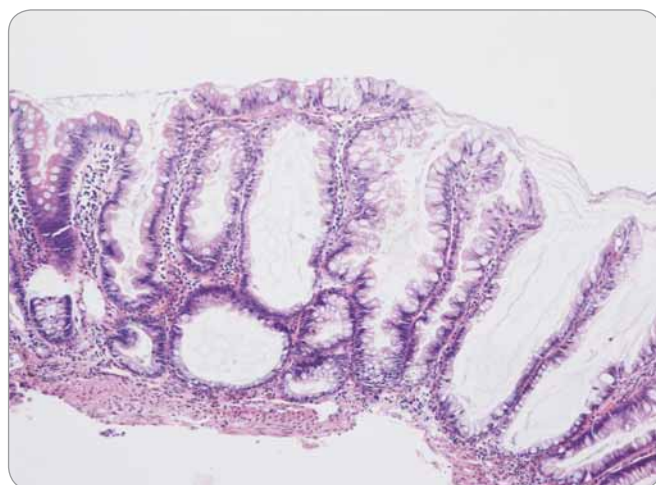
Obr. 1. Tubulární adenom tračnicku s low-grade epiteliální dysplazií – nevětvené tubuly.



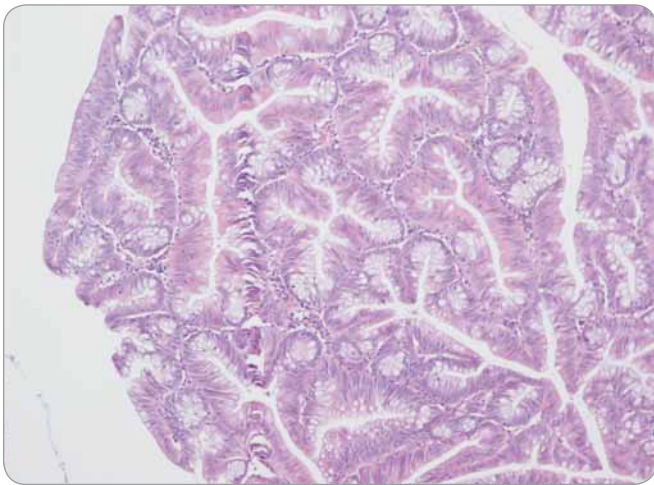
Obr. 2. Vilózní adenom tračnicku s low-grade epiteliální dysplazií – nevětvené štíhlé klky.



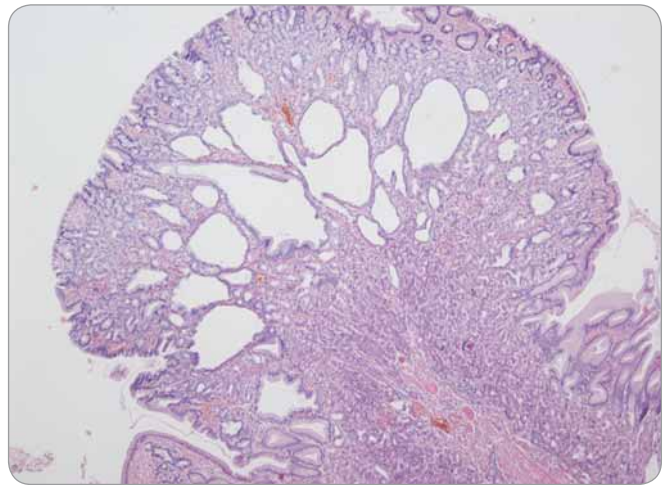
Obr. 3. Hyperplastický polyp tračnicku – pilovité uspořádání epitelu ve svrchní polovině krypt, bazální polovina krypt bez dilatace a bez pilovité kontury.



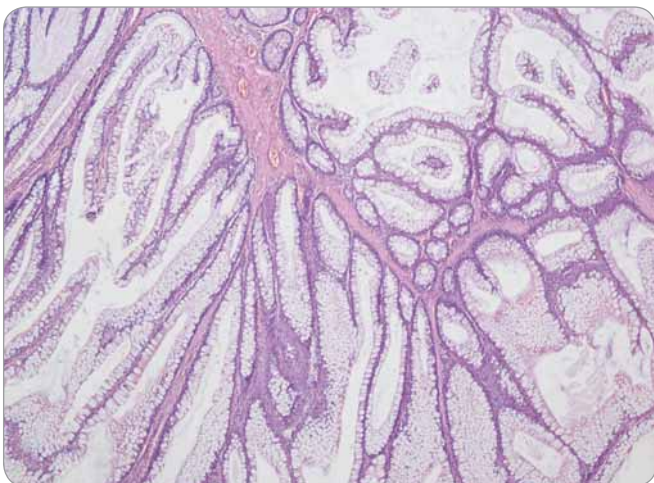
Obr. 4. Sesilní serrated adenom/polyp tračnicku – pilovité uspořádání epitelu v celé délce bazálně dilatovaných krypt.



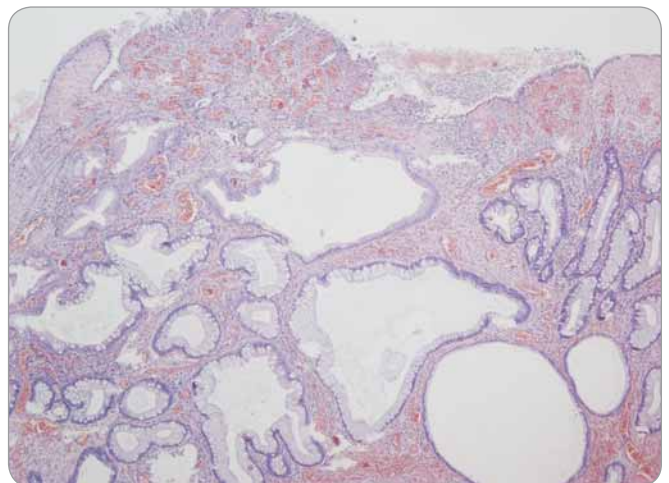
Obr. 5. Tradiční serrated adenom tračniku s low-grade epiteliální dysplazií – komplexní stavba větvených krypt, pilovité uspořádání epitelu.



Obr. 6. Polyp z fundických žlázek žaludku – cysticky dilatované korporální žlázy, bez epiteliální dysplazie.



Obr. 7. Peutzův-Jeghersův polyp tračniku – stromečkovitě větvené výběžky muscularis mucosae, epiteliální výstelka tvořena normálními enterocyty a pohárkovými buňkami sliznice colon, bez dysplazie.



Obr. 8. Juvenilní polyp tračniku – povrchová eroze, edematózní proprie se zánětlivou infiltrací, mikrocysty s výstelkou tvořenou normálními enterocyty a pohárkovými buňkami sliznice colon, bez dysplazie.

nemožné rozlišit dysplastickou serrated lézi od konvenčního adenomu.

Polypy z fundických žlázek (fundic gland polyps – FGP) jsou charakteristické mikrocystickou dilatací gastrických žlázek a výskytem v oxyntické (korporální) žaludeční sliznici (obr. 6). Sporadické případy FGP (často spojené s dlouhodobým užíváním inhibitorů protonové pumpy) jsou morfologicky totožné se syndromickými. Epiteliální dysplazie ve sporadických případech je naprosto výjimečná, zatímco u syndromických se může vyskytnout; její přítomnost sama o sobě je tedy znakem signalizujícím suspekci z gastrointestinální (GIT) polypózy.

Peutzovy-Jeghersovy polypy (PJP) jsou hamartomy vyskytující se napříč celým GIT. Jsou tvořeny laločnatě uspořádanou místně příslušnou sliznicí, často se znaky hyperplazie, ale obvykle bez epiteliální dysplazie. Typickým znakem je arboreskující větvení výběžků muscularis mucosae, jež ale nemusí být nutně vždy vyjádřeno (obr. 7). Přítomnost epiteliální dysplazie zvyšuje pravděpodobnost Peutzova-Jeghersova syndromu (PJS), nikoliv ale absolutně, jako jsme zmiňovali v případě dysplazie ve FGP.

Juvenilní polypy jsou hamartomy vyskytující se napříč celým GIT, jsou tvořeny místně příslušnou sliznicí s dominu-

jící edematózní a zánětlivě infiltrovanou lamina propria, typické jsou mikrocystické žlázné struktury. Časté jsou povrchové eroze či ulcerace (obr. 8). Odlišení od zánětlivých pseudopolypů a v případě žaludeční sliznice i od hyperplastického gastrického polypu je obtížné, často až nemožné.

PTEN-hamartomové polypy jsou polypy vznikající v souvislosti s PTEN hamartomatózním syndromem, jehož typickým zástupcem je syndrom Cowdenové. Jejich stavba může být totožná s juvenilními polypy či navíc obsahují příměs tukové tkáně, organoidně uspořádanou lymfoidní tkáň či ganglioneu-

romatózni okrsky. V takovémto případě histologický obraz přímo svědčí pro vysokou suspekci z PTEN hamartomatózního syndromu.

Úskalí histopatologické diagnostiky

Výše popsané léze mají některé společné rysy a jak již bylo naznačeno, jejich přesná klasifikace není vždy jednoduchá a přímočará. Vyskytují se hraniční stavy a v kombinaci s objektivními technickými obtížemi (málo reprezentativní povrchové odběry, špatně topograficky orientované vzorky) lze některé léze zaměnit. Týká se to zejména odlišení hyperplastických polypů od SSA/P, odlišení TSA od konvenčního vilózního adenomu a odlišení juvenilního polypu od zánětlivých a reaktivních lézí (hyperplastický polyp žaludku, inflamatorní pseudopolyp) a též od inflamatorního fibroidního polypu (tzv. Vaňkův tumor). Dále je třeba upozornit, že v hodnocení stupně epitelální dysplazie (LG vs. HG) je obecně dosahováno spíše vyšších úrovní „interobserver variability“ [5,6]. Jde o změny představující morfologické kontinuum, kde oba konce plynulého spektra jsou jasně definovány a relativně snadno diagnostikovány, avšak nastavení hranice mezi LG a HG dysplazií je do značné míry subjektivní.

Příspěvek patologa k časnému rozpoznání polypózních nádorových syndromů

Histologická klasifikace příslušného polypu sama o sobě neumožňuje diagnózu hereditárního nádorového syndromu, neboť všechny zmiňované léze se vyskytují též sporadicky a tyto non-syndromické nálezy v rutinní praxi gastroenterologa i patologa dominují, může však vyvolat podezření na některou z polypóz, a to především v případě hamartomových polypů. Zejména již zmíněné (a zcela raritní) hamartomové polypy s obsahem tukové, lymfoidní či ganglioneuromatózní tkáně se mimo PTEN hamartomatózní syndrom vyskytují jen vzácně [4,7]. Vodítkem k suspekci na polypózu tak může být mnohočetný výskyt polypů, nízký věk pacienta a samozřejmě rodinná anamnéza. V situaci, kdy je klinicky zjevně přítomna polypóza,

patolog přispěje alespoň klasifikováním typu polypu, a tím může pomoci nasměrovat další diagnostiku.

Rozpoznání dysplazie ve FGP je znakem, který je suspektní z familiární adenomové polypózy (FAP) či jejích variant vč. GAPPS (gastric adenocarcinoma and proximal polyposis syndrome) [1,2,8]. Méně signifikantně dysplazie v juvenilním polypu a PJP ukazuje na možnost juvenilní polypózy, resp. PJS [1,2,4,7,9,10].

Za pozornost stojí ta skutečnost, že – patrně v souvislosti s hodnocením úspěšnosti programu screeningu kolorektálního karcinomu (colorectal carcinoma – CRC) – došlo k zařazení kolorektálních adenomů mezi povinně hlášené novotvary. Ústav zdravotnických informací a statistiky (ÚZIS) a Národní onkologický registr (NOR) by tak do budoucna mohly sloužit jako platforma k zachycení pacientů s vícečetnými polypy, v současné podobě tedy alespoň v tračníku. Po překonání přechodného období bude hlášení probíhat automaticky, elektronickým propojením nemocničních a histologických databází s ÚZIS, takže nebude přinášet zvýšené úsilí ani náklady. Obě organizace se nebrání smysluplnému rozšíření hlášení novotvarů o další položky. Nastavení algoritmů k vyhledání osob v riziku polypózy by pak mohlo být již relativně snadným dílem, obtížnější jistě bude vybalancovat etické aspekty vytipování osob s podezřením na dědičný nádorový syndrom bez jejich vědomí, ochranu osobních dat a obdobné problémy.

Kromě samotných polypů je vhodné zmínit jiné změny či novotvary, které jsou silně asociované s polypózními nádorovými syndromy a LS. V tab. 1 s přehledem zde diskutovaných syndromů je nazýváme signálními lézemi. Pro FAP silně svědčí přítomnost Gardnerova fibromu, méně silně pak výskyt abdominální fibromatózy [1,2,8,11–13]. Mnohočetné kožní nádory se sebaceózní diferenciací vyskytující se u jedinců před 50. rokem života nebo postihující tělní partie mimo obličej, stejně tak mnohočetné keratoakantomy vznikající na místech chráněných před sluncem u mladých osob jsou silným indikátorem Muir-Torre syndromu (varianta LS) [14]. Ovariální sex-cord tumor s anulárními tubuly je velmi vzácný nádor, velmi silně asociovaný

s PJS [1,4,8]. Dysplastický gangliocytom mozečku („Lhermitte Duclos disease“) je obdobně raritní nádorovitá léze, prakticky patognomická pro PTEN hamartomatózní syndrom [1,4,7–10]. Všechny jmenované léze by měly vést přinejmenším k pátrání po dalších projevech příslušných syndromů, ať už u daného jedince, či v jeho rodinné anamnéze, optimálně ke směřování pacienta k lékařskému genetickovi.

Tzv. aberantní kryptální fokus (jde o mikroskopický monokryptální či oligokryptální konvenční adenom) se může vyskytnout jako ojedinělá, většinou náhodně zachycená změna, vyskytnou-li se u jedné osoby ale dva a více takových fokusů, je vysoce suspektní, že jde o osobu s FAP [1,2,8,12]. Obdobnou a velmi zajímavou lézí jsou relativně nově popsané prekuzory novotvarů u LS – tzv. MMR-deficientní kryptální fokusy. Jde o léze, které jsou na úrovni endoskopické i mikroskopické morfologicky neodlišitelné od normální sliznice, při imunohistochemickém průkazu MMR proteinů však s absencí nejméně jednoho z nich. V zatím publikovaných studiích se u pacientů bez LS tyto fokusy ve zdravé sliznici v okolí karcinomů tračníku ne našly ani v jednom případě, zatímco u pacientů s LS a karcinomem se našly v hustotě přibližně 1/1 cm² [15,16]. Tato nízká hustota, a tedy velmi malá pravděpodobnost záchytu v endoskopických biopsiích značně limituje praktickou aplikovatelnost tohoto fenoménu. Snad by mohl být alternativní metodou detekce LS u pacientů, kteří chtějí vědět, zda jsou postiženi LS, a současně odmítají vyšetření germinální DNA.

Screening Lynchova syndromu

Lynchův syndrom je ze zde diskutovaných syndromů daleko nejčastější. Odhaduje se, že incidence LS je 1/200 až 1/2 000. Považuje se za prokázané, že až 5 % kolorektálních karcinomů a cca 3 % endometriálních karcinomů vzniká právě na podkladě LS [2,17,18]. Přitom relativně vyšší medián věku v době vzniku malignit (ve srovnání např. s FAP) není dostatečně alarmujícím příznakem, který by vedl k suspekci na hereditu. Nádory vzniklé při LS se vyznačují defektem v mismatch repair systému, kdy mu-

tace v příslušném genu vede téměř vždy k absenci jednoho či více MMR proteinů (tato absence je detekovatelná imunohistochemicky) a z toho vyplývající vysokou mírou mikrosatelitní nestability (microsatellite instability-high – MSI-H). Stejně charakteristiky mají i sporadické CRC s epigeneticky inaktivovaným MMR systémem, a to mechanismem hypermetylace promotoru genu *MLH1*, současně bývá prakticky vždy přítomna v nádorové populaci mutace *BRAF* genu – obě tyto změny umožňují velmi spolehlivé odlišení „lynchovského“ a sporadického CRC [19,20]. Z pohledu onkologů je vyšetření MSI-H (defekt v MMR) u CRC důležitým ukazatelem prognózy CRC (MSI-H nádory mají lepší prognózu) a v některých případech i vhodnosti adjuvantní chemoterapie a také velmi silným prediktorem účinnosti protinádorové imunoterapie tzv. checkpoint inhibitory, a to napříč všemi histologickými typy nádorů. Vyšetření MMR proteinů se tedy nezávisle na hereditárních aspektech postupně stává (nebo brzy stane) standardem péče o pacienty s CRC. Ve shodě s dalšími [17–20] považujeme za racionální zavedení plošného screeningu LS imunohistochemickou detekcí defektu MMR (doplněnou v indikovaných případech o stanovení *BRAF* mutace a metylace promotoru *MLH1*) u všech nově diagnostikovaných CRC a endometriálních karcinomů, neboť tato metoda naplňuje požadavky kladené na screening – jde o metodu relativně levnou (v řádu jednotek tisíc Kč), s vysokou senzitivitou i specificitou, aplikovanou na jasně definovanou cílovou populaci. Odhalení rodin s LS má významné pozitivní dopady jak na samotné osoby – nosiče, tak na celý systém zdravotní a sociální péče.

Shrnutí

Znalost klinických a histomorfologických projevů polypózních nádorových syndromů napříč odbornostmi je základním předpokladem jejich správné a včasné diagnostiky. Některé chorobné procesy (v GIT i mimo něj) jsou silně asociované s hereditárními nádorovými syndromy a jejich výskyt by měl být signálem pro další cílená vyšetření. Využití dat o kolorektálních polypech z NOR by mohlo pomoci k vyhledání osob s rizikem polypóz – tato úvaha nepochybně má mnohé problematické eticko-právní aspekty. Imunohistochemické vyšetření MMR proteinů ve všech kolorektálních a endometriálních karcinomech se jeví jako vhodný screeningový nástroj pro detekci LS.

Literatura

1. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH et al. WHO classification of tumours of the digestive system. 4. vyd. Lyon: IARC Press 2010.
2. Ma H, Brosens LA, Offerhaus GJ et al. Pathology and genetics of hereditary colorectal cancer. *Pathology* 2018; 50(1): 49–59. doi: 10.1016/j.pathol.2017.09.004.
3. Aust DE, Baretton GB et al. Serrated polyps of the colon and rectum (hyperplastic polyps, sessile serrated adenomas, traditional serrated adenomas, and mixed polyps)-proposal for diagnostic criteria. *Virchows Arch* 2010; 457(3): 291–297. doi: 10.1007/s00428-010-045-1.
4. Shaco-Levy R, Jasperson KW, Martin K et al. Morphologic characterization of hamartomatous gastrointestinal polyps in Cowden syndrome, Peutz-Jeghers syndrome, and juvenile polyposis syndrome. *Hum Pathol* 2016; 49: 39–48. doi: 10.1016/j.humpath.2015.10.002.
5. Osmond A, Li-Chang H, Kirsch R et al. Interobserver variability in assessing dysplasia and architecture in colorectal adenomas: a multicentre Canadian study. *J Clin Pathol* 2014; 67(9): 781–786. doi: 10.1136/jclinpath-2014-202177.
6. Costantini M, Sciallero S, Giannini A et al. Interobserver agreement in the histologic diagnosis of colorectal polyps. The experience of the multicenter adenoma colorectal study (SMAC). *J Clin Epidemiol* 2003; 56(3): 209–214.

7. Jelsig AM, Qvist N, Brusgaard K et al. Hamartomatous polyposis syndromes: a review. *Orphanet J Rare Dis* 2014; 9: 101. doi: 10.1186/1750-1172-9-101.
8. Huber AR, Findeis-Hosey JJ, Whitney-Miller CL. Hereditary gastrointestinal polyposis syndromes: a review including newly identified syndromes. *J Gastroint Dig Syst* 2013; 3: 155. doi:10.4172/2161-069X.1000155.
9. Campos FG, Figueiredo MN, Martinez CA. Colorectal cancer risk in hamartomatous polyposis syndromes. *World J Gastrointest Surg* 2015; 7(3): 25–32. doi: 10.4240/wjgs.v7.i3.25.
10. Chen HM, Fang JY. Genetics of the hamartomatous polyposis syndromes: a molecular review. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24(8): 865–874. doi: 10.1007/s00384-009-0714-2.
11. Lucci-Cordisco E, Risio M, Venesio T et al. The growing complexity of the intestinal polyposis syndromes. *Am J Med Genet* 2013; 161A(11): 2777–2787. doi: 10.1002/ajmg.a.36253.
12. Shussman N, Wexner SD. Colorectal polyps and polyposis syndromes. *Gastroenterol Rep (Oxf)* 2014; 2(1): 1–15. doi: 10.1093/gastro/got041.
13. Brosens LA, van Hattem WA, Jansen M et al. Gastrointestinal polyposis syndromes. *Curr Mol Med* 2007; 7(1): 29–46.
14. Kacerovská D, Kazakov DV, Cerná K et al. Muir-Torres syndrom – fenotypická varianta Lynchova syndromu. *Cesk Patol* 2010; 46(4): 86–94.
15. Kloor M, Huth C, Voigt AY et al. Prevalence of mismatch repair-deficient crypt foci in Lynch syndrome: a pathological study. *Lancet Oncol* 2012; 13(6): 598–606. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70109-2.
16. Staffa L, Echterdiek F, Nelius N et al. Mismatch repair-deficient crypt foci in Lynch Syndrome – molecular alterations and association with clinical parameters. *PLoS ONE* 2015; 10(3): e0121980. doi: 10.1371/journal.pone.0121980.
17. Dušek M, Hadravský L, Stehlík J et al. Výsledky morfologické depistáže Lynchova syndromu v období 2013–2016. *Cesk Patol* 2018; 54(2): 86–92.
18. Hampel H, Frankel W, Panescu J et al. Screening for Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer) among endometrial cancer patients. *Cancer Res* 2006; 66(15): 7810–7817. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1114.
19. Dušek M, Hadravský L, Černá K et al. Diagnóza Lynchova syndromu od patologa. *Klin Onkol* 2016; 29(3): 180–186. doi: 10.14735/amko2016180.
20. Daum O, Beneš Z, Hadravský L et al. Lynchův syndrom v rukách patologa. *Cesk Patol* 2014; 50(1): 18–24.
21. Chintalacheruvu LM, Shaw T, Buddam A et al. Major hereditary gastrointestinal cancer syndromes: a narrative review. *J Gastrointest Liver Dis* 2017; 26(2): 157–163. doi: 10.15403/jgld.2014.1121.262.maj.
22. Wells K, Wise PE. Hereditary colorectal cancer syndromes. *Surg Clin North Am* 2017; 97(3): 605–625. doi: 10.1016/j.suc.2017.01.009.

Nové poznatky o geneticky podmíněných nádorech tlustého střeva a polypózách gastrointestinálního traktu

An Update on Inherited Colon Cancer and Gastrointestinal Polyposis

Plevová P.

Katedra biomedicinských oborů, LF Ostravské univerzity
Oddělení lékařské genetiky, FN Ostrava

Souhrn

Východiska: Je odhadováno, že 5–10 % zhoubných nádorů kolorekta vzniká na podkladě známého genetického syndromu. Jedinci s dědičnou predispozicí k nádorům kolorekta mají také zvýšené riziko vzniku extrakolických nádorových onemocnění. Dědičné formy těchto nádorů jsou obecně děleny na polypózní a nepolypózní. Rozšíření metody sekvenace nové generace zejména ve smyslu testování panelu genů do rutinní laboratorní praxe významně zjednodušilo diagnostiku genetických příčin těchto onemocnění. **Cíl:** Shrnout současné poznatky o příčinách, klinickém obrazu, diagnostických kritériích a doporučeních týkajících se preventivního sledování rizikových osob u syndromů dědičné predispozice ke gastrointestinálním polypózám a nádorům kolorekta, které byly definovány v poslední době a které jsou detekovány v rámci genetického testování panelů genů pro hereditární nádorová onemocnění metodou sekvenace nové generace. Je zahrnut syndrom konstitučního deficitu systému oprav chybného párování bází (bialelické mutace genů *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*), adenokarcinom žaludku a proximální polypóza žaludku (gen *APC*), polypóza v důsledku mutací genu *NTHL1*, polypóza spojená s opravnou funkcí polymerázy (geny *POLD1*, *POLE*), syndrom juvenilní polypózy (geny *SMAD4* a *BMPR1A*) a syndrom pilovité polypózy. Dalším cílem je uvést nové poznatky u syndromů, které jsou již dlouhodobě diagnostikovány, vč. hereditárního nepolypózního kolorektálního karcinomu (Lynchova syndromu), familiární adenomatózní polypózy, polypózy v důsledku mutací genu *MUTYH*, Peutzova-Jeghersova syndromu a syndromu Cowdenova / *PTEN* hamartomatózních nádorů. **Závěr:** Povědomost o existenci těchto syndromů umožňuje časnou diagnózu a prevenci nádorů u postižených osob a jejich příbuzných. Genetické poradenství, prediktivní testování rizikových členů rodiny a screening predisponovaných osob přináší významnou výhodu mnoha generacím v těchto rodinách.

Klíčová slova

polypy tlustého střeva – kolorektální karcinom – žaludek – polypy – geny – sekundární prevence

Děkuji MUDr. Lence Foretové, Ph.D., (Masarykův onkologický ústav, Brno) za kritickou revizi rukopisu a cenné rady.

Thank to Lenka Foretová, M.D., PhD, (Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno) for a critical review of the manuscript and valuable advices.

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 zaslané do biomedicinských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Pavlína Plevová, Ph.D.
Oddělení lékařské genetiky
FN Ostrava
17. listopadu 1790
708 52 Ostrava-Poruba
e-mail: pavlina.plevova@fno.cz

Obdrženo/Submitted: 1. 3. 2019

Přijato/Accepted: 6. 6. 2019

doi: 10.14735/amko2019S97

Summary

Background: It is estimated that 5–10% of colorectal cancers arise due to a known genetic syndrome. Individuals with these cancer syndromes are also at risk of extracolonic cancers. Polyposis and nonpolyposis hereditary syndromes are generally recognized. Inclusion of next-generation sequencing technology, especially multiple-gene panel testing, in routine laboratory practice has made identifying the causes of these diseases significantly easier. **Purpose:** To summarize current knowledge of the causes, clinical manifestations, diagnostic criteria, and recommendations for presymptomatic screening of individuals at risk of hereditary gastrointestinal polyposis and colorectal cancer syndromes. We discuss currently defined syndromes detected by multiple-gene panel next-generation sequencing; these include constitutional mismatch repair deficiency (biallelic *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* gene mutations), gastric adenocarcinoma and proximal polyposis of the stomach (*APC* gene), *NTHL1*-associated polyposis, polymerase proofreading-associated polyposis (*POLD1*, *POLE* genes), juvenile polyposis (*SMAD4*, *BMPR1A* genes), and serrated polyposis syndromes. Another aim is to summarize recent knowledge about well-known syndromes, including hereditary nonpolyposis colon cancer (Lynch syndrome), familial adenomatous polyposis, *MUTYH*-associated polyposis, and Peutz–Jeghers and Cowden/*PTEN* hamartoma tumor syndromes. **Conclusion:** Awareness of hereditary polyposis/colon cancer syndromes enables early diagnosis and prevention of cancer in affected individuals and their relatives. Genetic counseling, presymptomatic testing of at-risk individuals, and efficient screening may be beneficial for affected families.

Key words

colonic polyps – colorectal neoplasms – stomach – polyps – genes – secondary prevention

Úvod

Je odhadováno, že 20–30 % případů kolorektálního karcinomu (colorectal cancer – CRC) je familiárních, přičemž 5–10 % jich vzniká na podkladě známého genetického syndromu [1]. Dědičné formy nádorů kolorekta jsou obecně děleny na polypózní a nepolypózní. Jedinci s dědičnou predispozicí k CRC mají zvýšené riziko vzniku časného CRC, metachronních nádorů

a extrakolických manifestací. Odhalení takových osob je důležité, aby jim bylo možné nabídnout adekvátní prevenci s možností časně detekce a léčby příslušných malignit s cílem snížit morbiditu a mortalitu [2].

Rychlý rozvoj aplikace metody sekvenace nové generace umožnil objev nových genů, jejichž mutace zvyšují rizika vzniku gastrointestinální polypózy a nádorových onemocnění vč. CRC. Rozšíření

metody sekvenace nové generace zejména ve smyslu testování panelu genů do rutinní laboratorní praxe pak významně zjednodušilo diagnostiku genetických příčin těchto onemocnění. Současné testování desítek genů přináší často nečekaná odhalení příčin nádorových onemocnění.

V tomto přehledu se zabýváme syndromy dědičné predispozice ke gastrointestinální polypóze a CRC, které jsou v současnosti dobře definovány. Informace o nejčastějších syndromech vč. hereditárního nepolypózního CRC (Lynchova syndromu), familiární adenomatózní polypózy, polypózy v důsledku mutací genu *MUTYH*, Peutzova–Jeghersova a Cowdenova syndromu, doporučení k jejich genetickému testování a sledování již byly podrobně zpracovány v české odborné literatuře [3–6]. U těchto klinických jednotek uvádíme pouze základní a aktualizované informace týkající se gastrointestinálního traktu s ohledem na nové poznatky.

Z histopatologického hlediska lze polypy rozdělit na adenomy, pilovité polypy a hamartomy. Genetické příčiny těchto jednotlivých typů polypů jsou uvedeny v tab. 1 [7].

Hereditární nepolypózní kolorektální karcinom (Lynchův syndrom)

Doplnění k publikovanému článku Plevová et al: Hereditární nepolypózní kolorektální karcinom (HNPCC, Lynchův syndrom) [3].

Tab. 1. Histopatologická klasifikace polypů a jejich genetické příčiny (modifikováno podle [7]).

Adenomy

1. hereditární nepolypózní kolorektální karcinom (Lynchův syndrom)
2. syndrom konstitučního deficitu systému oprav chybného párování bází
3. familiární adenomatózní polypóza
4. adenokarcinom žaludku a proximální polypóza žaludku
5. polypóza v důsledku mutací genu *MUTYH*
6. polypóza v důsledku mutací genu *NTHL1*
7. polypóza spojená s opravnou funkcí polymerázy

Hamartomy

8. Peutzův–Jeghersův syndrom
9. Cowdenův syndrom / syndrom *PTEN* hamartomů a nádorů
10. syndrom juvenilní polypózy

Pilovité polypy

11. syndrom pilovité polypózy

Tab. 2. Riziko nádorů u pacientů s Lynchovým syndromem [7].

Typ nádoru	Běžné populační riziko	Riziko u Lynchova syndromu	Průměrný věk diagnózy u Lynchova syndromu (v letech)
kolorektální karcinom	5–6 %*	70–80 %	41–54
endometriální karcinom	2,70 %	30–40 %	65
ovariální karcinom	1,60 %	4–20 %	43–45
karcinom žaludku	< 1 %	0,2–13 %	49–55
karcinom močového měchýře z přechodných buněk	< 1 %	0,2–25 %	52–60
karcinom tenkého střeva	< 1 %	0,4–12 %	46–49
nádory mozku / centrálního nervového systému	< 1 %	1–4 %	50
sebaceózní nádory kůže	< 1 %	1–9 %	neuveдено

* upraveno pro českou populaci

Některé zdroje uvádějí také vyšší riziko vzniku nádoru pankreatu, žlučníku a žlučových cest [7,13].

Odpovědné geny: *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, delece 3' konce genu *EPCAM*

Dědičnost: autozomálně dominantní

Prevalence: 1 : 2 000 [8]

Charakteristika syndromu

Hereditární nepolypózní kolorektální karcinom (hereditary nonpolyposis colorectal cancer – HNPCC) neboli Lynchův syndrom je nejčastějším syndromem dědičné predispozice k CRC. Uvádí se, že je zodpovědný za 2–3 % všech těchto onemocnění [2].

Průměrný věk diagnózy CRC je 45 let (oproti 69 roků u sporadických nádorů) [9]. Nádory jsou většinou proximálně od slezinného ohbí, mají vysoký stupeň nestability mikrosatelitů a histologické rysy charakterizované špatnou diferenciací, Crohn-like lymfocytární infiltrací, lymfoidními shluky v okrajích nádoru, mucinózními rysy, buňkami ve tvaru pečetiho prstene nebo medulární diferenciací [7,10]. Často bývají přítomny synchronní nádory a metachronní nádory [11]. Přestože histologické rysy zjevně svědčí pro vysoce rizikové charakteristiky nádorů, ve skutečnosti mají CRC vzniklé v souvislosti s HNPCC nižší tendenci k metastatickému šíření do lymfatických uzlin a ke vzdáleným metastázám ve srovnání s nádory sporadickými [2,10]. Název „nepolypózní“ je zavádějící, neboť i u hereditárního nepolypózního syndromu mohou být přítomny polypy jako prekurzorové léze.

Většinou se histologicky jedná o adenomy, které mají typicky vilózní charakter růstu a vysoký stupeň dysplazie [12]. Vývoj adenomu do karcinomu je zde urychlen; nádory se mohou vyvinout během 5letého intervalu i dříve oproti 10 i víceletému intervalu v případě sporadických nádorů [2].

Pacienti s HNPCC mají zvýšené riziko extrakolických malignit (tab. 2) [7,13]. Nádory žaludku bývají typicky intestinálního typu s tubulární nebo difúzní architekturou; acinózní diferenciací je vzácná. Tyto nádory často vznikají v terénu atrofie žaludku a intestinální metaplasie nebo chronické gastritidy způsobené infekcí *Helicobacter pylori* [14].

Genetika

Ačkoli většina případů onemocnění je způsobena patogenními mutacemi některého z genů systému oprav chybného párování bází (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*) [15], byly popsány rodiny, v nichž byla příčinou Lynchova syndromu tzv. konstituční epimutace (tj. hypermetylace promotoru) genů *MLH1* nebo *MSH2* [16]. Konstituční epimutace znamená konstituční transkripční útlum genů epigenetickými mechanismy, aniž by byla přímo změněna sekvence genu [17]; jedná se o stabilní genetické abnormality přítomné v normální tkáni [18]. Konstituční epimutace genu *MSH2* jsou sekundární v důsledku zárodečných delecí genu *EPCAM* v pozici cis a jsou dě-

děny autozomálně dominantně [19]. Způsob přenosu konstituční epimutace genu *MLH1* závisí na jejím mechanismu vzniku. Konstituční epimutace genu *MLH1* lze rozdělit do dvou kategorií: 1) epimutace vzniklé spontánně, jsou reverzibilní mezi generacemi, i když někdy mohou být přeneseny do další generace nemendelistickým způsobem dědičnosti (primární epimutace genu *MLH1*); 2) mendelistická epimutace, která je děděna klasickým autozomálně dominantním typem dědičnosti v důsledku přítomnosti sekvenční genetické změny v pozici cis (sekundární/geneticky podmíněná epimutace genu *MLH1*) [17,20]. Primární konstituční metylace genu *MLH1* může být příčinou až 3 % případů Lynchova syndromu a je nacházena přibližně u 10 % pacientů s imunohistochemickou ztrátou exprese proteinu MLH1 [16]. Většinou vzniká *de novo* v časném stupni embryogeneze [20,21].

Screeningové testování – nestabilita mikrosatelitů, imunohistochemie

Stanovení nestability mikrosatelitů v nádorové tkáni je využíváno u pacientů s CRC pro rozhodnutí o léčbě [22]. Stanovení nestability mikrosatelitů pomocí polymerázové řetězové reakce je vysoce efektivní proces s 93% senzitivitou. Je-li vysoký stupeň nestability zjištěn ve dvou nebo více z pěti testovaných mikrosatelitních markerů, je nádorová tkáň klasifikována jako vysoce nestabilní [23].

Je-li testování provedeno pomocí panelu většího počtu mikrosatelitních markerů, nádor je považován za vysoce nestabilní, pokud je nestabilita zjištěna ve více než 30 % markerů. Sporadické nádory mají mikrosatelity obvykle stabilní [2].

Všichni pacienti, u nichž byl zjištěn vysoký stupeň nestability mikrosatelitů v nádoru, by měli být indikováni ke genetické konzultaci. Měly by být vyloučeny zárodečné mutace *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* a *PMS2* a delece genu *EPCAM* v rámci testování panelu genů pro hereditární nádorová onemocnění metodou sekvenace nové generace, popř. konstituční epimutace genu *MLH1*. Přibližně v 15 % je nacházen vysoký stupeň nestability mikrosatelitů u nádorů sporadických, pravděpodobně jako důsledek epigenetických změn charakteru hypermetylace oblasti promotoru genu *MLH1*. Tyto nádory obvykle nesou somatické mutace v genu *BRAF*, což je odlišuje od nádorů na podkladě zárodečných mutací genů pro Lynchův syndrom, které somatické mutace v genu *BRAF* obvykle nenesou [2,24]. Přítomnost somatické mutace genu *BRAF* v nádorové tkáni obvykle vylučuje diagnózu Lynchova syndromu [25].

Přibližně 90 % nádorů u Lynchova syndromu vykazuje nestabilitu mikrosatelitů [26]. Imunohistochemická ztráta exprese proteinů *MSH6*, *PMS2* nebo *MSH2* obvykle svědčí pro Lynchův syndrom. Naproti tomu ztráta exprese proteinu *MLH1*, obvykle kombinovaná se ztrátou exprese *PMS2*, je často důsledkem somatické hypermetylace promotoru genu *MLH1* u sporadických CRC s vysokým stupněm nestability mikrosatelitů. V tom případě by mělo být doplněno testování na hypermetylacii promotoru genu *MLH1* a somatickou mutaci p.V600E v genu *BRAF* [27], přičemž vyšetření hypermetylace promotoru genu *MLH1* je citlivější [7]. U pacientů, kteří onemocní CRC ve věku pod 50 let a mají normální expresi všech čtyř proteinů, je diagnóza Lynchova syndromu málo pravděpodobná. Přesto by měli být vzhledem k mladému věku odesláni ke genetické konzultaci [7].

Doporučení ke sledování

Koloskopické sledování rizikových osob by mělo být prováděno jednou za

1–2 roky od 20 až 25 let nebo o 2–5 let dříve, než byl diagnostikován nejčastější CRC v rodině; platí, co nastane dříve [11,28].

Syndrom konstitučního deficitu systému oprav chybného párování bází

Odpovědné geny: *MSH2*, *MLH1*, *MSH6*, *PMS2*

Dědičnost: autozomálně recesivní

Incidence: 1 : 1 000 000 [29]

Charakteristika syndromu

Syndrom konstitučního deficitu systému oprav chybného párování bází (constitutional mismatch repair deficiency – CMMRD) je způsoben bíaleckými zárodečnými mutacemi některého z genů systému chybného párování bází. V důsledku k diagnóze je často zjišťovaná konsanguinita [30,31]. Je klinicky charakterizován adenomatózními polypy, z nichž vzniká adenokarcinom tenkého nebo tlustého střeva v časném věku (40 % pacientů), kožními lézemi, mozkovými nádory (50 % pacientů) a hematologickými malignitami (30 % pacientů) s manifestací od kojeneckého do mladého dospělého věku [7,32]. Nejčastější nádory jsou mozkové gliomy (často v kojeneckém věku, průměrný věk diagnózy 9,5 roku), non-hodgkinské lymfomy (5 let) a CRC (16 let) [29]. Polypy v colon byly popsány již v 6 letech. Nádorové spektrum závisí na tom, který gen je mutován. Pacienti s mutací genu *MSH2* nebo *PMS2* obvykle onemocní nádorem mozku ve věku do 10 let a více než 40 % pacientů homozygotních pro mutaci v genu *PMS2* onemocní druhou primární malignitou [33]. Naopak pacienti homozygotní pro mutace v genech *MLH1* a *MSH2* mají menší pravděpodobnost rozvoje druhé primární malignity (22 %). Důvodem je to, že pacienti s homozygotní mutací v genu *PMS2* obvykle přežijí první malignitu, zatímco pacienti s mutacemi genů *MLH1* a *MSH2* mívají agresivní formy hematologických malignit [29]. Nádory pacientů s tímto syndromem mají tzv. hypermutační fenotyp, kdy je detekováno ≥ 100 mutací / Mb (1 milion nukleotidových bází) oproti < 10 mutacím / Mb u jiných dětských nádorů [34,35]. Tato vysoká mutační aktivita vede k tvorbě mnoha neoantigenů, které jsou rozpozná-

vány imunitním systémem, a v nádorech je pak zjišťována vyšší denzita nádor-infiltrujících lymfocytů [36].

Nádory těchto pacientů jsou často rezistentní k cytostatikům, jejichž mechanismus účinku vyžaduje funkční systém chybného párování bází, např. k merkaptopurinu a temozolomidu, které jsou součástí léčebných schémat pro hematologické malignity a gliomy [37]. Naopak tyto nádory dobře reagují na imunoterapii pomocí inhibitorů kontrolních bodů („checkpoint inhibitors“) [34]. Další slibnou možností je vakcinace neoantigeny [38].

Diagnostická kritéria

Kritéria podle evropského konsorcia „Care for CMMRD“ [29] jsou uvedena v tab. 3.

Doporučení ke sledování [37]

- nukleární magnetická rezonance NMR mozku každých 6 měsíců od diagnózy (neprovádět počítačovou tomografii mozku z důvodu možné indukce nádorů ionizujícím zářením);
- koloskopické vyšetření od 6 let 1krát ročně, v případě nálezu polypů každých 6 měsíců; je důležité se zaměřit také na ploché polypy a nepolypoidní léze;
- u pacientů s high-grade dysplazií zvýšit kolektomii s ohledem na významné riziko rozvoje karcinomu;
- gastrokopie od 8 let 1krát ročně, v případě nálezu polypů 2krát ročně;
- neexistují efektivní screeningová opatření pro lymfoidní a jiné hematologické malignity, standardně lze doporučit vyšetření krevního obrazu a ultrazvuku břicha každých 6 měsíců;
- event. celotělová NMR 1krát ročně od 6 let.

Familiární adenomatózní polypóza

Doplnění k publikovanému článku Plešková et al: Familiární adenomatózní polypóza [4].

Odpovědný gen: *APC*

Dědičnost: autozomálně dominantní

Prevalence: 1 : 7 000 – 1 : 22 000 [39]

Charakteristika syndromu

Familiární adenomatózní polypóza (FAP) dědičná autozomálně dominantně

a způsobená zárodečnými mutacemi genu APC je příčinou přibližně 0,5–1 % případů CRC [40]. Je charakterizována rozvojem četných kolorektálních adenomatózních polypů (obvykle nad 100, ale může být i 10–100 u atenuované formy), u nejtěžších forem je stupeň polypózy mimo možnosti efektivní endoskopické léčby. Počátek klasické formy polypózy s fenotypem tisíců polypů je obvyklý v adolescenci s progresí do CRC ve středním věku. Penetrance je 100 % [41].

Adenomy u FAP jsou obdobné jako sporadické adenomy, mají většinou tubulární architekturu s dysplazií nízkého stupně, ale mohou se vyskytnout také sesilní nebo propadlé léze. Jednotlivé dysplastické krypty (nazývané mikroadenomy, adenom jednotlivé krypty nebo aberantní kryptická ložiska) se mohou vyskytovat v tlustém střevě v makroskopicky normální sliznici. Tyto léze jsou u zdravých osob vzácné a nález dvou nebo více těchto ložisek je vysoce podezřelý z FAP [7].

U téměř všech pacientů s FAP se vyvinou duodenální adenomy a u 4–10 % duodenální adenokarcinom. Většina adenomů vzniká v periampulární oblasti a v distálních dvou třetinách duodena. Většina má tubulární architekturu a dysplazii nízkého stupně [42,43]. Jejunoileální adenomy jsou méně časté [43].

Více než 60 % pacientů s FAP má žaludeční polypy [42], přičemž přibližně 50 % jedinců s FAP nebo AFAP má v žaludku více než 100 polypů [44]. Dysplazie bývá nízkého stupně (96 % případů), s výhradně žaludečním (foveolárním) fenotypem [45]. Vzácně vzniká karcinom žaludku [46].

Klasická forma FAP je charakterizována sty až tisíci polypů v tlustém střevě, které se manifestují od časného dětství do 3. dekády (typicky v 16 letech), kdy počet polypů rychle narůstá. Riziko vzniku CRC je bez léčby téměř 100 % [47]. Někteří autoři rozlišují v klasické formě formu profúzní, která má agresivní fenotyp s časným počátkem rozvoje polypózy a rizikem rozvoje CRC ve věku 20–30 let, a formu středně těžkou [2]. Atenuovaná forma je charakterizována rozvojem 10–100 polypů ve věku 40–70 let (průměrný věk 55 let), kdy odhadované celoživotní riziko rozvoje CRC je 70 % [47].

Tab. 3. Diagnostická kritéria pro syndrom konstitučního deficitu systému oprav chybného párování bází podle Evropského konsorcia Care for CMMRD [29].

Indikace k testování (malignity nebo premaligní stavy – jeden je nutný; v případě více než jednoho se body přidávají)	Více než 3 body
karcinom typický pro Lynchův syndrom* ve věku < 25 let	3 body
mnohočetné střevní adenomy ve věku < 25 let při vyloučení mutace v genech APC a MUTYH nebo ojedinělý dysplastický adenom (také ve věku < 25 let)	3 body
WHO grade III nebo IV gliom ve věku < 25 let	2 body
NHL T buněčné linie nebo sPNET ve věku < 18 let	2 body
jakákoli malignita u pacienta ve věku < 18 let	1 bod
Další rysy – je-li přítomen více než jeden, body se přidávají	
klinická diagnóza NF1 nebo více než 2 hyper-/hypopigmentace kůže (> 1 cm)	2 body
diagnóza Lynchova syndromu u příbuzného 1. a/nebo 2. stupně	1 bod
karcinom typický pro Lynchův syndrom*, high-grade gliom, sPNET nebo NHL	1 bod
sourozenec s nádorem dětského věku	1 bod
mnohočetné pilomatrikomy	2 body
jeden pilomatrikom	1 bod
ageneze corporis callosi nebo kavernom (neindukovaný léčbou)	1 bod
konsanguinita rodičů	1 bod
deficit / snížené hladiny IgG2/4 a/nebo IgA	1 bod

* kolorektum, endometrium, tenké střevo, renální pánvička, ureter, žlučové cesty, močový měchýř, žaludek
WHO – Světová zdravotnická organizace, NHL – non-hodgkinský lymfom, sPNET – supratentoriální primitivní neuroektodermální nádor, NF1 – Recklinghausenova neurofibromatóza typu 1, Ig – imunoglobulin

Diferenciálně diagnosticky je zapotřebí zdůraznit, že celoživotní kouření, zejména od mladého věku pod 20 let, a pravidelná konzumace piva či jiného alkoholu (zejména denně), mohou také zvyšovat pravděpodobnost mírného stupně mnohočetné střevní polypózy (Plevová, nepublikované pozorování).

Adenokarcinom žaludku a proximální polypóza žaludku

Odpovědný gen: APC (bodová mutace v promotoru 1B)

Typ dědičnosti: autozomálně dominantní

Prevalence: neznámá

Charakteristika syndromu

Adenokarcinom žaludku a proximální polypóza žaludku (gastric adenocarcinoma and proximal polyposis of the stomach – GAPPS) je zvláštní fenotyp familiární adenomatózní polypózy. Mnohočetná polypóza žlázek žaludečního fundu (více než 100 polypů) pokrývá tělo a fundus žaludku, přičemž v jícnu, antru žaludku, pyloru, duodenu, tenkém a tlustém střevě se polypy nevytvářejí. Histologicky se jedná o polypy ze žlázek fundu, z nichž některé mohou být dysplastické [48]. Byly také popsány hyperplastické, čisté adenomatózní a smíšené adenomatózní a hyperplastické polypy s rysy polypů ze žlázek fundu.

Karcinom žaludku intestinálního nebo smíšeného typu je zjišťován u 13 % pacientů s GAPPS [48,49].

Pro srovnání – sporadické polypy ze žlázek fundu, které jsou zjišťovány u 5 % osob podstupujících gastrokopii [50] a jsou častější u osob léčených inhibitory protonové pumpy [51], bývají přítomny v nižším počtu a dysplazie je v nich extrémně vzácná [52]. Pokud se dysplazie ve sporadických polypech vyskytne, je obvykle nízkého stupně a nedochází k progresi do dysplazie vysokého stupně a karcinomu [44].

GAPPS má neúplnou penetranci, neboť u některých starších pacientů, obligatorních nosičů vlohy, byl zjištěn normální endoskopický nálezh [48]. Věk počátku GAPPS je variabilní, je popisován od 23 do 75 let, průměrný věk 50 let. Typická polypóza ze žlázek fundu s multifokální dysplazií byla detekována i u 10letého dítěte [48,49].

Mutace v promotoru 1B byla popsána u méně než 1 % osob s FAP a je spjata s dysplazií vysokého stupně a maligní transformací polypů žlázek fundu [44,53,54].

Distribuce somatických mutací v genu *APC* v kolorektálních adenomech není náhodná a částečně souvisí s lokalizací zárodečné mutace v genu, avšak je odlišná od nenáhodného výskytu somatických mutací v duodenálních polypech a polypech ze žlázek fundu [55].

Genetika

GAPPS je způsoben zárodečnou bodovou mutací v promotoru 1B ve vazebném motivu Ying Yang 1 genu *APC* [44,49]. Byly popsány tři mutace v tomto promotoru: c.-195A>C, c.-192A>G, c.-191T>C [44]. Promotor 1B je v žaludeční sliznici důležitější než promotor A1, který bývá většinou metylován, což vysvětluje fenotyp [44].

Diagnostická kritéria [48]

- žaludeční polypóza těla a fundu žaludku, přičemž v kolorektu a duodenu se polypy nevyskytují;
- více než 100 polypů pokrývajících proximální část žaludku u probanda nebo více než 30 polypů u příbuzného 1. stupně;
- predominantně polypy žlázek fundu žaludku, z nichž některé mají oblasti

dysplazie (nebo člen rodiny s dysplastickými polypy žlázek fundu nebo adenokarcinomem žaludku);

- autozomálně dominantní typ dědičnosti;
- vyloučení jiného syndromu žaludeční polypózy a užívání inhibitorů protonové pumpy.

Doporučení ke sledování

Je doporučována screeningová gastrokopie s biopsiemi nebo polypektomiemi od 18 let věku, případně profylaktická gastrektomie [48]. Je indikováno také koloskopické sledování.

Polypóza v důsledku mutací genu *MUTYH*

Doplnění k publikovanému článku Plevová et al: Familiární adenomatózní polypóza [4].

Odpovědný gen: *MUTYH*

Typ dědičnosti: autozomálně recesivní

Prevalence: 1 : 10 000 – 1 : 40 000 [56]

Charakteristika syndromu

Recesivně dědičná polypóza podmíněná bialelickou zárodečnou mutací v genu *MUTYH* (*MUTYH*-associated polyposis – MAP) má obvykle klinické rysy atenuované formy familiární adenomatózní polypózy s výskytem méně než 100 polypů, s průměrným věkem diagnózy kolem 50. roku věku a celoživotním rizikem rozvoje CRC 43 % až téměř 100 % v případě, že pacient není pravidelně sledován [57,58]. Přibližně 10–23 % pacientů, u nichž je podezření na FAP/AFAP, avšak není zjištěna mutace v genu *APC*, nese patogenní varianty v genu *MUTYH* [57]. Polypy jsou charakteru konvenčních adenomů, pilovitých („serrated“) adenomů a hyperplastických polypů [7]. Jedinci mají také zvýšené riziko extrakolických nádorů, kdy duodenální adenomy jsou nacházeny u 17–25 % pacientů se 4% celoživotním rizikem nádoru duodena [59]. Je zvýšené riziko karcinomu ovarii, močového měchýře a kůže ve vyšším věku [60].

Bylo zjištěno, že heterozygotní nosiči patogenních variant v genu *MUTYH* mají riziko rozvoje CRC zvýšené oproti populačnímu riziku, toto riziko bylo stanoveno na 12,5 % pro muže a 10 % pro ženy v případě, že mají příbuzného s CRC

ve věku do 50 let bez mutace v genu *MUTYH* [61]. Některé studie uvádějí, že mohou mít také zvýšené riziko nádorů žaludku a duodena, hepatobiliárního systému a karcinomu prsu [62], avšak v současnosti není pro takovou asociaci dostatek důkazů.

Genetika

Gen *MUTYH* kóduje enzym glykosylázu, která se uplatňuje v systému excizních oprav bází. Deficit proteinu *MUTYH* se projevuje zvýšenou frekvencí somatických mutací charakteru transverze G > T v nádorové tkáni [63], což vede ke genetické nestabilitě genu *APC* a pravděpodobně dalších, vč. genů *KRAS* a *TP53*. Patogeneze nádorů u MAP je jedinečná, ale překrývá se s FAP, což je příčinou fenotypové podobnosti [63].

Doporučení ke sledování

Pro heterozygotní nosiče patogenních variant v genu *MUTYH* by měl být doporučen koloskopický screening 1krát za 3–4 roky od 50 let, event. dříve, dle výskytu CRC v rodině.

Polypóza v důsledku mutací genu *NTHL1*

Odpovědný gen: *NTHL1*

Typ dědičnosti: autozomálně recesivní

Prevalence: Frekvence homozygotity pro variantu c.268C>T, p.Q90* je v nizozemské populaci 1: 75 000, což odpovídá odhadem více než 200 nemocným [64]. Pro ostatní populace nejsou údaje k dispozici.

Charakteristika syndromu

Syndrom NAP (*NTHL1*-associated polyposis) je charakterizovaný predispozicí k adenomatózní polypóze a zvýšeným rizikem rozvoje CRC a extrakolických malignit vč. karcinomu prsu, endometria, děložního čípku, duodena, kůže (bazocelulární karcinom), urotheliálních nádorů, nádorů hlavy a krku, pankreatu, mozku (vč. meningeomu), hematologických malignit. Onemocnění je charakterizováno vysokou penetrancí. Všichni dosud popsaní pacienti měli adenomatózní polypy, 33 % z nich mělo jeden nebo více hyperplastických polypů, 59 % CRC, 60 % žen karcinom prsu (průměrný věk 48,5 roku) a 55 % mělo mnoho-

četné primární malignity [47,65]. Extracolické nádory byly pozorovány u 66 % pacientů a výskyt extracolických malignit je u tohoto syndromu vyšší než u jiných syndromů predispozice k CRC [65].

Genetika

Syndrom byl objeven v roce 2015 nálezem homozygotní nonsense mutace c.268C>T, p.Q90* v genu *NTHL1* u 3 z 51 nepřibuzných nizozemských pacientů se střevní polypózou [64]. Později byly popsány další rodiny německého, španělského, britského a řeckého původu s mutací p.Q90*, vzácně byly popsány jiné ztrátové mutace [65,66]. Protein *NTHL1* se podílí na excizních opravách nukleotidových bází. Adenomy i CRC mají specifické spektrum somatických mutací v genech, které se uplatňují při vývoji karcinomu z adenomu, kdy dochází k tranzici ve smyslu C > T; stejný charakter mutací byl zjištěn i v extracolických nádorech [65,66].

Diagnostická kritéria

Nebyla publikována.

Doporučení ke sledování [64]

- koloskopie od 18–20 let 1krát za 1–2 roky;
- ultrazvukové vyšetření prsou 1krát ročně od 30 let;
- NMR prsou 1krát za 2 roky od 40 let;
- mamografie 1krát za 2 roky od 45 let;
- gynekologický ultrazvuk 2krát ročně, biopsie endometria a marker CA125 1krát ročně od 40 let.

Pozn.: Pro další nádory nelze doporučit screeningová opatření, buď z důvodu, že není známo kumulativní riziko, nebo nejsou známá účinná screeningová opatření [64].

Polypóza spojená s opravnou funkcí polymerázy

Odpovědné geny: *POLE*, *POLD1*

Dědičnost: autozomálně dominantní

Prevalence: ?

Charakteristika syndromu

Polypóza spojená s opravnou funkcí polymerázy (polymerase proofreading-associated polyposis – PPAP) je syndrom dědičné predispozice ke střevní polypóze

a CRC. Fenotyp zahrnuje 10 až méně než 100 adenomů v tlustém střevě a/nebo přítomnost duodenálních polypů [67]. Mutace genu *POLD1* mohou kromě CRC zvyšovat také riziko vzniku nádorů endometria a prsu [68]. Mutace obou genů jsou také spojeny se zvýšeným rizikem nádorů mozku [67]. Bellido et al publikovali klinický fenotyp dosud nejrozsáhlejšího souboru pacientů s PPAP. Pacienti (n = 47) s mutacemi genu *POLE* měli v 82 % více než dva adenomy v colon, v 74 % více než pět adenomů, v 64 % CRC (průměrný věk diagnózy 41 let), v 50 % duodenální adenomy a v 6 % mozkový tumor. Dvacet dva pacientů se zárodečnou mutací v genu *POLD1* mělo v 64 % více než dva adenomy v colon, v 55 % více než pět adenomů, v 59 % CRC (průměrný věk diagnózy 36 let), v 57 % karcinom endometria (průměrný věk 51 let), ve 14 % karcinom prsu a ve 4,5 % tumor mozku [67]. U pacientů s mutacemi genu *POLE* byly také popsány multinádorové fenotypy zahrnující např. nádory tlustého střeva, pankreatu, vaječníku a tenkého střeva [69] nebo nádory tlustého střeva, vaječníku, endometria a mozku [70]. Mutace genu *POLE* byly také popsány u případů nádorů v časném věku a je otázkou, zda je tato časná manifestace jakožto závažnější fenotyp důsledkem specifických mutací genu *POLE* [71]. Riziko metachronního CRC není známo [67].

Genetika

Příčinou syndromu PPAP jsou zárodečné mutace v exonukleázové (korektorské) doméně DNA polymeráz Pol δ and Pol ϵ [72]. Bývají zjišťovány rekurentní mutace p.L424V v genu *POLE* a p.V295M, p.D316H, p.D316G, p.R409W, p.S478N a p.L474P v genu *POLD1* [67, 73]. Geny *POLE* a *POLD1* jsou součástí systému oprav chybného párování bází („mismatch repair pathway“), tedy téhož systému jako geny pro hereditární nepolypózní CRC (Lynchův syndrom). Patogenní varianty v genech *POLE* a *POLD1* vedou ke zvýšenému výskytu somatických mutací v nádorech [74]. Vzor somatických mutací může být velmi variabilní [75], což je pravděpodobně důvod, proč jsou mezi pacienty rozdíly v lokalizaci primárních nádorů. Některé nádory pacientů s mutací genu *POLE* mohou vykazovat

nestabilitu mikrosatelitů, avšak zárodečná mutace v genech pro Lynchův syndrom není zjištěna [73,76,77].

Patogenní mutace v genu *POLD1* byly detekovány jako příčina syndromu kongenitální parciální lipodystrofie s mandibulární hypoplazií, hluchotou a progeroidními rysy. Většina pacientů nese rekurentní mutaci mutaci c.1812_1814del, p.S605del, další detekované mutace zahrnují p.R507C, p.I1070N a p.E1067K [78,79]. Jedná se tedy o odlišné mutace než ty, které způsobují fenotyp PPAP.

Diagnostická kritéria [67]

Pro gen *POLE*

- atenuovaná adenomatózní polypóza (20–100 adenomů);
- Amsterodamská kritéria I pro Lynchův syndrom [3] – pouze CRC;
- CRC a oligopolypóza (5–20 adenomů), obojí ve věku pod 50 let;
- CRC nebo oligopolypóza (5–20 adenomů) a příbuzný 1. stupně s CRC pod 50 let;
- CRC nebo oligopolypóza (5–20 adenomů) a dva nebo více příbuzných 1. nebo 2. stupně s CRC, bez ohledu na věk.

Pro gen *POLD1*

- atenuovaná adenomatózní polypóza (20–100 adenomů);
- Amsterodamská kritéria II pro Lynchův syndrom [3] – pouze CRC a karcinom endometria;
- CRC pod 50 let nebo karcinom endometria pod 60 let a oligopolypóza (5–20 adenomů) pod 50 let;
- CRC nebo karcinom endometria nebo oligopolypóza (5–20 adenomů) a příbuzný 1. stupně s CRC pod 50 let nebo karcinomem endometria pod 60 let;
- CRC nebo karcinom endometria nebo oligopolypóza (5–20 adenomů) a dva nebo více příbuzných 1. nebo 2. stupně s CRC nebo karcinomem endometria, bez ohledu na věk.

Pozn.: Přítomnost mozkových nádorů nebo nádorů prsu v kontextu charakteristických rysů (CRC, polypóza a/nebo karcinom endometria) mohou svědčit pro PPAP.

Tab. 4. Celoživotní kumulativní rizika nádorů u pacientů s Peutzovým-Jeghersovým syndromem [7].

Lokalizace	%
kolorektum	39
tenké střevo	13
žaludek	29
pankreas	11–36
prs	32–54
děložní tělo	9
ovarium	21
děložní čípek	10
varle	9
plíce	7–17

Nález mikrosatelitní nestability by neměl být vylučovacím kritériem pro PPAP.

Doporučení ke sledování [67]

- koloskopie každé 1–2 roky od 20–25 let;
- gastroduodenoskopie každé 3 roky od 20–25 let;
- u žen s mutací v *POLD1* gynekologický ultrazvuk 2krát ročně a biopsie endometria 1krát ročně od 40 let;
- ultrazvukové vyšetření prsou 1krát ročně od 40 let;
- mamografie 1krát za 2 roky od 45 let.

Pozn.: Je zapotřebí vzít v úvahu zvýšené riziko vzniku nádorů mozku u nosičů mutací v *POLE* a *POLD1*.

Peutzův-Jeghersův syndrom

Doplnění k publikovanému článku Puchmajerová et al: Peutz-Jeghersův syndrom [5].

Odpovědný gen: *STK11*

Dědičnost: autozomálně dominantní

Prevalence: 1 : 50 000 – 1 : 200 000 [80,81]

Charakteristika syndromu

Peutzův-Jeghersův syndrom je charakterizován hamartomatózními gastrointestinálními polypy, pigmentovanými kožními a slizničními lézemi zejména rtů a nosu v dětství a extraintestinálními nádory, vč. cervikálního adenoma malignum, ovariálních nádorů z pohlavní lišty

s anulárními tubuly, ze Sertoliho buněk nebo Sertoliho-Leydigových buněk a nádorů varlat [80,81]. Celoživotní rizika nádorů pro jednotlivé orgány jsou uvedena v tab. 4 [7].

Většina pacientů má kolem deseti gastrointestinálních hamartomů. Ačkoli většina polypů vzniká v tenkém střevě (60–90 %), mohou vzniknout také v kolorektu (5–60 %), žaludku (15–30 %) a vzácně žlučníku, respiračním nebo močovým traktu [80,81].

Velikost polypů v tenkém a tlustém střevě kolísá od několika mm po několik cm. Polypy jsou obvykle stopkaté, s hladkým a laločnatým povrchem. Histologicky mají hamartomy stromovitou konfiguraci s větvičkami se pruhy hladké svaloviny a dilatovanými kryptami [7,82].

Gastrické polypy jsou obvykle malé, asymptomatické a většinou lokalizované v antru. Je obtížné je odlišit od gastrických juvenilních a hyperplastických polypů. Dochází v nich k proliferaci hladké svaloviny a chybí granulační tkáň ve srovnání s juvenilními polypy. Gastrické hyperplastické a juvenilní polypy mají obvykle poškozený povrchový epitel na rozdíl od polypů u Peutzova-Jeghersova syndromu, kde je epitel intaktní [83].

Cowdenův syndrom / syndrom *PTEN* hamartomatózních nádorů

Doplnění k publikovanému článku Puchmajerová et al: Cowdenův syndrom [6].

Odpovědné geny: *PTEN*

Dědičnost: autozomálně dominantní

Prevalence: 1 : 200 000 [84]

Charakteristika syndromu

Cowdenův syndrom neboli syndrom *PTEN* hamartomatózních nádorů je charakterizován makrocefalií, mukokutánními lézemi (faciální trichilemomy, akrální keratóza, papilomatózní papuly a slizniční léze, které jsou patognomické pro tento syndrom), zvýšeným rizikem vzniku zhoubných nádorů (prsu, štítné žlázy, endometria, kolorekta (celoživotní riziko 10–15 %), ledvin a melanomu) a benigními hamartomatózními lézemi v tkáních vč. gastrointestinální polypózy [7].

Polypy bývají přítomny u téměř všech pacientů s Cowdenovým syndromem v celém gastrointestinálním traktu. Zahr-

nují hamartomatózní/juvenilní polypy, adenomy, ganglioneuromy a lymfoidní folikuly [7,28,85]. Difúzní ezofageální glykogenní akantóza je přítomna u více než 80 % pacientů s Cowdenovým syndromem a v kombinaci s polypózou tlustého střeva může být diagnostická pro tento syndrom [7]. Různé spektrum gastrointestinálních polypů, vč. hamartomatózních a ganglioneuromatózních polypů a difúzní glykogenové akantózy v jícnu vzbuzují podezření na diagnózu Cowdenova syndromu [7].

Byla popsána účinnost léčby mTOR inhibitory u nádorů vzniklých u pacientů s Cowdenovým syndromem. V současnosti probíhají klinické studie [86].

Syndrom juvenilní polypózy

Odpovědné geny: *SMAD4*, *BMPR1A*

Dědičnost: autozomálně dominantní

Prevalence: 1 : 100 000 [7]

Charakteristika syndromu

Syndrom juvenilní polypózy je charakterizován mnohočetnou polypózou v gastrointestinálním traktu. Polypy se vyvíjejí v 1. nebo 2. dekádě života [7]. Počet polypů se pohybuje mezi několika až stovkami polypů a jsou nacházeny nejčastěji v tlustém střevě a žaludku, méně často v tenkém střevě [87]. Pacienti mohou být asymptomatictí nebo mohou mít příznaky charakteru bolestí břicha, rektálního prolapsu, análního pruritu, zácpy nebo průjmu, anémie. Pacienti s rozsáhlou polypózou vč. těžké polypózy žaludku mohou mít gastroenterokolonopatii se ztrátami bílkovin, malabsorpcí a krvácením a vysokým rizikem úmrtí v mladém věku. Jedná se o infantilní formu syndromu, která je často spojena s vrozenými anomáliemi [7]. Je způsobena delecí sousedících genů *BMPR1A* a *PTEN*. Zárodečné mutace v genu *SMAD4* jsou spojeny s těžkou polypózou žaludku a zvýšeným rizikem karcinomu žaludku. Mutace v genu *SMAD4* jsou spojeny s výskytem hereditárních hemoragických telangiektázií [7,87].

Celoživotní riziko vzniku karcinomu GIT se uvádí 9–50 % a CRC je zjišťován u 17–22 % pacientů se syndromem juvenilní polypózy do věku 35 let [88–90].

Kolorektální juvenilní polypy mívají velikost 5–50 mm, typicky jsou sférické,

s hladkým povrchem. Mikroskopicky mají rozpínající se stroma s rozsáhlým edémem a smíšeným zánětlivým infiltrátem. Žlázy jsou často cysticky dilatovány a jsou přítomny nápadně reaktivní změny. Cévy jsou zřetelné v důsledku kongesce. Jsou nerozeznatelné od sporadických juvenilních polypů [7,91,92]. Dysplazie může být přítomna až v 50 % juvenilních polypů, avšak rozlišení mezi dysplazií a reaktivní atypii může být obtížné [91]. Žaludeční polypy jsou prakticky neodlišitelné od sporadických žaludečních hyperplastických polypů při barvení hematoxylin-eozinem [7].

Imunohistochemická detekce ztráty exprese proteinu SMAD4 v juvenilním polypu je obvykle známkou zárodečné mutace v genu *SMAD4* a lze ji použít jako screeningový nástroj. Nicméně zachovalá exprese proteinu SMAD4 nevyklučuje zárodečnou mutaci genu *SMAD4*. Ve sporadických juvenilních polypech a polypech nosičů mutací genu *BMPR1A* nikdy nebývá přítomna ztráta exprese proteinu SMAD4 [7,92].

Genetika

Zárodečná mutace v genech *SMAD4* nebo *BMPR1A* bývá zjištěna u 50–60 % pacientů, kteří splňují kritéria Světové zdravotnické organizace (WHO) pro syndrom juvenilní polypózy [92,93]. Proteiny *SMAD4* a *BMPR1A* jsou komponentami signální dráhy TGF β /BMP (transformující růstový faktor β / kostní morfogenetický protein), která reguluje buněčnou proliferaci a diferenciaci [94]. Poškození genů *SMAD4* a *BMPR1A* bývá obvykle charakteru bodových mutací nebo mikrolecí. Přibližně 15 % je charakteru rozsáhlých delecí jednoho nebo více exonů [95].

Diagnostická kritéria

WHO kritéria [88]:

- více než 3–5 juvenilních polypů v tlustém střevě současně;
- 1 nebo více juvenilních polypů s pozitivní rodinnou anamnézou.

Doporučení ke sledování

- kolonoskopie a gastrokopie od 15 let nebo dříve u symptomatických osob jednou za 1–3 roky v závislosti na počtu polypů;

- chirurgická léčba u pacientů s velkým počtem polypů neřešitelným endoskopicky.

Syndrom pilovité polypózy

Odpovědný gen: neznámý

Dědičnost: ?

Incidence: 1 : 100 000 [96]

Charakteristika syndromu

Syndrom pilovité polypózy (serrated polyposis syndrome – SPS), dříve známý jako syndrom hyperplastické polypózy, je klinicky definovaný syndrom charakterizovaný přítomností mnohočetných nebo velkých pilovitých polypů v kolorektu se zvýšeným rizikem vzniku CRC [2,87]. Fenotyp onemocnění je variabilní, někteří pacienti mají mnohočetné léze v průběhu celého tlustého střeva, zatímco jiní mají několik velkých pravostranných lézí [2]. Sesilní forma tvoří přibližně 25 % pilovitých polypů a často se jedná o prekurzorové léze pro CRC. Sesilní pilovité polypy jsou ploché, překryté vrstvou hlenu, což ztěžuje jejich rozpoznání a kompletní endoskopické odstranění [2].

Je odhadováno, že celoživotní riziko vzniku CRC může být vyšší než 50 %, podle některých zdrojů až 70 % [2,97]. Boparai et al zjistili CRC u 35 % pacientů s tímto syndromem [98]. Většina případů nádoru byla diagnostikována při iniciální koloskopii, a tedy při diagnóze syndromu, pouze u pěti pacientů (6,5 %) byl CRC diagnostikován v průběhu sledování. Pětileté riziko vzniku CRC během sledování je odhadováno na 7 % [98]. Až u 26 % pacientů může být diagnostikován synchronní nebo metachronní CRC [99].

Výskyt je stejně častý u mužů a u žen převážně v severozápadní evropské populaci. Předpokládá se, že onemocnění je pravděpodobně poddiagnostikováno jak gastroenterology, tak patology. Průměrný věk diagnózy je 55–65 let, ale onemocnění bylo popsáno u osob ve věku 11–83 let [100].

Genetika

Ačkoli 40–60 % pacientů uvádí rodinnou anamnézu CRC, přesný typ dědičnosti není známý [101]. Není sice známá zárodečná genetická příčina syndromu, avšak molekulární dráha, která vede

k vývoji karcinomu z pilovitého adenomu, je dobře definována [2]. Pilovité polypy se totiž vyvíjejí jinou dráhou, než je tradiční sekvence adenom – karcinom, a ta je nazývána dráhou pilovité neoplazie. V pilovitých polypech jsou zjišťovány nahromaděné somatické změny vč. mutací genu *BRAF* a vysoký stupeň metylace promotorových oblastí nádorových supresorových genů [87]. Bývá také metylován gen *MLH1*, což pak vede k nestabilitě mikrosatelitů a takové léze jsou charakterizovány rychlou progresí do dysplazie a karcinomu, podobně jako je tomu u Lynchova syndromu [102]. Molekulární profily sesilních pilovitých polypů jsou heterogenní, nelze proto vyloučit ještě další dráhy kancerogeneze [2]. Existence dráhy pilovitých polypů je podporována tzv. „paradoxem kouření“, kdy kouření je spojeno s významným rizikem vzniku polypů, avšak nižším rizikem rozvoje CRC [87,101,103]. U syndromu pilovitých polypů se uplatňuje také gen *RNF43*, negativní regulátor dráhy Wnt [104]. Pomocí celomomového sekvenování byla zjištěna zárodečná nonsense mutace v genu *RNF43* ve dvou z 20 rodin se syndromem pilovitých polypů [105]. Syndrom spjatý se zárodečnými mutacemi v genu *RNF43* je sice v databázi Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) uveden jako nádorový syndrom sesilní pilovité polypózy [106], avšak testování na zárodečné mutace tohoto genu není prozatím zahrnováno do rutinního testování, neboť další studie výskyt mutací v tomto genu nepotvrdila [87,107].

Diagnostická kritéria

Kritéria WHO 2010 [108]:

- alespoň 5 pilovitých polypů proximálně od sigmoidea, přičemž dva nebo více z nich jsou větší než 10 mm;
- jakýkoli počet pilovitých polypů proximálně od sigmoidea u jedince, který má příbuzného 1. stupně se syndromem pilovitých polypů;
- nebo více než 20 pilovitých polypů jakékoli velikosti lokalizovaných kdekoli v tlustém střevě.

Doporučení ke sledování [2]

- koloskopie každé 1–3 roky s ohledem na množství polypů;

- po chirurgické resekci koloskopie zbytku tlustého střeva jednou ročně vzhledem k riziku metachronního karcinomu; pokud při dvou po sobě následujících koloskopiích není zjištěna léze větší než 1 cm, dysplastická léze nebo se počet a velikost lézí zmenšuje, lze interval prodloužit na 2 roky;
- rizikové osoby – koloskopie od 40 let nebo o 10 let dříve, než byl výskyt polypů u nejmladšího příbuzného, platí, co nastane dříve; interval 5 let při normálním nálezu nebo 1–3 roky při nálezu polypů;
- někteří doporučují intenzivní sledování nejen u osob, která splňují výše uvedená kritéria pro diagnózu syndromu pilovitých polypů, ale již při nálezu dvou nebo více pilovitých lézí při koloskopii vzhledem k tomu, že u vysokého procenta pacientů splňujících tato kritéria je již přítomen CRC.

Jiné

Riziko vzniku CRC je uváděno jako zvýšené u osob s mutací genu *CHEK2*, přičemž tento gen je považován za asociovaný zejména s nádory prsu a prostaty [106]. Patogenní varianty v genu *CHEK2* byly zjištěny u 2,5 % CRC. Přibližně u 1 % pacientů s CRC jsou detekovány mutace genů *BRCA1* a *BRCA2* pro hereditární karcinom prsu a vaječníků [109].

Juvenilní-like zánětlivé gastrointestinální polypy mohou být manifestací neurofibromatózy 1. typu, nicméně tato asociace musí být teprve potvrzena a vyjasněna [110,111].

Závěr

Ačkoli jsou dědičné syndromy predispozice ke gastrointestinálním polypózám a CRC zodpovědné pouze za část případů onemocnění, povědomost o jejich existenci umožňuje časnou diagnózu a prevenci nádorové morbidity a mortality u postižených osob a jejich příbuzných. Genetické poradenství, prediktivní testování rizikových členů rodiny a screening predisponovaných osob přináší významnou výhodu mnoha generacím v těchto rodinách [2].

Na hereditární formy nádorů gastrointestinálního traktu je zapotřebí myslet u pacientů s nádory v časném věku nebo mnohočetnými nádory v osobní

nebo rodinné anamnéze. Klíčovou úlohu při tom hrají mimo jiné patologové, kteří mohou doporučit genetické vyšetření na základě specifického nálezu [7].

V posledních letech se objevily nové geny a syndromy, které vysvětlují mnohé případy gastrointestinální polypózy a CRC. Lze předpokládat, že u řady dalších pacientů bude v budoucnu zjištěna mutace v genech s dosud neznámou asociací s těmito onemocněními.

Jednotlivé uvedené syndromy mají zpravidla stanovená diagnostická a indikační kritéria. Dnes v době sekvenace nové generace umožňující paralelní testování velkého množství genů se význam specifických indikačních kritérií pro jednotlivé syndromy pozvolna ztrácí, neboť mohou být testovány všechny geny současně. Je pravděpodobné, že postupně dospějeme do situace, kdy budou stanovena obecná kritéria, u kterých pacientů indikovat testování panelu genů pro hereditární nádorová onemocnění. Takový postup však musí být zohledněn při genetické konzultaci, pacient musí být poučen o vyšetření velkého panelu genů, vč. genů s nízkou penetrancí, a o možnosti nálezu variant, které nemáme v současnosti spolehlivě interpretovat nebo jejichž souvislost s onemocněním není zřejmá.

Literatura

1. Jasperson KW, Tuohy TM, Neklason DW et al. Hereditary and familial colon cancer. *Gastroenterology* 2010; 138(6): 2044–2058. doi: 10.1053/j.gastro.2010.01.054.
2. Wells K, Wise P. Hereditary colorectal cancer syndromes. *Surg Clin N Am* 2017; 97(3): 605–625. doi: 10.1016/j.suc.2017.01.009.
3. Plevová P, Novotný J, Šachlová M et al. Hereditární nepolypózní kolorektální karcinom (HNPCC, Lynchův syndrom). *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl): S12–S15.
4. Plevová P, Štekrová J, Kohoutová M et al. Familiární adenomatózní polypóza. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl 1): S16–S19.
5. Puchmajerová A, Vasovčák P, Křepelová A. Peutz-Jeghersův syndrom. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl 1): S36–S37.
6. Puchmajerová A, Vasovčák P, Křepelová A et al. Cowdenův syndrom. *Klin Onkol* 2009; 22 (Suppl 1): S56–S57.
7. Spoto CPE, Gullo I, Carneiro F et al. Hereditary gastrointestinal carcinomas and their precursors: an algorithm for genetic testing. *Semin Diagn Pathol* 2018; 35(3): 170–183. doi: 10.1053/j.semdp.2018.01.004.
8. de la Chapelle A. The incidence of Lynch syndrome. *Fam Cancer* 2005; 4(3): 233–237. doi: 10.1007/s10689-004-5811-3.
9. Dunlop MG, Farrington SM, Carothers AD et al. Cancer risk associated with germline DNA mismatch repair gene mutations. *Hum Mol Genet* 1997; 6(1): 105–110. doi: 10.1093/hmg/6.1.105.

10. Guillem JG, Calle JPL, Cellini C et al. Varying features of early age-of-onset “sporadic” and hereditary nonpolyposis colorectal cancer patients. *Dis Colon Rectum* 1999; 42(1): 36–42.
11. Provenzale D, Gupta S, Ahnen DJ et al. Genetic/familial high-risk assessment: colorectal version 1.2016, NCCN clinical practice guidelines in oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2016; 14(8): 1010–1030.
12. Burt RW, Leppert MF, Slattery ML et al. Genetic testing and phenotype in a large kindred with attenuated familial adenomatous polyposis. *Gastroenterology* 2004; 127(2): 444–451.
13. Vogt S, Jones N, Christian D et al. Expanded extracolonic tumor spectrum. *Gastroenterology* 2009; 137(6): 1976–1985. doi: 10.1053/j.gastro.2009.08.052.
14. Lee SE, Kang SY, Cho J et al. Pyloric gland adenoma in Lynch syndrome. *Am J Surg Pathol* 2014; 38(6): 784–792. doi: 10.1097/PAS.0000000000000185.
15. 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.0b013e3181818fa2db.
16. Pinto D, Pinto C, Guerra J et al. Contribution of MLH1 constitutional methylation for Lynch syndrome diagnosis in patients with tumor MLH1 downregulation. *Cancer Med* 2018; 7(2): 433–444. doi: 10.1002/cam4.1285.
17. Castillejo A, Hernández-Illán E, Rodríguez-Soler M et al. Prevalence of MLH1 constitutional epimutations as a cause of Lynch syndrome in unselected versus selected consecutive series of patients with colorectal cancer. *J Med Genet* 2015; 52(7): 498–502. doi: 10.1136/jmedgenet-2015-103076.
18. Hesson LB, Packham D, Kwok CT et al. Lynch syndrome associated with two MLH1 promoter variants and allelic imbalance of MLH1 expression. *Hum Mutat* 2014; 36(6): 622–630. doi: 10.1002/humu.22785.
19. Ligtenberg MJ, Kuiper RP, Chan TL et al. Heritable somatic methylation and inactivation of MSH2 in families with Lynch syndrome due to deletion of the 3' exons of TACSTD1. *Nat Genet* 2009; 41(1): 112–117. doi: 10.1038/ng.283.
20. Hitchins MP. The role of epigenetics in lynch syndrome. *Fam Cancer* 2013; 12(2): 189–205. doi: 10.1007/s10689-013-9613-3.
21. Berg M, Hagland HR, Søreide K. Comparison of CpG island methylator phenotype (CIMP) frequency in colon cancer using different probe and gene specific scoring alternatives on recommended multigene panels. *PLoS ONE* 2014; 9(1): e86657. doi: 10.1371/journal.pone.0086657.
22. Grothey A, Venook AP. Optimizing adjuvant therapy for localized colon cancer and treatment selection in advanced colorectal cancer. *J Natl Compr Canc Netw* 2018; 16 (Suppl 5): 611–615. doi: 10.6004/jnccn.2018.0038.
23. Shia J. Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing for screening colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Part I. The utility of immunohistochemistry. *J Mol Diagn* 2008; 10(4): 293–300. doi: 10.2353/jmoldx.2008.080031.
24. Lindor NM, Petersen GM, Hadley DW et al. Recommendations for the care of individuals with an inherited predisposition to Lynch syndrome: a systematic review. *JAMA* 2006; 296(12): 1507–1517. doi: 10.1001/jama.296.12.1507.
25. Bouzourene H, Hutter P, Losi L et al. Selection of patients with germline MLH1 mutated Lynch syndrome by determination of MLH1 methylation and BRAF mutation. *Fam Cancer* 2009; 9(2): 167–172. doi: 10.1007/s10689-009-9302-4.
26. Veigl ML, Kasturi L, Olechnowicz J et al. Biallelic inactivation of hMLH1 by epigenetic gene silencing, a novel mechanism causing human MSI cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(15): 8698–8702. doi: 10.1073/pnas.95.15.8698.

27. Koinuma K, Shitoh K, Miyakura Y et al. Mutations of BRAF are associated with extensive hMLH1 promoter methylation in sporadic colorectal carcinomas. *Int J Cancer* 2004; 108(2): 237–242. doi: 10.1002/ijc.11523.
28. Syngal S, Brand RE, Church JM et al. ACG clinical guideline: genetic testing and management of hereditary gastrointestinal cancer syndromes. *Am J Gastroenterol* 2015; 110(2): 223–262. doi: 10.1038/ajg.2014.435.
29. Wimmer K, Kratz CP, Vasen HF et al. European consortium “care for CMMRD” (C4CMMRD). *J Med Genet* 2014; 51(6): 355–365. doi: 10.1136/jmedgenet-2014-102284.
30. Valle L. Recent discoveries in the genetics of familial colorectal cancer and polyposis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2017; 15(6): 809–819. doi: 10.1016/j.cgh.2016.09.148.
31. Durno CA, Sherman PM, Aronson M et al. Phenotypic and genotypic characterisation of biallelic mismatch repair deficiency (BMMR-D) syndrome. *Eur J Cancer* 2015; 51(8): 977–983. doi: 10.1016/j.ejca.2015.02.008.
32. 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 CMMRD” (C4CMMRD). *J Med Genet* 2014; 51(5): 283–293. doi: 10.1136/jmedgenet-2013-102238.
33. Ramchander NC, Ryan NA, Crosbie EJ et al. Homozygous germ-line mutation of the PMS2 mismatch repair gene: a unique case report of constitutional mismatch repair deficiency (CMMRD). *BMC Med Genet* 2017; 18(1): 40. doi: 10.1186/s12881-017-0391-x.
34. Bouffet E, Larouche V, Campbell BB et al. Immune checkpoint inhibition for hypermutant glioblastoma multiforme resulting from germline biallelic mismatch repair deficiency. *J Clin Oncol* 2016; 34(19): 2206–2211. doi: 10.1200/JCO.2016.66.6552.
35. Nebot-Bral L, Brandao D, Verlingue L et al. Hypermutated tumours in the era of immunotherapy: the paradigm of personalised medicine. *Eur J Cancer* 2017; 84: 290–303. doi: 10.1016/j.ejca.2017.07.026.
36. Guastadisegni C, Colafranceschi M, Ottini L et al. Microsatellite instability as a marker of prognosis and response to therapy: a meta-analysis of colorectal cancer survival data. *Eur J Cancer* 2010; 46(15): 2788–2798. doi: 10.1016/j.ejca.2010.05.009.
37. Abedalthagafi M. Constitutional mismatch repair-deficiency: current problems and emerging therapeutic strategies. *Oncotarget* 2018; 9(83): 35458–35469. doi: 10.18632/oncotarget.26249.
38. Pavelka Z, Zitterbart K, Nosková H et al. Effective immunotherapy of glioblastoma in an adolescent with constitutional mismatch repair-deficiency syndrome. *Klin Onkol* 2019; 32(1): 70–74. doi: 10.14735/amko201970.
39. Genetics Home Reference. U.S. National Library of Medicine. c2018 [online]. Available from: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/familial-adenomatous-polyposis>.
40. Järvinen HJ. Epidemiology of familial adenomatous polyposis in Finland: impact of family screening on the colorectal cancer rate and survival. *Gut* 1992; 33(3): 357–360. doi: 10.1136/gut.33.3.357.
41. Bisgaard ML, Fenger K, Bülow S et al. Familial adenomatous polyposis (FAP): frequency, penetrance, and mutation rate. *Hum Mutat* 1994; 3(2): 121–123. doi: 10.1002/humu.1380030206.
42. Wood LD, Salaria SN, Cruise MW et al. Upper GI tract lesions in familial adenomatous polyposis (FAP): enrichment of pyloric gland adenomas and other gastric and duodenal neoplasms. *Am J Surg Pathol* 2014; 38(3): 389–393. doi: 10.1097/PAS.0000000000000146.
43. Brosens LA, Keller JJ, Offerhaus GJ et al. Prevention and management of duodenal polyps in familial adenomatous polyposis. *Gut* 2005; 54(7): 1034–1043. doi: 10.1136/gut.2004.053843.
44. Li J, Woods S, Healey S et al. Point mutations in exon 1B of APC reveal gastric adenocarcinoma and proximal polyposis of the stomach as a familial adenomatous polyposis variant. *Am J Hum Genet* 2016; 98(5): 830–842. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.03.001.
45. Arnason T, Liang WY, Alfaro E et al. Morphology and natural history of familial adenomatous polyposis-associated dysplastic fundic gland polyps. *Histopathology* 2014; 65(3): 353–362. doi: 10.1111/his.12393.
46. Garean S, Hering J, Saied A et al. Gastric adenocarcinoma arising from fundic gland polyps in a patient with familial adenomatous polyposis syndrome. *Am Surg* 2008; 74(1): 79–83.
47. Talseth-Palmer BA. The genetic basis of colonic adenomatous polyposis syndromes. *Hered Cancer Clin Pract* 2012; 15: 5. doi: 10.1186/s13053-017-0065-x.
48. Worthley DL, Phillips KD, Wayte N et al. Gastric adenocarcinoma and proximal polyposis of the stomach (GAPPS): a new autosomal dominant syndrome. *Gut* 2012; 61(5): 774–779. doi: 10.1136/gutjnl-2011-300348.
49. Repak R, Kohoutova D, Podhola M et al. The first European family with gastrin adenocarcinoma and proximal polyposis of the stomach: case report and review of the literature. *Gastrointest Endosc* 2016; 84(4): 718–725. doi: 10.1016/j.gie.2016.06.023.
50. Gentia RM, Schuler CM, Robiou CI et al. No association between gastric fundic gland polyps and gastrointestinal neoplasia in a study of over 100,000 patients. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7(8): 849–854. doi: 10.1016/j.cgh.2009.05.015.
51. Huang CZ, Lai RX, Mai L et al. Relative risk factors associated with the development of fundic gland polyps. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2014; 26(11): 1217–1221. doi: 10.1097/MEG.0000000000000199.
52. Stolte M, Vieth M, Ebert MP. High-grade dysplasia in sporadic fundic gland polyps: clinically relevant or not? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15(11): 1153–1156. doi: 10.1097/01.meg.00000085495.01212.1c.
53. Lin Y, Lin S, Baxter MD et al. Novel APC promoter and exon 1B deletion and allelic silencing in three mutation-negative classic familial adenomatous polyposis families. *Genome Med* 2015; 7(1): 42. doi: 10.1186/s13073-015-0148-0.
54. Snow AK, Tuohy TM, Sargent NR et al. APC promoter 1B deletion in seven American families with familial adenomatous polyposis. *Clin Genet* 2015; 88(4): 360–365. doi: 10.1111/cge.12503.
55. Groves C, Lamium H, Crabtree M et al. Mutation cluster region, association between germline and somatic mutations and genotype-phenotype correlation in upper gastrointestinal familial adenomatous polyposis. *Am J Pathol* 2002; 160(6): 2055–2061. doi: 10.1016/S0002-9440(10)61155-8.
56. Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology. Institut de l'Information Scientifique et Technique. c2018. [online]. Available from: <http://atlas-geneticsoncol.org/Kprones/MYHpolypID10121.html>.
57. Papp J, Kovacs ME, Matrai Z et al. Contribution of APC and MUTYH mutations to familial adenomatous polyposis susceptibility in Hungary. *Fam Cancer* 2016; 15(1): 85–97. doi: 10.1007/s10689-015-9845-5.
58. Nielsen M, Lynch H, Infante E et al. MUTYH-associated polyposis. *GeneReviews*. University of Washington. c1993–2019. [online]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK107219/>.
59. Nielsen M, Poley JW, Verhoef S et al. Duodenal carcinoma in MUTYH-associated polyposis. *J Clin Pathol* 2006; 59(11): 1212–1215. doi: 10.1136/jcp.2005.031757.
60. Morak M, Heidenreich B, Keller G et al. Biallelic MUTYH mutations can mimic Lynch syndrome. *Eur J Hum Genet* 2014; 22(11): 1334–1337. doi: 10.1038/ejhg.2014.15.
61. Win AK, Dowty JG, Cleary SP et al. Risk of colorectal cancer for carriers of mutations in MUTYH, with and without a family history of cancer. *Gastroenterology* 2014; 146(5): 1208–1211. doi: 10.1053/j.gastro.2014.01.022.
62. Win AK, Reece JC, Dowty JG et al. Risk of extracolonic cancers for people with biallelic and monoallelic mutations in MUTYH. *Int J Cancer* 2016; 139(7): 1557–1563. doi: 10.1002/ijc.30197.
63. Lipton L, Halford SE, Johnson V et al. Carcinogenesis in MYH-associated polyposis follows a distinct genetic pathway. *Cancer Res* 2003; 63(22): 7595–7599.
64. Weren RD, Ligtenberg MJ, Kets CM et al. A germline homozygous mutation in the base-excision repair gene NTHL1 causes adenomatous polyposis and colorectal cancer. *Nat Genet* 2015; 47(6): 668–671. doi: 10.1038/ng.3287.
65. Grolleman JE, de Voer RM, Elsayed FA et al. Mutational signature analysis reveals NTHL1 deficiency to cause a multi-tumor phenotype. *Cancer Cell* 2019; 35(2): 256–266. doi: 10.1016/j.ccell.2018.12.011.
66. Weren RD, Ligtenberg MJ, Geurts van Kessel A et al. NTHL1 and MUTYH polyposis syndromes: two sides of the same coin? *J Pathol* 2018; 244(2): 135–142. doi: 10.1002/path.5002.
67. Bellido F, Pineda M, Aiza G et al. POLE and POLD1 mutations in 529 kindred with familial colorectal cancer and/or polyposis: review of reported cases and recommendations for genetic testing and surveillance. *Genet Med* 2016; 18(4): 325–332. doi: 10.1038/gim.2015.75.
68. Nicolas E, Golemis EA, Arora S. POLD1: Central mediator of DNA replication and repair, and implication in cancer and other pathologies. *Gene* 2016; 590(1): 128–141. doi: 10.1016/j.gene.2016.06.031.
69. Hansen MF, Johansen J, Bjornevoll I et al. A novel POLE mutation associated with cancers of colon, pancreas, ovaries and small intestine. *Fam Cancer* 2015; 14(3): 437–448. doi: 10.1007/s10689-015-9803-2.
70. Rohlin A, Zagoras T, Nilsson S et al. A mutation in POLE predisposing to a multi-tumour phenotype. *Int J Oncol* 2014; 45(1): 77–81. doi: 10.3892/ijo.2014.2410.
71. Wimmer K, Beiken A, Nustede R et al. A novel germline POLE mutation causes an early onset cancer prone syndrome mimicking constitutional mismatch repair deficiency. *Fam Cancer* 2017; 16(1): 67–71. doi: 10.1007/s10689-016-9925-1.
72. Palles C, Cazier JB, Howarth KM et al. Germline mutations affecting the proofreading domains of POLE and POLD1 predispose to colorectal adenomas and carcinomas. *Nat Genet* 2013; 45(2): 136–144. doi: 10.1038/ng.2503.
73. Buchanan DD, Stewart JR, Clendenning M et al. Risk of colorectal cancer for carriers of a germline mutation in POLE or POLD1. *Genet Med* 2018; 20(8): 890–895. doi: 10.1038/gim.2017.185.
74. Heitzer E, Tomlinson I. Replicative DNA polymerase mutations in cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2014; 24: 107–113. doi: 10.1016/j.cdev.2013.12.005.
75. Rashid M, Fischer A, Wilson CH et al. Adenoma development in familial adenomatous polyposis and MUTYH-associated polyposis: somatic landscape and driver genes. *J Pathol* 2016; 238(1): 98–108. doi: 10.1002/path.4643.
76. Elsayed FA, Kets CM, Ruano D et al. Germline variants in POLE are associated with early onset mismatch repair deficient colorectal cancer. *Eur J Hum Genet* 2015; 23(8): 1080–1084. doi: 10.1038/ejhg.2014.242.
77. Jansen AM, van Wezel T, van den Akker BE et al. Combined mismatch repair and POLE/POLD1 defects explain unresolved suspected Lynch syndrome cancers. *Eur J Hum Genet* 2016; 24(7): 1089–1092. doi: 10.1038/ejhg.2015.252.
78. Weedon MN, Ellard S, Prindle MJ et al. An in-frame deletion at the polymerase active site of POLD1 causes a multisystem disorder with lipodystrophy. *Nat Genet* 2013; 45: 947–950. doi: 10.1038/ng.2670.
79. Sasaki H, Yanagi K, Ugi S et al. Definitive diagnosis of mandibular hypoplasia, deafness, progeroid features and lipodystrophy (MDPL) syndrome caused by a recurrent de novo mutation in the POLD1 gene. *Endocr J* 2018; 65(2): 227–238. doi: 10.1507/endocrj.E17-0287.

80. Beggs AD, Latchford AR, Vasen HF et al. Peutz-Jeghers syndrome: a systematic review and recommendations for management. *Gut* 2010; 59(7): 975–986. doi: 10.1136/gut.2009.198499.
81. van Lier MG, Wagner A, Mathus-Vliegen EM. High cancer risk in Peutz-Jeghers syndrome: a systematic review and surveillance recommendations. *Am J Gastroenterol* 2010; 105(6): 1258–1264. doi: 10.1038/ajg.2009.725.
82. Tse JY, Wu S, Shinagare SA et al. Peutz-Jeghers syndrome: a critical look at slonic Peutz-Jeghers polyps. *Mod Pathol* 2013; 26(9): 1235–1240. doi: 10.1038/modpathol.2013.44.
83. Lam-Himlin D, Park JY, Cornish TC et al. Morphologic characterization of syndromic gastric polyps. *Am J Surg Pathol* 2010; 34(11): 1656–1662. doi: 10.1097/PAS.0b013e-3181f2b1f1.
84. Orpha.net. French National Institute for Health and Medical Research. c1977–2019. [online]. Available from: <https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/index.php>.
85. Borowsky J, Setia N, Lauwers G et al. Gastrointestinal tract pathology in PTEN Hamartoma tumour syndrome: a review of 43 cases. *Mod Pathol* 2015; 28 (Suppl 2): 149A.
86. Agarwal R, Liebe S, Turski ML et al. Targeted therapy for genetic cancer syndromes: Von Hippel-Lindau disease, Cowden syndrome, and Proteus syndrome. *Discov Med* 2015; 19(103): 109–116.
87. Ma H, Brosens LA, Offerhaus GJ et al. Pathology and genetics of hereditary colorectal cancer. *Pathology* 2018; 50(1): 49–59. doi: 10.1016/j.pathol.2017.09.004.
88. Brosens LA, van Hattem A, Hylind LM et al. Risk of colorectal cancer in juvenile polyposis. *Gut* 2007; 56(7): 965–967. doi: 10.1136/gut.2006.116913.
89. Howe JR, Mitros FA, Summers RW. The risk of gastrointestinal carcinoma in familial juvenile polyposis. *Ann Surg Oncol* 1998; 5(8): 751–756.
90. Schreibman IR, Baker M, Amos C et al. The hamartomatous polyposis syndromes: a clinical and molecular review. *Am J Gastroenterol* 2005; 100(2): 476–490. doi: 10.1111/j.1572-0241.2005.40237.x.
91. van Hattem WA, Langeveld D, de Leng WW et al. Histologic variations in juvenile polyp phenotype correlate with genetic defect underlying juvenile polyposis. *Am J Surg Pathol* 2011; 35(4): 530–536. doi: 10.1097/PAS.0b013e318211cae1.
92. Brosens LA, Langeveld D, van Hattem WA et al. Juvenile polyposis syndrome. *World J Gastroenterol* 2011; 17(44): 4839–4844. doi: 10.3748/wjg.v17.i44.4839.
93. van Hattem WA, Brosens LA, de Leng WW et al. Large genomic deletions of SMAD4, BMPR1A and PTEN in juvenile polyposis. *Gut* 2008; 57(5): 623–627. doi: 10.1136/gut.2007.142927.
94. Massague J. TGFbeta signaling: receptors, transducers, and Mad proteins. *Cell* 1996; 85(7): 947–950.
95. Calva-Cerqueira D, Dahdaleh FS, Woodfield G et al. Discovery of the BMPR1A promoter and germline mutations that cause juvenile polyposis. *Hum Mol Genet* 2010; 19(23): 4654–4662. doi: 10.1093/hmg/ddq396.
96. Rodriguez-Moranta F, Rodriguez-Alonso L, Guardiola Capon J. Serrated polyposis syndrome. *Cir Esp* 2014; 92(10): 643–644. doi: 10.1016/j.jcircsp.2014.03.003.
97. Edelstein DL, Cruz-Correa M, Soto-Salgado M et al. Risk of colorectal and other cancers in patients with serrated polyposis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2015; 13(9): 1697–1699. doi: 10.1016/j.cgh.2015.02.003.
98. Boparai KS, Mathus-Vliegen EM, Koornstra JJ et al. Increased colorectal cancer risk during follow-up in patients with hyperplastic polyposis syndrome: a multicentre cohort study. *Gut* 2010; 59(8): 1094–1100. doi: 10.1136/gut.2009.185884.
99. Rosty C, Walsh MD, Walters RJ et al. Multiplicity and molecular heterogeneity of colorectal carcinomas in individuals with serrated polyposis. *Am J Surg Pathol* 2013; 37(3): 434–442. doi: 10.1097/PAS.0b013e318270f748.
100. Crowder CD, Sweet K, Lehman A et al. Serrated polyposis is an underdiagnosed and unclear syndrome: the surgical pathologist has a role in improving detection. *Am J Surg Pathol* 2012; 36(8): 1178–1185. doi: 10.1097/PAS.0b013e3182597f41.
101. Rosty C, Parry S, Young JP. Serrated polyposis: an enigmatic model of colorectal cancer predisposition. *Patholog Res Int* 2011; 2011: 157073. doi: 10.4061/2011/157073.
102. Anderson JC. Pathogenesis and management of serrated polyps: current status and future directions. *Gut Liver* 2014; 8(6): 582–589. doi: 10.5009/gnl14248.
103. IJspeert JE, Bossuyt PM, Kuipers EJ et al. Smoking status informs about the risk of advanced serrated polyps in a screening population. *Endosc Int Open* 2016; 4(1): E73–E78. doi: 10.1055/s-0034-1393361.
104. Valle L. Recent discoveries in the genetics of familial colorectal cancer and polyposis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2017; 15(5): 809–819. doi: 10.1016/j.cgh.2016.09.148.
105. Gala MK, Mizukami Y, Le LP et al. Germline mutations in oncogene induced senescence pathways are associated with multiple sessile serrated adenomas. *Gastroenterology* 2014; 146(2): 520–529. doi: 10.1053/j.gastro.2013.10.045.
106. Omim.org. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine. c1966–2019. [online]. Available from: <https://www.omim.org>.
107. Buchanan DD, Clendenning M, Zhuoer L et al. Lack of evidence for germline RNF43 mutations in patients with serrated polyposis syndrome from a large multinational study. *Gut* 2017; 66(6): 1170–1172. doi: 10.1136/gutjnl-2016-312773.
108. Snover DC, Ahnen DJ, Burt RW et al. Serrated polyps of the colon and rectum and serrated polyposis. In: Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND (eds). *WHO classification of tumours of the digestive system*. Lyon: IARC Press 2010: 160–165.
109. You YN, Borrás E, Chang K et al. Detection of pathogenic germline variants among patients with advanced colorectal cancer undergoing tumor genomic profiling for precision medicine. *Dis Colon Rectum* 2019; 62(4): 429–437. doi: 10.1097/DCR.0000000000001322.
110. Agaimy A, Schaefer IM, Kotzina L et al. Juvenile-like (inflammatory/hyperplastic) mucosal polyps of the gastrointestinal tract in neurofibromatosis type 1. *Histopathology* 2014; 64(6): 777–786. doi: 10.1111/his.12325.
111. Brosens LA, Offerhaus GJ, Canto MI et al. Simultaneous juvenile polyposis syndrome and neurofibromatosis type 1. *Histopathology* 2016; 68(2): 313–315. doi: 10.1111/his.12734.

GAPPS – Gastric Adenocarcinoma and Proximal Polyposis of the Stomach Syndrome in 8 Families Tested at Masaryk Memorial Cancer Institute – Prevention and Prophylactic Gastrectomies

GAPPS – syndrom adenokarcinomu žaludku a mnohočetné polypózy žaludku v 8 rodinách testovaných v Masarykově onkologickém ústavu – prevence vč. profylaktické gastrektomie

Foretova L.¹, Navratilova M.¹, Svoboda M.^{1,2}, Grell P.², Nemeč L.³, Sirotek L.³, Obermannova R.², Novotny I.⁴, Sachlova M.⁴, Fabian P.⁵, Kroupa R.⁶, Vasickova P.¹, Hazova J.¹, Stahlova Hrabincova E.¹, Machackova E.¹

¹ Department of Cancer Epidemiology and Genetics, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno

² Clinic of Comprehensive Cancer Care, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno

³ Clinic of Surgical Oncology, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno

⁴ Department of Gastroenterology and Digestive Endoscopy, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno

⁵ Department of Oncology and Experimental Pathology, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno

⁶ Clinic of Internal Medicine and Gastroenterology, Faculty of Medicine, Masaryk University and University Hospital, Brno

Summary

Gastric adenocarcinoma and proximal polyposis of the stomach (GAPPS) is a rare variant of familial adenomatous polyposis. It is an autosomal-dominant cancer-predisposition syndrome with massive polyposis of the stomach and a significant risk of gastric adenocarcinoma. Li et al., 2016, described point mutations in the Ying Yang 1 binding site of the APC gene 1B promoter associated with GAPPS syndrome. The first GAPPS syndrome in a Czech family was described in 2016. At Masaryk Memorial Cancer Institute, GAPPS syndrome was diagnosed in eight families using Sanger sequencing. In all families, one mutation in promoter 1B of APC gene NM_001127511: c.-191T>C was detected. This mutation was not found in any patient with multiple colon polyposis without a detected classic mutation in the APC gene. In total, 24 carriers of this mutation in promoter 1B of the APC gene were detected. Out of those 24 carriers, 20 had massive gastric polyposis with more than 100 fundic glandular polyps diagnosed between the age of 22 and 65, 5 had already died of adenocarcinoma of the stomach (at the ages of 29, 40, 59, 60 and 64, respectively) and another woman was treated at the age of 29. Two female carriers do not yet have polyposis of the stomach at the ages of 31 and 65, respectively; one female carrier has incipient polyposis at the age of 58. A male carrier does not have any clinical symptoms, gastroscopy was not indicated because of his age. Prophylactic total gastrectomy with D2 lymphadenectomy has already been performed 6 times at Masaryk Memorial Cancer Institute, in 5 cases without adenocarcinoma at the ages of 27, 34, 44, 51 and 66, respectively; in one female carrier adenocarcinoma of the stomach was detected in a histology specimen. Two prophylactic gastrectomies with D1 lymphadenectomy were performed at University Hospital Brno at the ages of 42 and 50, respectively. In the Czech Republic point mutation c.-191T>C (rs879253783) in the 1B promoter of the APC gene is a frequent cause of gastric polyposis with a high risk of gastric adenocarcinoma, even at a young age. Positively tested individuals are recommended to high-risk oncology clinic. A necessary part of the discussion with the patient is information about a preventive gastrectomy.

Key words

polyposis – gastric – hereditary – gastric cancer – gastrectomy

Supported by the grant project of the Czech Ministry of Health – RVO (MOÚ, 00209805).

Podpořeno grantem Ministerstva zdravotnictví – RVO (MOÚ, 00209805).

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

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

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.

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



doc. MUDr. Lenka Foretová, Ph.D.
Department of Cancer
Epidemiology and Genetics
Masaryk Memorial Cancer Institute
Zlutý kopec 7, 656 53 Brno
e-mail: foretova@mou.cz

Submitted/Obdrženo: 12. 3. 2019

Accepted/Přijato: 16. 4. 2019

doi: 10.14735/amko2019S109

Souhrn

Syndrom adenokarcinomu žaludku a mnohočetné polypózy žaludku (GAPPS) je variantou syndromu familiární adenomatózní polypózy. Jedná se o autozomálně dominantně dědičný syndrom nádorové predispozice s časně se vyvíjející masivní polypózou žaludku, lokalizovanou ve fundu a těle žaludku, nikoliv v antru, s vysokým rizikem vzniku adenokarcinomu. V roce 2016 Li et al publikovali výsledky výzkumu, kde zjistili, že bodové mutace v oblasti Ying Yang 1 vazebného místa 1B promotoru *APC* genu jsou zodpovědné za asociaci s GAPPS příznaky. Tato regulační oblast většinou není zahrnuta v panelech pro masivní paralelní sekvenování a je nutné ji dovyšetřit Sangerovým sekvenováním. První údaje o rodině s GAPPS v České republice byly publikovány v roce 2016. V Masarykově onkologickém ústavu bylo zachyceno osm rodin s výskytem dědičného syndromu GAPPS. U všech rodin byla zjištěna jedna patogenní mutace v promotoru 1B *APC* genu, NM_001127511: c.-191T>C. Tato mutace nebyla nalezena u žádného pacienta s mnohočetnou polypózou tlustého střeva bez zjištěné klasické mutace v genu *APC*. Celkem bylo diagnostikováno 24 osob nosičů této mutace v promotoru 1B *APC* genu. Z těchto 24 osob mělo 20 nosičů masivní polypózu žaludku s více než 100 fundickými glandulárními polypy diagnostikovanou ve věku od 22 do 65 let, 5 již zemřelo na adenokarcinom žaludku (ve věku 29, 40, 59, 60 a 64 let), další žena ve věku 29 let se léčila. Dvě nosičky mutace ve věku 31 a 65 let zatím nemají vyvinutou polypózu žaludku, u jedné ve věku 58 let je incipientní polypóza žaludku. Nosič mutace nemá žádné klinické příznaky, gastroscopie nebyla vzhledem k věku indikována. Preventivní totální gastrektomie s D2 lymfadenektomií byla provedena 6x v Masarykově onkologickém ústavu, v 5 případech bez nálezu adenokarcinomu ve věku 27, 34, 44, 51, 66, u jedné nosičky mutace byl ve věku 29 let nalezen G2 adenokarcinom žaludku v histologickém preparátu. Další dvě profylaktické gastrektomie s D1 lymfadenektomií byly provedeny ve Fakultní nemocnici Brno u nosičů ve věku 42 a 50 let. Bodová mutace c.-191T>C (rs879253783) v 1B promotoru *APC* genu je v České republice častou příčinou polypózy žaludku a nese vysoké riziko adenokarcinomu žaludku i v mladém věku. Pozitivně testovaní pacienti jsou dispenzarizováni v rizikové onkologické ambulanci. Nezbytnou součástí diskuze s pacientem je informace o preventivní gastrektomii.

Klíčová slova

polypóza – žaludek – hereditární – karcinom žaludku – gastrektomie

Introduction

Gastric polyps are found in 1–4% of patients undergoing gastroscopy. Fundic gland polyps (FGP) are the most frequent and account for about 70% of all gastric polyps [1]. Sporadic FGPs are mostly seen in the gastric body and fundus, are smaller than 5 mm and are usually fewer in number (less than 10). These polyps are often caused by prolonged treatment of proton pump inhibitors (PPI) and are negatively associated with *Helicobacter pylori* infection. FGPs are mostly sporadic but may be seen in hereditary cancer syndromes like familial adenomatous polyposis (FAP), Lynch syndrome, Cowden syndrome, juvenile polyposis, Peutz-Jeghers syndrome and MYH-associated polyposis with a variable risk of gastric cancer.

The polyps in these syndromes may differ histologically from purely dysplastic fundic polyps [2,3]. Syndrome polyps may be transformed into malignancy more frequently than sporadic.

A new autosomal dominant syndrome with multiple proximal polyposis of the stomach localised to the fundus and body, sparing the antrum and duodenum, with a high tendency to malignancy and adenocarcinoma of the stomach (gastric adenocarcinoma and proximal polyposis of the stomach

(GAPPS) syndrome) was described clinically in the year 2012 [1]. In 2016 Li et al. [4] published their research results in which they discovered that three point mutations located within the Ying Yang 1 (YY1) binding motif of promoter 1B of the *APC* gene are responsible for association with GAPPS symptoms. This regulation region is usually not included in new generation sequencing (NGS) panels and must be resolved using Sanger sequencing. In six families three different mutations within the YY1 region were found in the *APC* 1B promoter: c.-195A>C, c.-191T>C, c.-192A>G. The first family with GAPPS in the Czech Republic with the presence of the c.-191T>C mutation was published in 2016 [5], in Austria in 2017 [6] and in Japan in 2018 [7]. YY1 is a ubiquitously expressed transcription factor that has multiple roles in oncogenesis and can act as an activator and repressor of transcription. [4]. During *in vivo* functional analysis with GAPPS segregating variants (c.-195A>C, c.-191T>C and c.-192A>G) each of them showed disruption of the YY1 transcription factor binding site and a significant decrease in transcription activity from the 1B promoter compared to the wild-type construct [4]. In the majority of GAPPS polyps, the second hit in the form of loss of the wild-

type allele or by somatic truncating mutations was seen. These events, however, are probably late in the development of gland polyps. *APC* haploinsufficiency may be responsible for polyposis, the second intervention with the removal of the second copy of the gene may be important for the development of dysplasia. According to Hosoya et al. [8] the 1B *APC* gene promoter in the gastric mucosa is about 15 times more transcribed than the 1A promoter. Promoter 1A is mostly methylated in gastric cancer cell lines, 97.5% non-tumour gastric mucosa and 82.5% of gastric carcinomas. Thus, promoter 1B and its transcripts are very important in the gastric mucosa, the intestinal mucosa (colon) is protected primarily by the expression of isoforms from promoter 1A (the main transcripts NM_000038.5; NM_001127510). Several *APC* isoforms are expressed from the 1B promoter; in the case of transcript NM_001127511 exons 2 and 7 are missing (in comparison with RefSeq NM_000038.5). Mutations in exon 2 and 7 lead to a milder form of FAP. Large deletions of the promoter 1B region may lead to the deletion of the enhancers of promoters 1A and 1B and cause intestinal polyposis with (though not always) FGP. Only two point mutations in the 1B promoter caused intestinal polyposis,

others caused only isolated polyposis of the stomach.

In the Department of Cancer Epidemiology and Genetics of the Masaryk Memorial Cancer Institute (MMCI), families with gastric cancer and/or gastric polyposis with or without colon polyposis were tested over several years. In all of these patients, testing for the *APC*, *MUTYH*, genes for Lynch syndrome and other polyposis syndromes was negative. In 2017, we retroactively tested 25 of these patients for the possibility of GAPPS syndrome. In addition, 18 newly diagnosed patients with massive gastric polyposis/gastric cancer were tested.

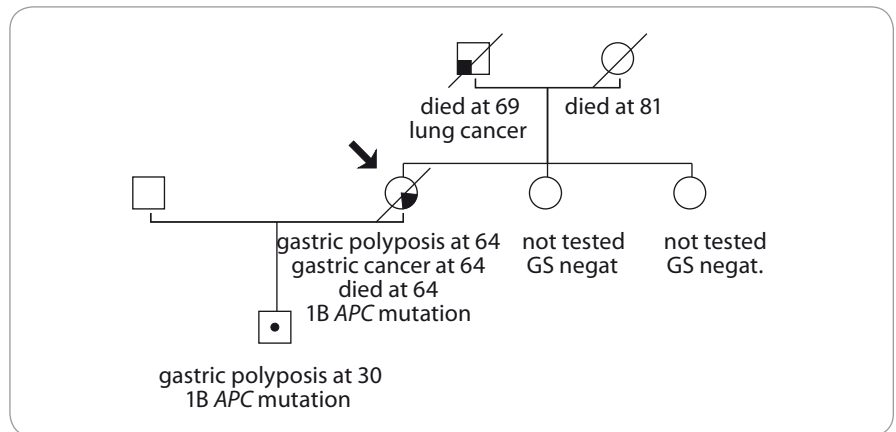


Fig. 1. Pedigree of family no. 1 (Masaryk Memorial Cancer Institute).
GS – gastroscopy

Methods

In all patients, Sanger sequencing was used. Polymerase chain reaction amplification of the *APC* gene promoter 1 beta (5'UTR region; primers according to Li et al., 2016 [4] and sequencing at the 3130 Genetic Analyser (Applied Biosystems, ThermoFisher Scientific, USA) was performed. In all patients who tested positive, substitution in the *APC* gene (NM_001127511.2): c.-191T>C (rs879253783; genomic position: Chr5(GRCh38):g.112707527T>C; in case of RefSeq NM_000038.5(*APC*): c.-30417T>C) was detected. The muta-

tion was confirmed from the second isolated DNA sample.

Results and families

In eight families from the South Moravian region of the Czech Republic, a diagnosis of GAPPS syndrome was confirmed. Both patients with massive gastric polyposis and patients with gastric cancer were tested. All of the patients signed informed consent for molecular genetic testing; in those patients already deceased, the consent form was signed at the time of their first testing including consent to the use of the sample for re-

search. For all living individuals, genetic counselling was performed before and after the testing.

Family 1 (Fig. 1)

An index case was diagnosed with massive stomach polyposis and with stomach adenocarcinoma at the metastatic stage at the age of 64, she died within 3 months. She did not have a colonoscopy. The patient had been using PPI for more than 10 years but she was not monitored for gastroscopy during treatment. Her son was diagnosed with massive gastric polyposis at the age of 30,

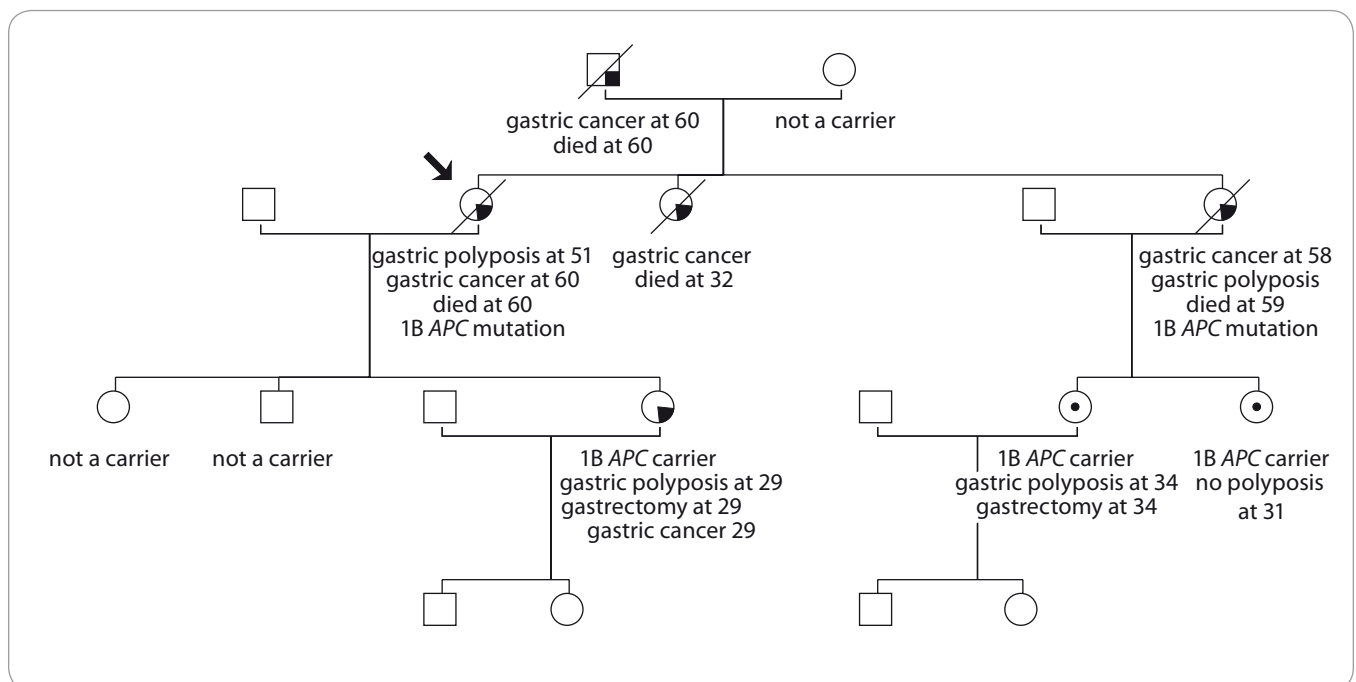


Fig. 2. Pedigree of family no. 2 (Masaryk Memorial Cancer Institute).

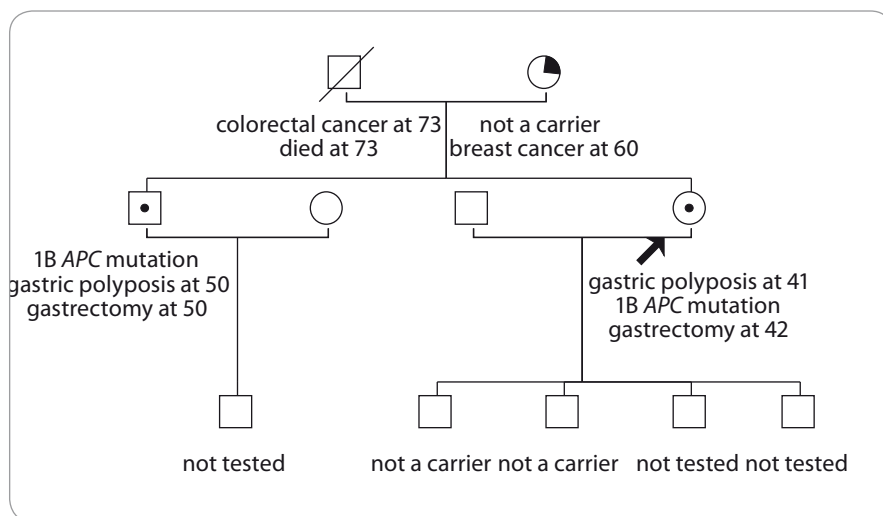


Fig. 3. Pedigree of family no. 3 (Masaryk Memorial Cancer Institute).

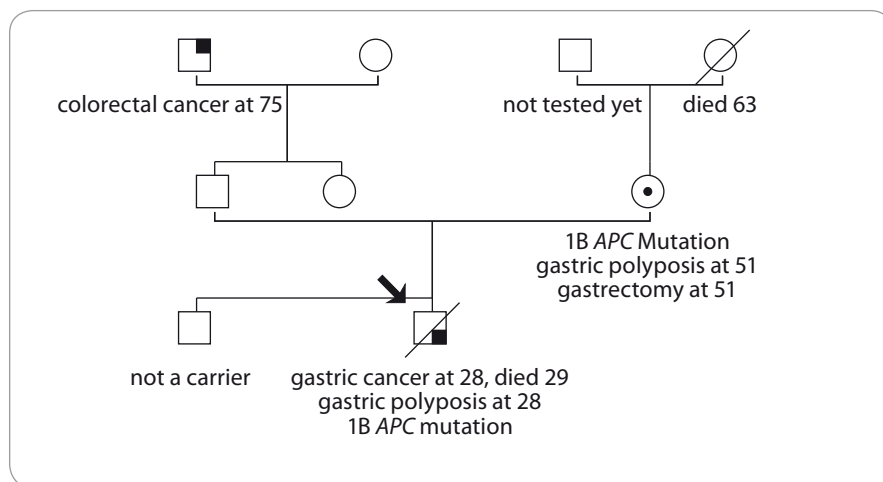


Fig. 4. Pedigree of family no. 4 (Masaryk Memorial Cancer Institute).

using PPI for 6 months. The colonoscopy was negative. Genetic testing confirmed for both APC mutation: c.-191T>C. The son is being monitored in the preventive oncology department of the MMCI, considering preventive surgery.

Family 2 (Fig. 2)

An index case was monitored for gastric polyposis from the age of 51 outside the MMCI. At the age of 60, gastric adenocarcinoma with liver metastasis was detected; she died within 6 months. The colonoscopy was negative. Her sister died of gastric cancer at age 32. Another sister did not go to preventive gastroscopy, she was diagnosed with massive gastric polyposis at the age of 58 with metastatic gastric adenocarcinoma; she died a year

after diagnosis. Both sisters are carriers of APC mutation: c.-191T>C. Out of five children there are three positive carriers, one at the age of 31 with no gastric polyposis, one having massive polyposis at the age of 29, she decided for a preventive gastrectomy at the age of 29 with a finding of gastric adenocarcinoma in the histology specimen (tubulopapillary cancer with two positive lymphonodes, pT1b, pN1, G2, clinical stage 1B); and one with massive polyposis and preventive gastrectomy at 35 years of age without carcinoma.

Family 3 (Fig. 3)

An index case had a gastroscopy at the age of 28 without polyposis; she had another gastroscopy at the age of 41 when massive gastric polyposis was detected.

She is a carrier of APC mutation: c.-191T>C. Her brother is also a carrier. He had a gastroscopy in 2018 when massive polyposis was diagnosed. A prophylactic gastrectomy with D1 lymphadenectomy was performed in both patients at University Hospital Brno, with no gastric cancer found. Two sons of the index case did not inherit the mutation. The mother of the index case was diagnosed with breast cancer and adenoma of the rectum at 60, the gastroscopy was negative, she is not a carrier. The index case's father died of metastatic colorectal cancer at the age of 73.

Family 4 (Fig. 4)

An index case was diagnosed with gastric tubular adenocarcinoma at the age of 28, gastric polyposis was described, he died 10 months later. Sequencing of the 1B APC gene promoter detected the c.-191T>C mutation. The same mutation was detected in his mother. She did not have any clinical problems but was found to have massive polyposis at the age of 50. A prophylactic gastrectomy with D2 lymphadenectomy was performed at the age of 51, with no carcinoma found. She had one polyp on colonoscopy. Her father has not been tested yet. The index case's brother does not have the mutation.

Family 5 (Fig. 5)

The index case experienced digestive problems, pain and fatigue at 40. She was diagnosed with massive gastric polyposis of the body and fundus with liver metastasis of gastric adenocarcinoma. Sequencing of the APC gene promoter 1B revealed the mutation c.-191T>C. She died after 7 months of treatment. Her daughter carries the same mutation, the second daughter is not a carrier. The index case's mother is a carrier of the 1B APC gene: c.-191T>C, at the age of 65 she has no symptoms and no polyposis. The mother's brother died at 63 years of age of stomach cancer, he was not tested; his son and daughter do not carry the APC gene mutation. The mother's sister has a mutation of the 1B APC gene: c.-191T>C, she has incipient gastric polyposis at the age of 58, her son and daughter have had gastric

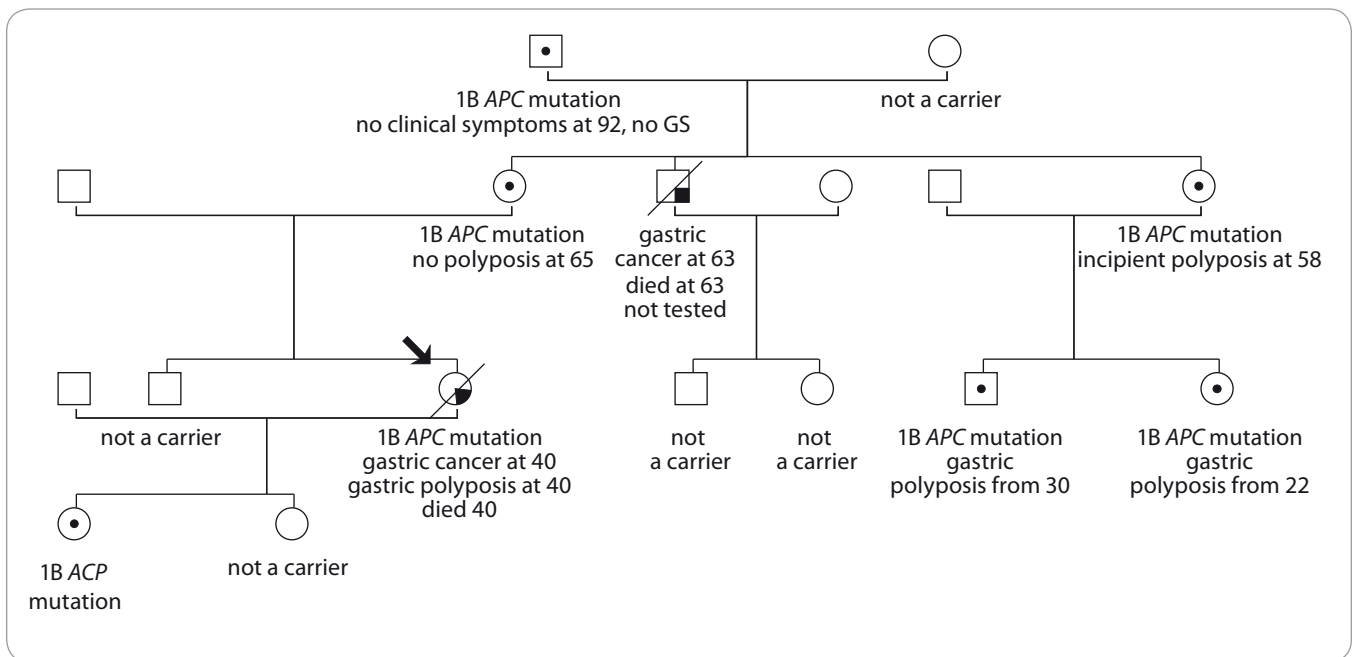


Fig. 5. Pedigree of family no. 5 (Masaryk Memorial Cancer Institute).

polyposis diagnosed at 30 and 22 years of age, respectively, both with a mutation of the 1B APC gene: c.-191T>C. A gastrectomy was recommended but has not yet been performed. The father of the mother’s mother is free of clinical symptoms, he is a carrier of a mutation of the 1B APC gene: c.-191T>C. He did not have an endoscopy because of the age limitation. The index case’s brother has no presence of polyps and does not carry the mutation.

Family 6 (Fig. 6)

The index case had a gastroscopy at 49 years of age for digestive problems, without pathology. At the age of 65, she was found to have massive stomach polyposis, mutation of the 1B APC gene: c.-191T>C was detected. She had a gastrectomy at the age of 65 with no cancer. One polyp was observed in a colonoscopy. Mutation of the 1B APC gene: c.-191T>C was found in her daughter and multiple stomach polyposis was detected. Preventive surgery has not yet been performed. Another daughter does not carry the mutation.

Family 7 (Fig. 7)

The index case had a gastroscopy due to digestive problems at the age of 27. Massive stomach polyposis was de-

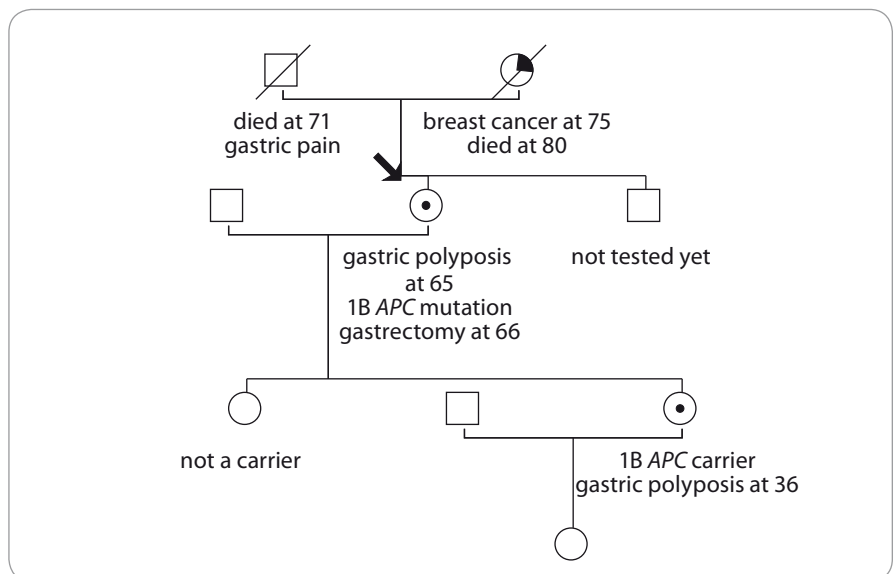


Fig. 6. Pedigree of family no. 6 (Masaryk Memorial Cancer Institute).

tected, two polyps were detected in the rectosigmoideum. A 1B APC gene mutation: c.-191T>C was detected. Now he is post gastrectomy, without cancer. The family history shows no oncological illness. His mother and two sisters do not carry the mutation; his father has not been tested yet.

Family 8 (Fig. 8)

The index case had gastroscopy due to stomach pain at 34 and multiple stom-

ach polyposis was discovered. He was found to be a carrier of the 1B APC gene mutation: c.-191T>C. He has four intestinal polyps. At the age of 44 a gastrectomy was performed with no carcinoma detected. His one brother is also a carrier of the mutation, the endoscopy revealed gastric polyposis, he has no clinical problems. His father had gastric cancer at the age of 56, with no polyposis of the stomach described; he does not carry the mutation. The mother tested positive and

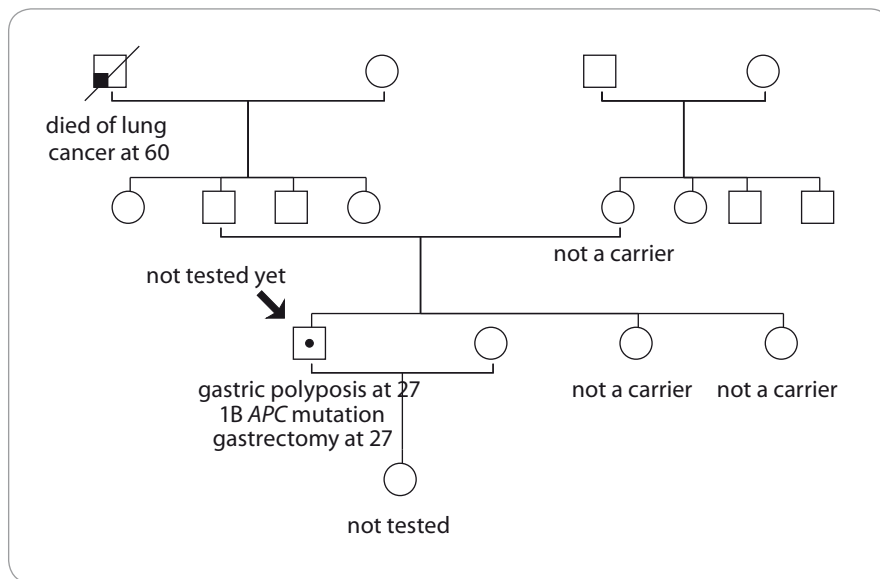


Fig. 7. Pedigree of family no. 7 (Masaryk Memorial Cancer Institute).

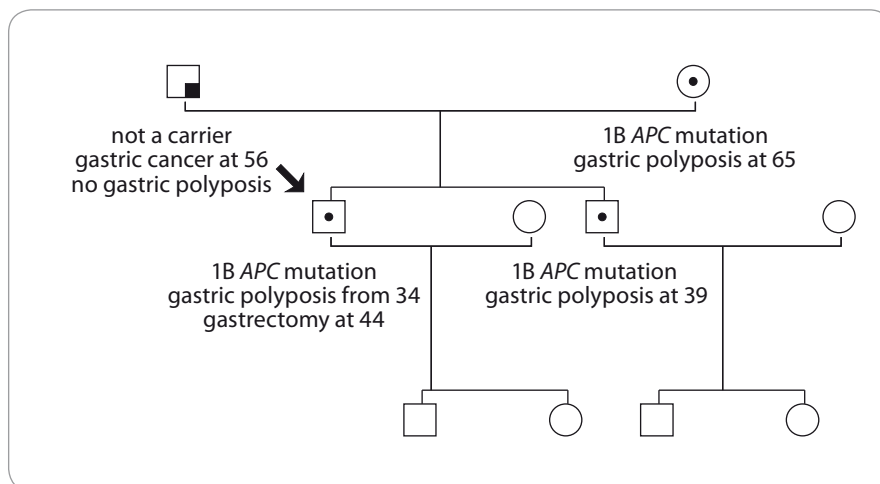


Fig. 8. Pedigree of family no. 8 (Masaryk Memorial Cancer Institute).

was diagnosed with gastric polyposis at the age of 65.

Discussion

GAPPS syndrome is an autosomal dominant inherited disease, a variant of FAP with a high risk of massive polyposis of the stomach, with the presence of mainly glandular polyps in the body and fundus, without the presence of polyps in the antrum and duodenum (Fig. 9). Sometimes, adenomatous and hyperplastic polyps may also be present. The age of occurrence of polyposis is highly individual and depends on various factors, including genetic background, lifestyle and environment. When polyposis

develops, the risk of gastric cancer may be high, up to 12–20% [1,2]. Out of our 24 carriers of the promoter 1B APC gene mutation: c.-191T>C, 6 carriers (25%) were diagnosed with gastric cancer. From the data provided by the families that have been tested so far, it can be seen that the variability of the symptoms of massive polyposis is very high within one family. In Family 5, the earliest polyposis was detected at the age of 22 and gastric cancer at age of 40, but in other carriers of the mutation, polyposis was not developed at the age of 65 or it began to develop at the age of 58; in one carrier (aged 92) there were no clinical problems (no endoscopy was

performed). The prediction of the development of polyposis is therefore problematic, and the prevention of gastric carcinoma by endoscopy in the field of massive polyposis is basically impossible. By discovering the genetic cause of GAPPS syndrome, point mutations in the APC 1B promoter, it is possible to offer genetic testing to patients with stomach polyposis and to their relatives.

Genetic testing of the APC 1B promoter is performed by Sanger sequencing of the entire promoter region. Point changes are confirmed by another method on a newly isolated DNA sample (Fig. 10).

Genetic counselling is important in the process of the genetic testing of polyposis. Based on all gastroenterological, histological and family history data, the geneticist can provide additional molecular genetic examinations to elucidate the cause of polyposis. For cases with no mutation detected in the APC 1B promoter, it is important to indicate further examinations that would allow the diagnosis of rare forms of hereditary tumour syndromes where gastric polyposis may be present. In the case of those who test negative, NGS (new generation sequencing, massive parallel sequencing) is appropriate. At the MMCI, we use a panel of 226 genes that includes an examination of all known genes for polyposis syndromes as well as other hereditary tumour syndromes including other genes involved in the DNA repair process. It is, therefore, possible to diagnose classical FAP, Lynch syndrome, juvenile polyposis, Peutz-Jeghers syndrome, hereditary diffuse gastric cancer, Cowden syndrome, MYH-associated polyposis with a variable risk of stomach tumours, and rare genes where gastric polyposis may also be present.

In addition, the geneticist should recommend predictive family testing for all relatives at potential risk of carrying the same mutation. For GAPPS syndrome, this predictive test is very important because a large proportion of the relatives do not have any clinical problems for a long time, even though massive stomach polyposis may have already developed. Since the transition from dysplasia to gastric cancer in GAPPS can be



Fig. 9. Gastroscopy with massive polyposis of stomach in gastric adenocarcinoma and proximal polyposis of the stomach patient (Masaryk Memorial Cancer Institute).

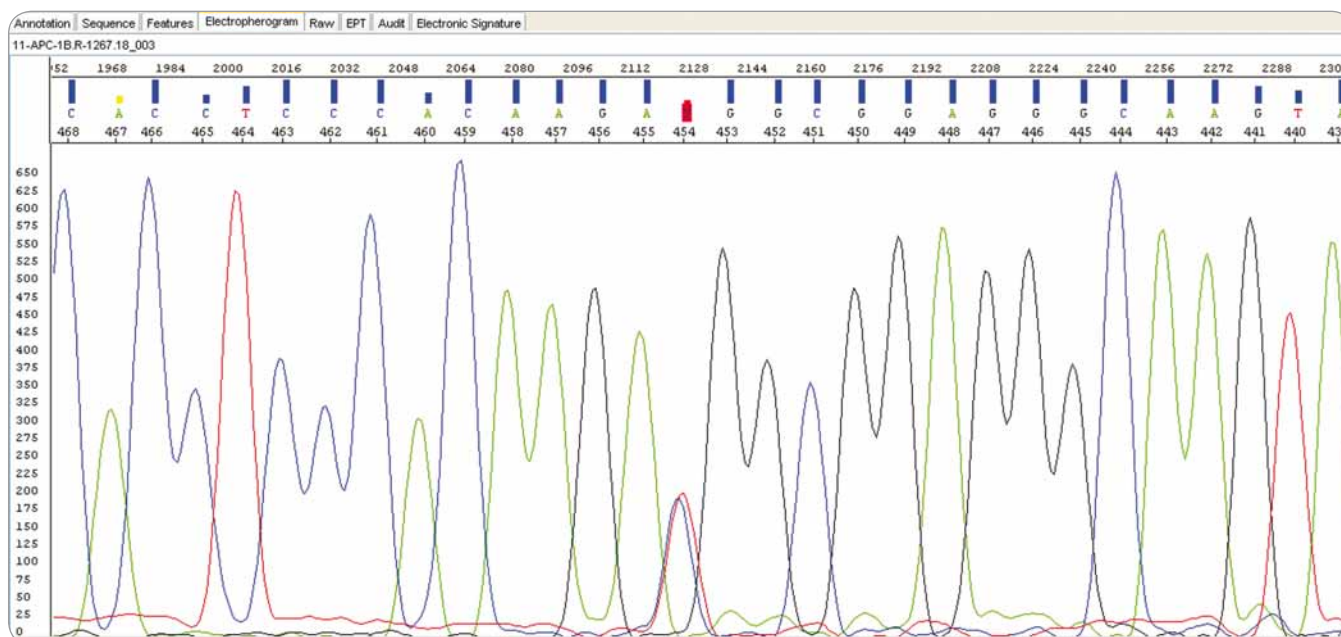


Fig. 10. Sanger sequencing: APC NM_001127511.2: c.-191T>C (Masaryk Memorial Cancer Institute).

very rapid, attempting to prevent stomach cancer in patients with GAPPS is problematic. This fact is also documented by our very first prophylactic gastrectomy with D2 lymphadenectomy performed at GAPPS at MMCI, when a young woman 29 years of age had a G2 well-to-moderately differentiated tubulopapillary adenocarcinoma of the stomach, with positive lymphonodes, clinical stage IB, with invasion into the submucosa and angio-

graphic invasion. The tumour was not detected in the gastroscopy. She underwent systemic treatment. Predictive testing was offered by another genetic clinic to two children, aged 10 and 7, respectively. There are no guidelines about predictive testing in children.

In MMCI, prophylactic total gastrectomy (Fig. 11) with D2 lymphadenectomy is performed in patients with GAPPS and massive polyposis. Lym-

phadenectomy in this range (first and second peri-gastric compartment) is the therapeutic standard in epithelial stomach malignancies and is recommended in GAPPS due to the relatively high risk of preoperatively undiagnosed carcinoma. In workplaces that specialise in stomach operations, D2 lymphadenectomy does not significantly prolong surgical time nor significantly increase postoperative morbidity (Fig. 12).

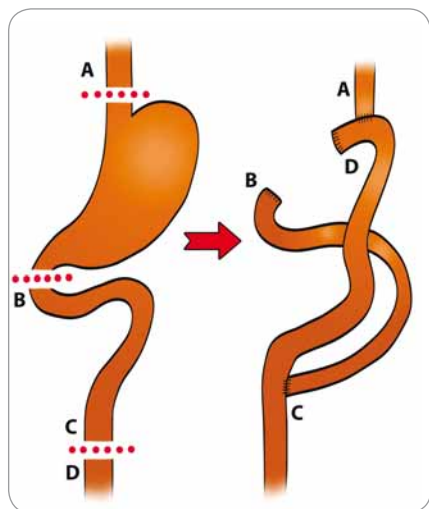


Fig. 11. Gastric adenocarcinoma and proximal polyposis of the stomach – total gastrectomy with subsequent reconstruction of the digestive tract (Masaryk Memorial Cancer Institute).

From current knowledge, it is advisable to provide genetic testing of GAPPS for these clinical findings and family history.

Suggested indications for GAPPS syndrome testing [1,2]

- more than 30 FGP, localisation in the fundus and body, no presence in the antrum or duodenum, with or without dysplasia, the progression of polyposis, autosomal dominant inheritance – stomach polyposis or stomach cancer in family history (in 1st, 2nd or 3rd degree relatives);
- more than 100 FGP in the same location – testing with or without a family history.

If the GAPPS testing is negative, then exclude other possible syndromes with polyposis.

Differential diagnosis:

- sporadic FGP – fewer polyps, mostly without dysplasia, probably without increased tumour risk, often associated with PPI use (slightly reduced on withdrawal);
- FAP, attenuated FAP – colon polyposis, some cases with stomach polyposis, also in the antrum, pylorus and duodenum, low-grade dysplasia, low risk of stomach cancer (about 1%);
- MAP (*MUTYH*) associated polyposis – autosomal recessive;

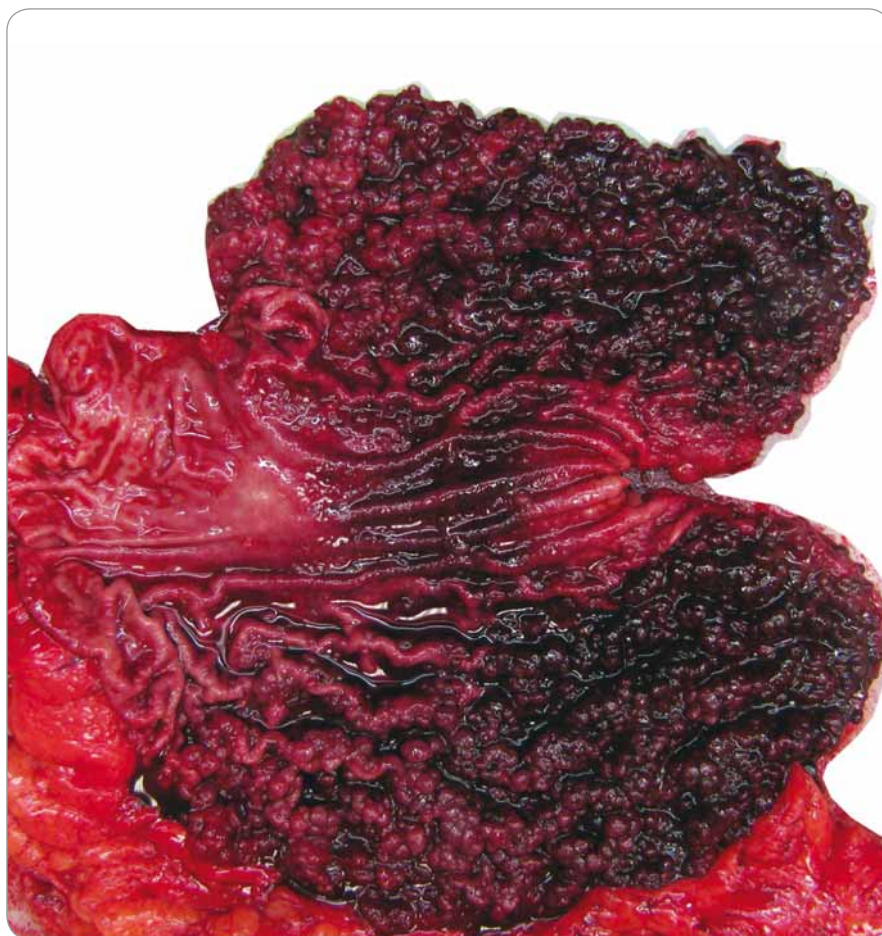


Fig. 12. Gastric adenocarcinoma and proximal polyposis of the stomach – stomach resection along with omentum (Masaryk Memorial Cancer Institute).

- juvenile polyposis – *SMAD4*, *BMPR1A*;
- Peutz-Jeghers syndrome – *STK11*;
- Cowden's syndrome – *PTEN*;
- hereditary diffuse gastric cancer – *CDH1*;
- Ménétrier's disease – acquired, premalignant, massive mucosal scarring, excessive mucus production, protein loss, weak acid production.

Proposed scheme of preventive care for people with GAPPS syndrome

In GAPPS with massive polyposis:

- gastroscopy every year (even in the case of undeveloped polyposis), comprehensive monitoring in the risk oncology clinic;
- colonoscopy every 3 years, if polyps, more frequently;
- ultrasound of abdominal organs every year;
- when progressive massive stomach polyposis (even without polyps' dysplasia, regardless of family his-

tory) offer prophylactic gastrectomy that can prevent death from gastric cancer;

- as a resection, we recommend total gastrectomy with D2 lymphadenectomy;
- if the prophylactic gastrectomy is refused, then a gastroscopy every 6 months, including endoscopic removal of larger polyps for biopsy specimen, endosonography, but the risk of gastric cancer cannot be reduced, reassessment of gastrectomy in case of dysplasia;
- further monitoring at a risk oncology clinic as with other inherited tumour syndromes.

Conclusion

GAPPS, gastric adenocarcinoma and multiple proximal polyposis of the stomach syndrome, although it is referred to as a very rare variant of FAP, was found within 1 year in eight families

with genetically confirmed GAPPS syndrome with mutation in the APC gene promoter 1B: c.-191T> C in 24 positive mutation carriers. The development of massive polyposis with fundic glandular polyps was variable, with the earliest finding at the age of 22, with a negative finding in a woman aged 65 and no clinical symptoms in a man 92 years old. In massive polyposis, a prophylactic total gastrectomy has always been proposed. Out of a total of eight performed operations, in one case, gastric adenocarcinoma was present in a 29-year-old woman in a histological specimen. For positive carriers of promoter 1B mutation with massive polyposis, a decision on a preventive gastrectomy is also influenced by the family history and previous death in the family to stomach cancer. However, some patients based their decision solely on the basis of our information concerning cancer risk and ineffective prevention by endoscopic methods. After surgery, they are all supervised by surgeons, nutrition specialists, oncologists and gastroenterologists. In all cases, surgery was suc-

cessful without serious postoperative complications.

Genetic testing for GAPPS syndrome is based on sequencing of promoter 1B of the APC gene using the Sanger sequencing method, because this region is mostly not included in the NGS panel. In massive polyposis and a negative testing result, differential diagnosis of other possible genetic causes of stomach polyposis using the NGS panel is appropriate.

Preventive measures for GAPPS are individual, based on clinical symptoms; they include a gastroscopy every 6–12 months, biopsy of polyps and, above all, the suggestion of a prophylactic resection of the stomach. The risk of stomach cancer in GAPPS is many times higher than that of classic FAP with FGP (< 1% and 12–20%, respectively; 25% in our carriers). Due to the possibility of saving the lives of patients with GAPPS, we recommend genetic testing for multiple stomach FGP. Most of the patients' relatives who tested positive had already had massive stomach polyposis and did not know it.

Literature

1. Worthley DL, Phillips KD, Wayte N et al. Gastric adenocarcinoma and proximal polyposis of the stomach (GAPPS): a new autosomal dominant syndrome. *Gut* 2012; 61(5): 774–779. doi: 10.1136/gutjnl-2011-300348.
2. Setia N, Clark JW, Duda DG et al. Familial gastric cancer. *Oncologist* 2015; 20(12): 1365–1377. doi: 10.1634/theoncologist.2015-0205.
3. Boland CR, Yurgelun MB. Historical perspective on familial gastric cancer. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2017; 3(2): 192–200. doi: 10.1016/j.jcmgh.2016.12.003.
4. Li J, Woods SL, Healey S et al. Point mutations in exon 1B of APC reveal gastric adenocarcinoma and proximal polyposis of the stomach as a familial adenomatous polyposis variant. *Am J Hum Genet* 2016; 98(5): 830–842. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.03.001.
5. Repak R, Kohoutova D, Podhola M et al. The first European family with gastric adenocarcinoma and proximal polyposis of the stomach: case report and review of the literature. *Gastrointest Endosc* 2016; 84(4): 718–725. doi: 10.1016/j.gie.2016.06.023.
6. Beer A, Streubel B, Asari R et al. Gastric adenocarcinoma and proximal polyposis of the stomach (GAPPS) – a rare recently described gastric polyposis syndrome – report case. *Z Gastroenterol* 2017; 55(11): 1131–1134. doi: 10.1055/s-0043-117182.
7. Mitsui Y, Yokoyama R, Fujimoto S et al. First report of an Asian family with gastric adenocarcinoma and proximal polyposis of stomach (GAPPS) revealed with the germline mutation of the APC exon 1B promoter region. *Gastric Cancer* 2018; 21(6): 1058–1063. doi: 10.1007/s10120-018-0855-5.
8. Hosoya K, Yamashita S, Ando T et al. Adenomatous polyposis coli 1A is likely to be methylated as a passenger in human gastric carcinogenesis. *Cancer Lett* 2009; 285(2): 182–189. doi: 10.1016/j.canlet.2009.05.016.

Syndrom BAP1 – predispozice k malignímu mezoteliomu, kožnímu a uveálnímu melanomu, renálnímu karcinomu a dalším nádorům

BAP1 Syndrome – Predisposition to Malignant Mesothelioma, Skin and Uveal Melanoma, Renal and Other Cancers

Foretová L.¹, Navrátilová M.¹, Svoboda M.^{1,2}, Házová J.¹, Vašíčková P.¹, Šťahlavá Hrabincová E.¹, Fabian P.³, Schneiderová M.⁴, Macháčková E.¹

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

²Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

³Oddělení onkologické patologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

⁴Oddělení radiologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn

Východiska: Syndrom BAP1 je autozomálně dominantně dědičný nádorový syndrom asociovaný se zvýšeným rizikem vzniku maligního mezoteliomu, uveálního a kožního melanomu, karcinomu ledviny a s výskytem dalších nádorových onemocnění vč. adenokarcinomu plic, meningeomu, bazaliomu, nádorů prsu, ovarií a prostaty. Gen *BAP1* (BRCA1-associated protein 1) je tumor-supresorový gen, který se účastní DNA reparace cestou homologní rekombinace. Protein BAP1 reguluje pomocí deubikvitinace buněčný cyklus, diferenciaci, reakci na poškození DNA a buněčnou proliferaci. Somatické mutace v genu *BAP1* jsou časté v mnoha typech nádorů. **Případ:** V Masarykově onkologickém ústavu (MOÚ) byly diagnostikovány dvě rodiny se zárodečnou mutací v genu *BAP1*. V první rodině byla 27letá probandka sledována pro mnohočetné névy. U matky a jejího bratra se vyskytl maligní mezoteliom, u matčiny matky uveální melanom. Byla u ní zjištěna frameshift mutace *BAP1* (NM_004656.2):c.217delG/p.Asp73Metfs*5. U probandky byl v procesu sledování dvakrát odstraněn časný melanom, a to v 28 a 31 letech. Ve druhé rodině se jednalo o 11letou probandku, již byly odstraněny névy na hlavě a na krku byla diagnostikována kožní léze spitzoidního typu v 11 letech. Její 34letá matka měla mnohočetné névy, spitzoidní typ znaménka na břiše. Obě pacientky byly nosičkami mutace *BAP1* (NM_004656.2):c.123-1G>T v akceptorovém místě sestřihu (IARC (Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny) class 4 – pravděpodobně patogenní). Preventivní opatření u syndromu BAP1 by měla zahrnovat známá rizika nádorových onemocnění. Nádorová onemocnění se vyskytují časně a opakovaně. Na MOÚ jsou doporučovány kontroly onkologem, oční a kožní kontroly po půl roce, celotělová magnetická rezonance vč. centrální nervové soustavy ročně nebo low-dose počítačová tomografie / magnetická rezonance hrudníku a břicha po roce, ultrazvukové vyšetření břišních orgánů, ultrazvuk prsou nebo mamografie ročně, gynekologický ultrazvuk po půl roce, kolonoskopie od 45 let, další vhodné sledování dle rodinné anamnézy. **Závěr:** Syndrom BAP1 je komplexní nádorový syndrom spojený s vysokým rizikem vzniku vzácného maligního mezoteliomu, kožního i uveálního maligního melanomu, nádorů spitzoidního typu a dalšími nádory. Zjištění syndromu může být zásadní pro ovlivnění přežití rizikových osob.

Klíčová slova

geny – melanom – mezoteliom – nádory ledvin – genetické testování

Podpořeno z grantového projektu MZ ČR – RVO (MOÚ, 00209805).

Supported by the grant project MH CZ – RVO (MMCI, 00209805).

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 zaslané 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: 21. 5. 2019

Přijato/Accepted: 6. 6. 2019

doi: 10.14735/amko2019S118

Summary

Background: BAP1 syndrome is an autosomal dominant hereditary cancer syndrome associated with increased risk of malignant mesothelioma; uveal and cutaneous melanoma; kidney cancer; lung adenocarcinoma; meningioma; basaliomas; and breast, ovarian, and prostate tumors. The *BAP1* gene (BRCA1-associated protein 1) is a tumor suppressor gene involved in DNA repair via homologous recombination. BAP1 regulates the cell cycle, differentiation, DNA damage responses, and cell proliferation through deubiquitination. Somatic mutations in the *BAP1* gene are common in many types of tumors. **Observation:** Two families harboring a germline mutation in the *BAP1* gene were diagnosed at Masaryk Memorial Cancer Institute (MMCI). A 27-year-old index female from one family was followed-up for multiple nevi. Her mother and uncle had malignant mesothelioma, and her maternal grandmother had uveal melanoma. The index case tested positive for a *BAP1* (NM_004656.2):c.217delG/p.Asp73Metfs*5 frame-shift mutation. The melanoma was removed at the age of 28 and 31. In the second family, an 11-year-old index female had two nevi removed from her head, and a spitzoid-type skin lesion was diagnosed at the age of 11. Her 34-year-old mother had multiple nevi, and a skin lesion of spitzoid-type was removed from the abdomen. Both patients harbored a *BAP1* (NM_004656.2):c.123-1G>T acceptor splice site mutation (IARC [International Agency for Research on Cancer] class 4 [probably pathogenic]). Preventive measures for BAP1 syndrome should include known risks for cancer. Tumors occur early and repeatedly. At the MMCI, we recommend physical examination by an oncologist, eyes and skin examination, every 6 months; whole-body magnetic resonance imaging, including the central nervous system, every year (or low-dose computed tomography/chest and abdomen magnetic resonance imaging); annual abdominal ultrasound, breast ultrasound, or mammography; a gynecological ultrasound examination every 6 months; colonoscopy starting at the age of 45; and other suitable surveillances based on family history. **Conclusion:** BAP1 syndrome is a complex cancer syndrome with a high risk of rare malignant mesothelioma, malignant skin and uveal melanoma, spitzoid-type skin lesions, and other tumors. Detection of this syndrome is essential for the survival of high-risk individuals.

Key words

genes – melanoma – mesothelioma – kidney neoplasms – genetic testing

Úvod

Nádorový predispoziční syndrom BAP1 je autozomálně dominantně dědičný nádorový syndrom s predispozicí k vzácným nádorům. V rizikových rodinách se vyskytují opakovaně maligní mezoteliomy, agresivní tumory, které se v populaci vztahují k opakované expozici azbestu a jemu příbuzným karcinogenním látkám. Syndrom BAP1 je spojený i s vysokou frekvencí maligních kožních i uveálních melanomů, s výskytem vzácných atypických (spitzoidních) kožních tumorů (AST), s rizikem nádorů ledvin, meningeomů, nádorů plic, bazaliomů a jiných nádorů vč. nádorů prsu, ovarií a prostaty [1–11]. První údaje o proteinu BAP1 jako vazebném partneru BRCA1 byly publikovány v roce 1998 [12]. Protein BAP1 se vyskytuje v jádře i v cytoplazmě. Gen *BAP1* (BRCA1-associated protein 1) je tumor-supresorový gen lokalizovaný na chromozomu 3 (3p21.31-p21.2), který se v jádře účastní reparační DNA cestou homologní rekombinace, reguluje buněčný cyklus, diferenciaci, reakci na poškození DNA a buněčnou proliferaci. Protein BAP1 je ubikvitin C-terminální hydroláza (UCH), která společně s dalšími proteiny zajišťuje v cytoplazmě ochranu polyubikvitinových substrátů před degradací v proteozomech. Deubikvitináza BAP1 stabilizuje kanál, který umožňuje kalciovým ion-

tům opustit endoplazmatické retikulum a dosáhnout mitochondrií, kde kalcium reguluje aerobní respiraci a programovanou buněčnou smrt, apoptózu. Tento enzym se váže na BRCA1 ring-finger doménu a funguje jako nádorový supresor. Somatické mutace v genu *BAP1* jsou časté v mnoha typech nádorů. Somatické buňky nosičů zárodečné mutace genu *BAP1* mají sníženou hladinu proteinu BAP1 na 50 %, sníženou schopnost reparační DNA homologní rekombinací a sníženou schopnost apoptózy po expozici karcinogenům [5]. Karcinogeny různého typu mohou u syndromu BAP1 vyvolat nádorová onemocnění v mladém věku i opakovaně. Ultrafialové záření je vysoce rizikové pro vznik kožního maligního melanomu. Již v dětském věku se může objevovat zvláštní forma névu, který je nazýván névus Spitzov. Jeho vzhled je polokulovitý, hladký a palpačně tuhý, s rychlým růstem. Může se jednat o benigní, přechodnou, ale i maligní formu [13]. Tyto léze mohou být deficitní na expresi proteinu BAP1 při imunohistochemickém vyšetření a mohou být označovány za BAP1 deficitní spitzoidní melanocytické tumory. Na rozdíl od spitzoidních névů mají většinou přítomnou mutaci *BRAF* V600E a jsou označovány jako BAPomy, melanocytomy nebo MBAIT (melanocytické BAP1-mutované atypické intrader-

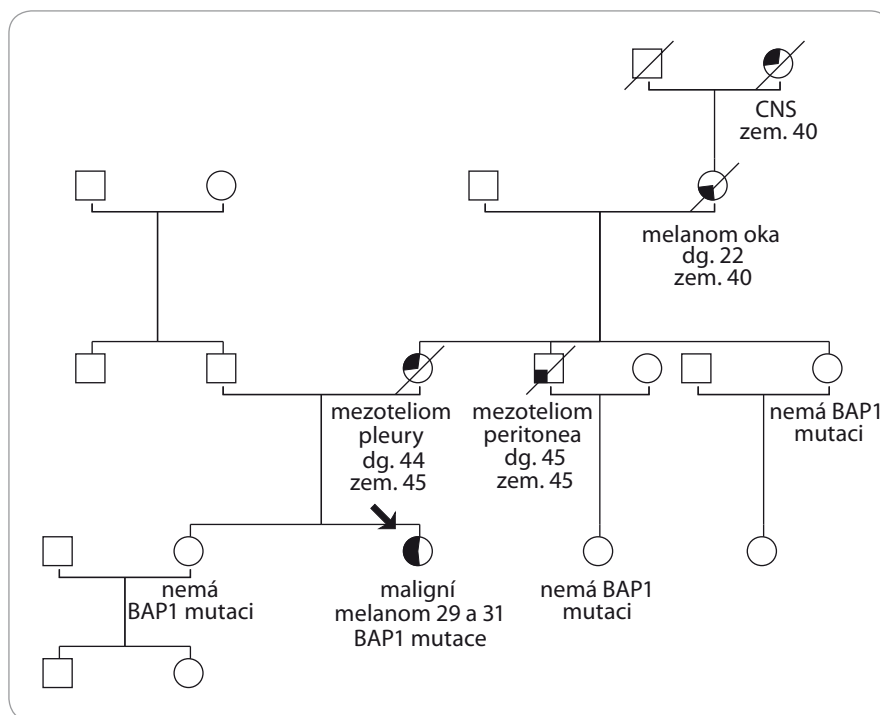
mální tumory) [14,15]. Diferenciálně diagnosticky může být příčinou dědičné dispozice k malignímu melanomu zárodečná mutace v genech *CDKN2A*, *CDK4*, *BRCA2*, *TP53*, v genech pro Lynchův syndrom aj. Hodnocení rodinné anamnézy a současný výskyt uvedených vzácných nádorů by měl vést k úvaze o přítomnosti tohoto vzácného syndromu BAP1.

Kazuistiky dvou rodin v Masarykově onkologickém ústavu (MOÚ)

Rodina č. 1. (obr. 1). Probandka byla sledována s vícečetnými znaménky. Ve věku 27 let měla odstraněno více než 16 névů, histologicky bez malignity. V rodinné anamnéze uváděla časný úmrtí matky ve 45 letech, dle zjištěné dokumentace se jednalo o maligní mezoteliom pleury diagnostikovaný ve 44 letech. Matka nebyla kuřák a nebyla v kontaktu s azbestem. Bratr matky, kuřák, zemřel ve 45 letech. Dle dokumentace okresní nemocnice byl příčinou jeho úmrtí anaplastický epiteloidní mezoteliom peritonea s rhabdoidní komponentou, diagnostikovaný ve 45 letech. Matka matky měla diagnostikovaný melanoblastom oka ve 22 letech, zemřela ve 40 letech, její matka se léčila ve 40 letech pro nádor mozku. V roce 2014 byla probandka testována pomocí sekvenování nové generace (next generation sequencing –

NGS) – TruSight Cancer panel (Illumina). Byla zjištěna zárodečná mutace v genu *BAP1* (NM_004656.2):c.217delG/ p.Asp-73Metfs*5, která způsobí posun čtecího rámce a předčasné zastavení translace. Probandka byla konzultována vzhledem k možným rizikům vzniku nádorů u syndromu BAP1 a je dispenzarizována v rizikové onkologické ambulanci MOÚ. U probandky byl v procesu sledování 2krát odstraněn časný melanom v 28 a 31 letech. Podstupuje pravidelně i celotělovou magnetickou rezonanci (magnetic resonance imaging – MRI). Její z onkologického hlediska zdravá sestra, sestra matky a dcera strýce nejsou nosičkami stejné mutace v genu *BAP1*.

Rodina č. 2. (obr. 2). Probandka byla ve věku 11 let odeslána na genetickou konzultaci plastickým chirurgem vzhledem k opakovanému nálezu spitzoidního névu, 2×krát na hlavě, na krku a na zádech. Patologem bylo vysloveno podezření na hereditární syndrom BAP1. Testováním v MOÚ pomocí NGS a panelu CZEANCA (Nimble-Gen SeqCap EZ Choise Cancer Panel) byla zjištěna zárodečná mutace v genu *BAP1* (NM_004656.2):c.123-1G>T, dosud nepopsaná sestřihová mutace (IARC (Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny) class 4 – pravděpodobně patogenní). Tato mutace s vysokou pravděpodobností způsobuje „zrušení“ akceptorového místa sestřihu, kryptické místo sestřihu v okolí nebylo popsáno, nejpravděpodobnějším důsledkem je „exon skipping“ c.(123_255del). Dále byly zjištěny missense varianty s nejasným klinickým významem v genech *ATM* a *BARD1*. V rodinné anamnéze měl otec probandky Grawitzův tumor ledviny v 38 letech, otcova sestra se léčila v 52 letech s karcinomem ovaria a v 57 letech s nádorem oka, pravděpodobně melanomem. Matka měla ve věku 34 let opakovaně nodózní pigmentové névy, v podbřišku byl označen jako spitzoidní névus, imunohistochemicky byl prokázán deficit exprese BAP1. Matka je také nosičkou mutace v genu *BAP1*. Otec probandky byl testován pomocí NGS panelu (TruSight Cancer panel, Illumina), nebyla zjištěna žádná závažná patogenní mutace. Bratr probandky není nosičem *BAP1* mutace. Probandka je sledo-



Obr. 1. Rodokmen rodiny č. 1.

CNS – centrální nervová soustava, zem. – zemřel ve věku, dg. – diagnostikován ve věku

vána v rizikové onkologické ambulanci Dětské nemocnice, Fakultní nemocnice Brno, její matka v rizikové onkologické ambulanci MOÚ.

Genetické poradenství a prevence

Genetické poradenství je při podezření na syndrom BAP1 nutné. Genetik může podrobně zhodnotit osobní a rodinnou anamnézu, může si vyžádat dokumentaci příbuzných k potvrzení nebo upřesnění diagnózy u příbuzných. V MOÚ je gen *BAP1* hodnocen molekulárním genetikem u všech pacientů s podezřením na syndrom BAP1, u všech pacientů s maligním melanomem kožním nebo uveálním, ale i u všech ostatních pacientů testovaných pro možnost jakéhokoliv dědičného nádorového syndromu. Pomocí variability v počtu kopií (copy number variation – CNV) analýzy může být odhalena i velká přestavba v genu. Genetická heterogenita příznaků u zárodečné mutace v *BAP1* genu může být velká – kromě melanomů kůže (melanocytické *BAP1*-mutované atypické intradermální tumory – MBAIT) a uveálních melanomů, tj. melanomů duhovky, ciliárního tělesa, cévnatky, se mohou vy-

skytnout mezoteliomy pleury, pobřížnice, osrdečníku, tunica vaginalis testes a jiných oblastí. Mohou se objevit i karcinomy ledviny (Grawitzův tumor), meningeomy, adenokarcinomy plic, cholangiokarcinomy, neuroendokrinní nádory, nádory štítnice, ovaria, prsu aj. [16].

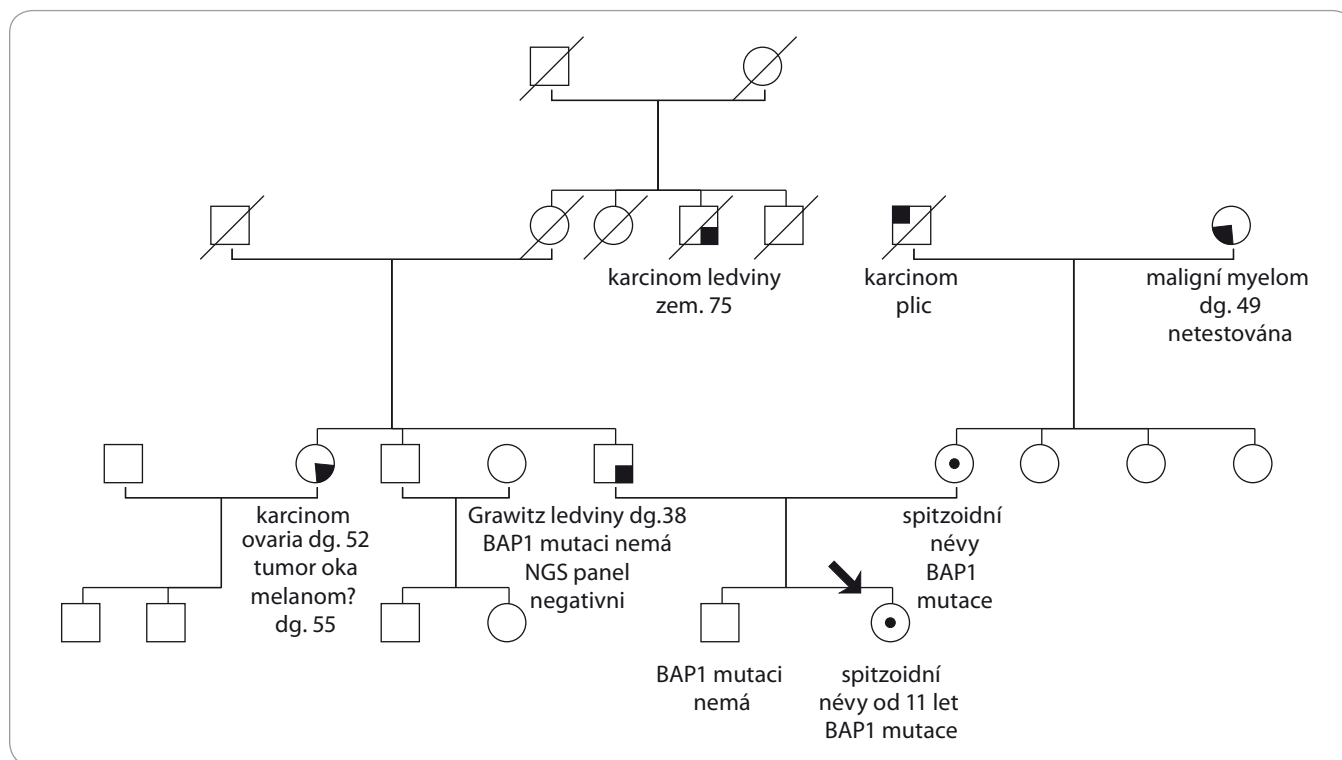
Nádory se u nosičů mutací v *BAP1* genu vyskytují v průměru o 10 let dříve než v běžné populaci, nejčasnější výskyt uveálního melanomu byl popsán v 16 letech, maligního mezoteliomu ve 34 letech, kožního melanomu v 25 letech a karcinomu ledviny ve 36 letech [17].

Nedávno byl publikován návrh na možnou preventivní péči u přenašečů zárodečné mutace *BAP1*. Na základě konsenzu odborníků bylo navrženo níže uvedené preventivní schéma [16].

Doporučená preventivní opatření

Primární prevence: doporučení striktně nekouřit, chránit se před expozicí azbestu a ultrafialovému záření.

Informovat o symptomech hlavních nádorových rizik: nové změny na kůži, potíže s dýcháním, kašel, noční pocení, ztráta chuti k jídlu, bolest břicha a nadýmání, změny vidění, pigmentové změny na oku.



Obr. 2. Rodokmen rodiny č. 2.

zem. – zemřel ve věku, dg. – diagnostikován ve věku, NGS – sekvenování nové generace

Sekundární prevence: kolektivní péče odborníků – genetik, onkolog, radio-diagnostik, plicní specialista, nefrolog, dermatolog, oftalmolog.

Návrh specializovaných pravidelných kontrol

- sledování onkologem/dětským onkologem v preventivní ambulanci 1krát ročně;
- oftalmologické kontroly od 16 let po roce (nebo 10 let před nejčasnějším výskytem uveálního melanomu v rodině), od 30 let po půl roce, vč. přímé a nepřímé oftalmoskopie, fotografie fundu a ultrazvukového vyšetření oka;
- dermatologické kontroly specialistou po půl roce, vyšetření celé pokožky od 18 let věku (nebo dříve při pozitivních rizikových nálezích a výskytu melanomu v rodině), sekvenční digitální dermatoskopický monitoring, excize každého rizikového névu;
- roční vyšetření břicha a plicní fyzikální vyšetření s pátráním po břišní mase, ascitu, pleurálním výpotku;
- od 30 let ročně ultrazvukové vyšetření, MRI břicha, ultrazvukové vyšet-

ření k vyloučení plicního výpotku, MRI hrudníku, zvážit celotělovou MRI. Dle názoru radiodiagnostiků MOÚ se může mezoteliom pleury v začátku projevit jen jako jemné, neurčité zesílení (několik mm) nástěnné nebo mediastinální pleury. Existuje obava, že celotělová MRI toto nebude schopna zachytit, mimo jiné i kvůli artefaktům z rozhraní plicní tkáně a hrudní stěny. Počítačová tomografie by mohla být citlivější, a to i v low-dose formě a nativně, bez aplikace kontrastní látky. Finální rozhodnutí o použitých preventivních metodách je v rukou odborníků, s ohledem na možnou zvýšenou radiační citlivost hereditárních nádorových syndromů a nutnost častých vyšetření;

- pokud je podezřelý nález, doporučení vyšetření specialistou – plicní, nefrolog;
- u žen 1–2krát ročně gynekologické kontroly vč. transvaginálního ultrazvuku, roční kontroly prsou vč. ultrazvuku, od 45 let střídavě s mamografií;
- prediktivní testování příbuzných by mělo být nabídnuto již v dětském věku.

Závěr

Gen *BAP1* je důležitým nádorovým supresorovým genem, jehož heterozygotní zárodečná mutace může predisponovat k různým typům nádorových onemocnění. Testování genu *BAP1* by mělo být zařazeno do NGS panelů určených k testování dědičných nádorových syndromů. Pomocí NGS panelu je možné odhalit patogenní a pravděpodobně patogenní varianty *BAP1* i v případech rodin, kde je osobní a rodinná anamnéza málo typická pro daný syndrom. U naší rodiny č. 2 se sice od časného věku objevují atypické MIBAIT névy, ale další typická onkologická onemocnění se v rodině pozitivně testované matky dosud neobjevila. Při histologickém vyšetření névů je imunohistochemické vyšetření exprese proteinu *BAP1* možným screeningovým vyšetřením, které může upozornit lékaře na nádorový syndrom.

Genetické poradenství s podrobnou osobní a rodinnou anamnézou, s ověřením lékařských zpráv, může odhalit typická onemocnění pro daný syndrom. Mnohdy je diagnóza mezoteliomu skrytá pod údajem karcinomu plic nebo

nádoru v břišní dutině, tak jako tomu bylo na začátku vyšetření rodiny č. 1. Histologické zprávy z vyšetření kožního melanomu mohou přispět k úvaze o syndromu BAP1.

Syndrom BAP1 je vzácný autozomálně dominantní hereditární nádorový syndrom s výskytem uveálního a kožního melanomu, MBAIT kožních lézí, maligních mezoteliomů, karcinomu ledvin a dalších nádorů. Prevalence mutací v populaci není známa, nádorová onemocnění se objevují o 10 i více let dříve, než je průměr v běžné populaci. V hodnocení kohorty 76 nosičů mutací *BAP1* se alespoň jedno nádorové onemocnění objevilo u 70 % nosičů a všichni nosiči bez onkologického onemocnění byli mladší 55 let [15]. Prognóza přežití a doba do vzniku metastáz je u nosičů mutací *BAP1* s kožním, uveálním melanomem nebo karcinomem ledviny horší ve srovnání s pacienty bez zárodečné mutace [6,17], naopak pacienti s mezoteliomem a mutací mají přežití lepší [6,18]. K včasnému odhalení syndromu BAP1 přispívá imunohistochemické vyšetření melanomů na deficit exprese proteinu BAP1 a NGS sekvenování s panely obsahujícími i gen *BAP1*. Dosud bylo zjištěno přes 140 různých variant v genu *BAP1* [19]. Závažnost nádorového rizika a široké spektrum nádorových onemocnění jsou problematické pro efektivní preventivní program. Uve-

dený návrh preventivních opatření by měl být vodítkem pro specialisty, kteří provádějí dispenzarizaci těchto rizikových osob v dětském věku i v dospělosti. Jako u ostatních vysoce rizikových syndromů doporučujeme preventivní sledování v rámci klinických onkologických center a jejich preventivních rizikových ambulancí v součinnosti s ostatními specialisty.

Literatura

1. Testa JR, Cheung M, Pei J et al. BAP1 mutations predispose to malignant mesothelioma. *Nat Genet* 2011; 43(10): 1022–1025. doi: 10.1038/ng.912.
2. 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.
3. Harbour JW, Onken MD, Roberson ED et al. Frequent mutation of BAP1 in metastasizing uveal melanomas. *Science* 2010; 330(6009): 1410–1413. doi: 10.1126/science.1194472.
4. Masoomian B, Shields JA, Shields CL. Overview of BAP1 cancer predisposition syndrome and the relationship to uveal melanoma. *J Curr Ophthalmol* 2018; 30(2): 102–109. doi: 10.1016/j.joco.2018.02.005.
5. Kittaneh M, Berkelhammer CH. Detecting germline BAP1 mutations in patients with peritoneal mesothelioma: benefit to patient and family members. *J Transl Med* 2018; 16(1): 194–201. doi: 10.1186/s12967-018-1559-7.
6. Abdel-Rahman MH, Pilarski R, Cebulla CM et al. Germline BAP1 mutation predisposes to uveal melanoma, lung adenocarcinoma, meningioma, and other cancers. *J Med Genet* 2011; 48(12): 856–859. doi: 10.1136/jmedgenet-2011-100156.
7. Ghosh K, Modi B, James WD et al. BAP1: case report and insight into a novel tumor suppressor. *BMC Dermatol* 2017; 17(1): 13–16. doi: 10.1186/s12895-017-0065-6.
8. Pilarski R, Cebulla CM, Massengill JB et al. Expanding the clinical phenotype of hereditary BAP1 cancer predisposition syndrome, reporting three new cases. *Genes Chromosomes Cancer* 2014; 53(2): 177–182. doi: 10.1002/gcc.22129.
9. Lin M, Zhang L, Hildebrandt MA, Huang M et al. Common, germline genetic variations in the novel tumor suppressor BAP1 and risk of developing different types of cancer. *Oncotarget* 2017; 8(43): 74936–74946. doi: 10.18632/oncotarget.20465.
10. Popova T, Hebert L, Jacquemin V et al. Germline BAP1 mutations predispose to renal cell carcinomas. *Am J Hum Genet* 2013; 92(6): 974–980. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.04.012.
11. Ohar JA, Cheung M, Talarchek J et al. Germline BAP1 mutational landscape of asbestos-exposed malignant mesothelioma patients with family history of cancer. *Cancer Res* 2016; 76(2): 206–215. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-0295.
12. Jensen DE, Proctor M, Marquis ST et al. BAP1: a novel ubiquitin hydrolase which binds to the BRCA1 RING finger and enhances BRCA1-mediated cell growth suppression. *Oncogene* 1998; 16(9): 1097–1112.
13. Bajčiová V. Maligní melanom u dětí a adolescentů. *Onkologie* 2013; 7(2): 69–73.
14. Carbone M, Ferris LK, Baumann F et al. BAP1 cancer syndrome: malignant mesothelioma, uveal and cutaneous melanoma, and MBAITs. *J Transl Med* 2012; 10: 179–186. doi: 10.1186/1479-5876-10-179.
15. Carbone M, Yang H, Pass HI et al. BAP1 and cancer. *Nat Rev Cancer* 2013; 13(3): 153–159. doi: 10.1038/nrc3459.
16. Star P, Goodwin A, Kapoor R et al. Germline BAP1-positive patients: the dilemmas of cancer surveillance and a proposed interdisciplinary consensus monitoring strategy. *Eur J Cancer* 2018; 92: 48–53. doi: 10.1016/j.ejca.2017.12.022.
17. Rai K, Pilarski R, Cebulla CM et al. Comprehensive review of BAP1 tumor predisposition syndrome with report of two new cases. *Clin Genet* 2016; 89(3): 285–294. doi: 10.1111/cge.12630.
18. Carbone M, Kanodia S, Chao A et al. Consensus report of the 2015 Weinman International Conference on mesothelioma. *J Thorac Oncol* 2016; 11(8): 1246–1262. doi: 10.1016/j.jtho.2016.04.028.
19. Walpole S, Pritchard AL, Cebulla CM et al. Comprehensive study of the clinical phenotype of germline BAP1 variant-carrying families worldwide. *J Natl Cancer Inst* 2018; 110(2): 1328–1341. doi: 10.1093/jnci/djy171.

Syndrom DICER1

DICER1 Syndrome

Hořinová V.^{1,2}, Drábová K.^{3,4}, Nosková H.⁵, Bajčiová V.⁴, Šoukalová J.³, Černá L.⁶, Hůrková V.⁷, Slabý O.⁸, Štěrba J.⁴

¹ Ambulance lékařské genetiky, Nemocnice Jihlava

² Reprofit, Brno

³ Oddělení lékařské genetiky, FN Brno

⁴ Klinika dětské onkologie, FN Brno

⁵ CEITEC – Středoevropský technologický institut, Masarykova univerzita a FN Brno

⁶ Gennet, Praha

⁷ PREDIKO, Zlín

⁸ Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn

Syndrom DICER1 je familiární nádorový a dysplastický syndrom způsobený mutacemi v genu *DICER1*, který se nachází na 14. chromozomu v oblasti q32.13. Součástí syndromu je nejčastěji pleuropulmonální blastom (PPB), multinodulární struma, nádory ze Sertoliho buněk a další nádory. PPB je vzácný nádor, jehož základy většinou začínají ve fetálním období při vývoji plic. Příznaky se objevují v prvních 5 letech života, nejčastěji do 2 let. Diagnóza PPB by vždy měla vést k vyloučení syndromu DICER1. Asi u 35 % rodin, v nichž má dítě projevy PPB, se vyskytují další malignity, které se jinak objevují vzácně. Jedná se o cystický nefrom, nádory ze Sertoliho buněk, nodulární dysplazie štítné žlázy, medulloepitheliom duhovky, embryonální rhabdomyosarkom botryoidního typu, chondromezenchymální hamartom nosní sliznice, pituitární blastom a pineoblastom. Rozsáhlé studie ukázaly velkou variabilitu nádorů. Syndrom DICER1 je řazen k nádorovým predispozičním syndromům. Dědí se autozomálně dominantně, časté jsou nové mutace, tzv. mutace *de novo*. Příznaky u postižených jsou různé i v rámci rodiny. Preventivní sledování nositelů mutace v genu *DICER1* je obtížné. Doporučení ke sledování jsou podle Mezinárodního registru PPB z roku 2016.

Klíčová slova

genetické testování – dědičné nádorové syndromy – DICER1 – pleuropulmonální blastom – cystický nefrom

Summary

DICER1 syndrome is an inherited disorder that increases the risk of different types of malignant and benign tumors. The syndrome is caused by mutations in the *DICER1* gene, which is located on the long arm of chromosome 14, region q32.13. Patients with DICER1 syndrome commonly develop pleuropulmonary blastoma (PPB), multinodular goiter, ovarian Sertoli–Leydig cell tumors, and/or other types of tumors. In approximately 35% of families with children manifesting PPB, further (and rather rare) malignancies may be observed, including cystic nephroma, nodular dysplasia of the thyroid gland, medulloepithelioma of the iris, embryonal rhabdomyosarcoma botryoid type, nasal epithelial hamartoma, pituitary blastoma, and/or pineoblastoma. Large studies report a high variability of tumors associated with *DICER1*. DICER1 syndrome, which is associated with an inherited predisposition to tumors, is inherited in an autosomal dominant pattern. Symptoms of DICER1 syndrome may vary, even within families. Preventive screening of carriers with causative mutations is complicated. Follow-up is undertaken as recommended by the 2016 International PPB Register.

Key words

genetic testing – hereditary cancer syndromes – DICER1 – pleuropulmonary blastoma – cystic nephroma

Práce byla podpořena grantovým projektem Ministerstva zdravotnictví ČR AZV 16-3329A.

This work was supported by grant of Ministry of Health of the Czech Republic AZV 16-3329A.

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. Věra Hořinová
Ambulance lékařské genetiky
Nemocnice Jihlava
Vrchlického 4630/59
586 01 Jihlava
e-mail: horinovav@seznam.cz



MUDr. Klára Drábová, Ph.D.
Oddělení lékařské genetiky
FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
e-mail: drabova.klara@fnbrno.cz

Obdrženo/Submitted: 4. 6. 2019

Přijato/Accepted: 6. 6. 2019

doi: 10.14735/amko2019S123

Charakteristika syndromu

Syndrom DICER1 je dědičné onemocnění, které zvyšuje riziko vzniku řady nádorových onemocnění, a to jak maligních, tak benigních. Lze jej najít také pod názvem pleuropulmonální blastom (PPB). Součástí syndromu DICER1 je nejčastěji maligní PPB, benigní cystický nefrom, dále multinodulární struma a také karcinom štítné žlázy či nádory ze Sertoliho buněk a další nádory. Postižení jedinci mohou vyvinout jeden nádor nebo i více typů nádorů, které se jinak objevují vzácně. Kromě výše jmenovaných sem patří např. meduloepitheliom duhovky, embryonální rhabdomyosarkom botryoidního typu, chondromezenchymální hamartom nosní sliznice, pituitární blastom a pineoblastom. Častěji se u pacientů s tímto syndromem vyskytují i další nádory hlavy a krku a gastrointestinální polypy. Rozsáhlé studie ukázaly velkou variabilitu nádorů. Členové jedné rodiny mohou mít různé typy nádorů nebo se u nich nádor nemusí projevit vůbec. Jedná se tedy o autozomálně dominantně dědičné onemocnění se sníženou penetrancí. Penetrance benigních útvarů, jako jsou uzly ve štítné žláze, je vysoká a týká se spíše dospělého věku. Syndrom DICER1 je řazen k nádorovým predispozičním syndromům (OMIM *606241, #601200) [1]. Prevalence dle Exome Aggregation Consortium je přibližně 1 : 2 529 – 1 : 10 600 [2,3]. Riziko tvorby nádorů u jedinců se syndromem DICER1 je ve srovnání se zdravou populací mírně zvýšeno. Podle Stewarta et al [4] je riziko vzniku PPB do 10 let věku asi 5,3 % (s maximem 9,7 %), riziko ostatních nádorů (nejvíce karcinomu štítné žlázy a nádorů ze Sertoliho-Leydigových buněk) je až 19,3 % do 50 let věku (s maximem 29 %). U žen je riziko s věkem vyšší než u mužů.

PPB je nejčastější primární plicní nádor dětského věku, je to vzácný embryonální nádor, jehož základy většinou začínají ve fetálním období při vývoji plic. Existují tři typy PPB – multicystické léze (typ I, s 5letým celkovým přežitím (overall survival – OS) 91 %), smíšený cysticko-solidní (typ II, s 5letým OS 74 %) a solidní (typ III, s 5letým OS 53 %) [5]. Příznaky se většinou objeví v prvních 5 letech života, nejčastěji do 2 let. Diagnóza PPB

by vždy měla vést k vyloučení syndromu DICER1. Na rozvoji PPB se podílejí buňky epiteliální i mezenchymální. Na začátku tumorigeneze se objevují cysty v plicních sklípcích. Tyto cysty jsou spojeny s benigní epiteliální změnou. Mezenchymální buňky mají maligní potenciál. Zmnožení mezenchymálních buněk může vést až k rozvoji sarkomu plic se závažnou prognózou [6]. Asi u 35 % rodin, kde dítě má projevy PPB, bývají další malignity, které se jinak objevují vzácně (viz výše) (OMIM #601200) [7].

Diagnóza

Diagnóza jednotlivých nádorů u syndromu DICER1 závisí na jejich klinické prezentaci, která souvisí s typem nádoru, věkem nemocného a rodinnou anamnézou.

Léčba

Záleží na typu nádoru a stavu jeho rozvoje. U benigních útvarů se nejčastěji jedná o chirurgickou resekci, u maligních nádorů o biopsii s následnou chemoterapií, někdy také radioterapií. Karcinom štítné žlázy se léčí mimo jiné aplikací radiojodu. V indikovaných případech se používá experimentální či biologická léčba.

Genetická poradna

Syndrom DICER1 je autozomálně dominantně dědičný s 50% pravděpodobností přenosu mutace na potomky. V 80 % se jedná o familiární mutace, ve 20 % o mutace *de novo* [8]. Ani v případě, kdy se v rodině vyskytuje pouze jeden nemocný, se nemusí jednat o novou mutaci, protože se u některých členů rodiny syndrom neprojeví nebo se projeví pouze s benigní afekcí, např. uzly ve štítné žláze. Navíc také nemusíme mít o rodině úplné informace.

Pokrevním příbuzným v riziku se vždy nabízí molekulárně genetické testování, a to z důvodu možného sledování a včasného zákroku. Pokud je testování zahájeno v důsledku známé familiární DICER1 patologické varianty, je doporučeno upřednostnění prediktivního testování příbuzných 1. stupně. U novorozenců se doporučuje testování do 4 měsíců věku, aby mohl být plicní screening zahájen pouze u ohrožených dětí [2].

V případě známé mutace lze v rodině zajistit preimplantační genetické vyšetření embryí. Prenatální diagnostika může narazit na etiku ukončování gravidity v případě výskytu mutace v genu DICER1 z důvodu relativně nízké penetrance výskytu maligních nádorů.

Další sledování

Mezinárodní registr PPB svolal v květnu 2016 inaugurační mezinárodní symposium DICER1 za účelem vypracování konsenzuálního testování, sledování a doporučení léčby u pacientů s mutací genu DICER1 [2,9]. Účastníci z celého světa se domlouvali na doporučeních pro genetické testování, prenatální léčbu a sledování plicní, renální, gynekologické, štítné žlázy, oftalmologie, otolaryngologie, nádorů centrálního nervového systému a gastrointestinálních polypů. Riziko pro většinu novotvarů spojených s DICER1 syndromem je nejvyšší v raném dětství a snižuje se v dospělosti. Primární doporučené přístupy jsou individuální a založené na zobrazovacích metodách. Tato doporučení pro testování a sledování odrážejí konsensus odborných posudků a současné literatury. Jak se výzkum syndromu DICER1 rozšiřuje, budou i nadále aktualizovány pokyny pro sledování a léčbu [2].

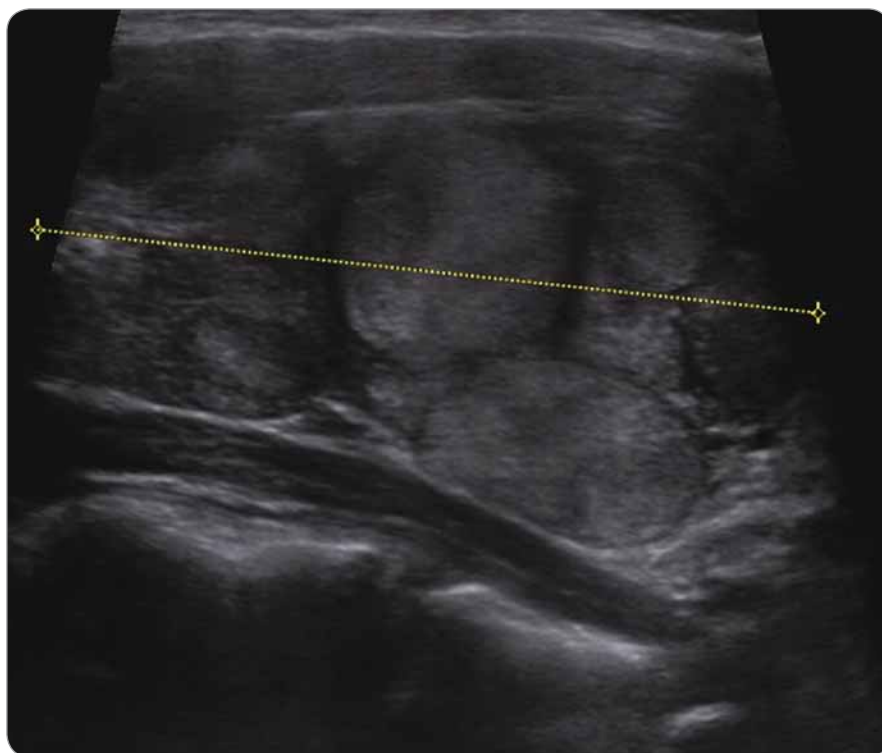
Doporučení pro screening musí brát v úvahu typický věk nástupu, potenciální přínosy včasné detekce a rizika a dostupnost screeningových modalit (např. radiační expozice, potřeba celkové anestezie u malých dětí a pravděpodobnost falešně pozitivních nálezů). Důrazně se doporučuje individuální přístup podle rodinné anamnézy. Kromě sledování založeného na zobrazovacích metodách by jednotlivci a rodiny měli být při každé návštěvě poučeni o možných příznacích stavů spojených se syndromem DICER1.

U těhotných žen, jejichž plody jsou ohroženy patogenní zárodečnou DICER1 variantou z mateřské nebo otcovské strany, se doporučuje ultrazvuk (UZ) ve 3. trimestru, aby byly detekovány velké plicní cysty, které mohou vyžadovat časnou intervenci po porodu. Prenatální UZ má také vyšší citlivost na cystické plicní onemocnění než neonatální rentgenový (RT) snímek. Na základě zkušeností z ji-

ných stavů charakterizovaných cystickými plicními lézemi [2] vyžadují cysty pozorované na prenatalním UZ sledování počítačovou tomografií (computed tomography – CT) i v případě, že je RT hrudníku při narození normální.

Dále je doporučen RT hrudníku při narození pro všechny děti s rizikem patogenní varianty *DICER1* v zárodečné linii, aby bylo možné vyšetřit velké plicní cysty. U dětí s potvrzenou mutací *DICER1* genu by mělo být první CT hrudníku provedeno ve věku 9 měsíců, nejlépe ve věku 3 až 6 měsíců, protože výskyt PPB typu II a III vzrůstá po jednom roce věku. V případě nepřítomnosti plicních cyst/PPB většina jedinců s mutacemi v genu *DICER1* detekovanými v raném dětství podstoupí pouze dvě hrudní CT. Pokud je první CT hrudníku normální, bez známek cyst, doporučuje se následné CT hrudníku přibližně ve věku 2,5–3 let, před dosažením maximálního výskytu PPB. Při absenci radiografických nálezů se doporučuje standardní RT hrudníku každých 6 měsíců od narození do 8 let věku a poté každoročně od 8 do 12 let. Využití rutinního sledování RT nebo CT v dospívání a dospělosti není známo, a proto se nedoporučuje. V současné době CT nabízí vyšší úroveň citlivosti pro detekci cystických plicních lézí, které nelze dosáhnout samotným RT. Při provádění CT by měly být zahrnuty techniky minimalizace ozáření. Vzhledem k tomu, že jsou vyvinuty nové metody magnetické rezonance, které nakonec umožní detekci malých cystických lézí, měl by být zvážěn přechod na ne-radiaci obsahující průřezové zobrazení. Při nálezů plicní cysty na zobrazovacích vyšetřeních se dále postupuje individuálně dle věku postiženého, klinického stavu, možnosti resekce a dalších faktorů [2,9]. Vždy se konzultuje onkolog a chirurg.

Dalším častým nádorem spojeným se syndromem *DICER1* je cystický nefrom, Wilmsův tumor, anaplastický sarkom ledviny či renální karcinom. Afekce se často vyskytují oboustranně. Je doporučen UZ břicha v dětství v době prvního CT hrudníku a každých 6–12 měsíců do věku nejméně 8 let. Roční UZ po 8 letech věku může být zvažován do 12 let věku na základě rodinné anamnézy. Normální UZ a/nebo resekce cystického



Obr. 1. Ultrazvukové vyšetření pacientky z kazuistiky 1 – folikulární karcinom štítné žlázy, pT1 N0 M0.

nefromu v raném dětství předpovídá nižší pravděpodobnost pozdější renální malignity [9].

Vzhledem ke zvýšenému riziku vzniku uzlů štítné žlázy a karcinomu štítné žlázy se doporučuje první UZ nejpozději ve věku přibližně 8 let a pak každé 2 až 3 roky nebo podle aktuálního klinického stavu (zvětšení štítné žlázy, uzly štítné žlázy nebo perzistentní cervikální lymfadenopatie, potíže s polykáním atd.). U jedinců, u kterých byla diagnostikována jiná afekce spojená s *DICER1* syndromem (např. PPB, pineoblastom, cystický nefrom), by měl být v době stanovení diagnózy proveden základní UZ štítné žlázy. Všechny uzly štítné žlázy by měly být vyšetřeny aspirací jemnou jehlou s cytopatologickým vyšetřením [2,9]. Opět se řídíme rodinnou anamnézou.

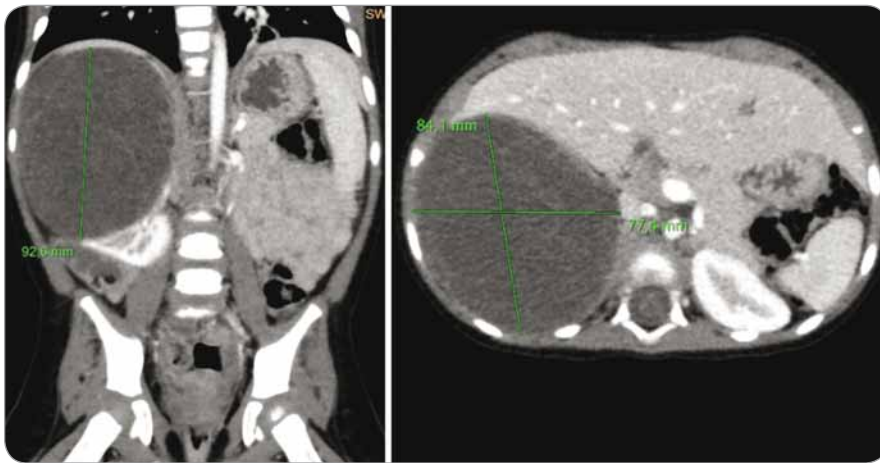
Zatím nejsou přesná doporučení pro screeningová vyšetření pro výskyt nádorů ženských pohlavních orgánů (nádory ze Sertoliho-Leydigových buněk, gynandroblastomy, botryoidní rabdomyosarkom čípku, příp. další). Pacientky musí být pečlivě poučeny o příznacích jmenovaných nádorů (břišní či pánevní bolest, hmatná rezistence, virili-

zace, předčasná puberta, nepravidelnost menstruačního cyklu, vaginální krvácení u prepubertálních dívek). Standardně se provádí UZ břicha každých 6–12 měsíců v průběhu celého dětství spolu s vyšetřením ledvin (viz výše), dále pak UZ břicha 1krát ročně a pravidelná gynekologická vyšetření vč. transvaginálního UZ každých 6–12 měsíců v průběhu celého adultního věku [9]. Vzhledem k tomu, že dobře diferencované formy nádorů ze Sertoliho-Leydigových buněk se vyskytují ve všech věkových kategoriích a jsou velmi vzácné, je doporučováno, aby všichni pacienti s těmito nádory byli odesláni na genetické pracoviště za účelem vyšetření genu *DICER1*.

Vzhledem k vzácnému výskytu nádorů hypofýzy a pineoblastomu i v podmínkách spojených se syndromem *DICER1* zůstává úloha preventivní magnetické rezonance u asymptomatických jedinců kontroverzní. V případě výskytu příznaků intrakraniálních nádorů (Cushingův syndrom, diabetes insipidus, příznaky zvýšeného intrakraniálního tlaku, zvracení, letargie, neurologické změny, oftalmoplegie aj.) je doporučeno provést magnetickou rezonanci mozku [2,9].



Obr. 2. Vyšetření pacientky z kazuistiky 2. A. Rentgen hrudníku. B, C. Počítačová tomografie plic – pleuropulmonální blastom v době stanovení diagnózy.



Obr. 3. Počítačová tomografie břicha pacientky z kazuistiky 3 – cystický nefrom pravé ledviny.

V případě nově vzniklého strabizmu, leukokorie či poruchy vizu je také vhodné provést oční vyšetření vč. vyšetření očního pozadí. Pravidelná oční vyšetření se doporučují individuálně. Při gastrointestinálních potížích je také dobré myslet na častější výskyt gastrointestinálních polypů spojených s tímto syndromem, indikace endoskopických vyšetření se řídí klinickými příznaky [9].

Podrobnější informace jsou k dispozici na internetových stránkách Mezinárodního registru PPB [10] nebo v pokynech pro Evropskou skupinu velmi vzácných nádorů [11].

Kazuistika 1

Žena ve věku 22 let byla odeslána do genetické poradny ošetřujícím gynekologem po operaci myomu dělohy v květnu 2016. Z anamnézy při genetickém vyšetření vyplynulo, že byla ve 3 letech operovaná pro

cystu ledviny, histologicky se jednalo o cystický nefrom. V roce 2007 (ve 12 letech) byla léčena na Klinice dětské onkologie (KDO) FN Brno pro botryoidní rhabdomyosarkom děložního čípku, IRS (Intergroup Rhabdomyosarcoma Studies) skupina II, proběhla operace, reoperace a systémová chemoterapie. V roce 2014 (v 19 letech) jí byl zjištěn invazivní folikulární karcinom štítné žlázy, lokalizovaná nemoc (obr. 1). Absolvovala totální thyreoidektomii a léčbu radiojodem. V současnosti se cítí zdravá, uvádí normální životosprávu, kouří tři cigarety za den. Genealogie zcela bez onkologické zátěže.

Vzhledem k anamnéze a klinice bylo indikováno vyšetření CZECA (NimbleGen SeqCap EZ Choise Cancer Panel). Byla nalezena mutace v genu *DICER1* – sestřihová varianta c.4051-1G>T (NM_177438.2). Tato varianta nebyla dosud popsána v databázích ClinVar, LOVD ani HGMD, proto byla

ověřena a potvrzena analýzou ribonukleové kyseliny. Varianta se nachází ve vysoce konzervovaném místě rozpoznávaném sestřihovým komplexem, je proto pravděpodobné, že může způsobovat nižší afinitu sestřihového komplexu k sestřihovému místu, které následně nemusí být tímto komplexem rozpoznáno. Tři predikční programy (MaxEnt, NNSPLICE a SSF) se shodují, že s nejvyšší pravděpodobností dojde ke ztrátě akceptorového místa v intronu 21 a následně tak dojde k vynechání exonu 22. Vzhledem k prodělaným malignitám jsme vyhodnotili variantu jako IARC (Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny) – class 4, pravděpodobně patogenní.

Pacientka byla o diagnóze informována, bylo jí doporučeno preventivní sledování a dovyšetření pokrevních členů rodiny v riziku, tj. bratrů a rodičů. Vzhledem k negativní genealogii je možno uvažovat o mutaci *de novo*, segregace nalezené varianty však nebyla provedena pro nespolečnosti rodiny.

Dále jí byla vysvětlena možnost preimplantační genetické diagnostiky embryí v případě plánování rodiny. Zda bude dodržovat preventivní opatření a doporučení a v případě plánování gravidity podstoupí preimplantační genetické vyšetření embryí, není jasné. Zatím si totiž pacientka závažnost diagnózy nepřipouští.

Kazuistika 2

Další kazuistika popisuje dívku narozenou v roce 2008. Perinatální anamnéza je negativní. Do 2 let nebyla dívka významně nemocná. Ve 2 letech byla hospitalizována pro dušnost na pediatrické klinice. Základní klinické i biochemické vyšet-

ření bylo negativní. Bylo provedeno rentgenové vyšetření srdce a plic a zjištěn pneumotorax vpravo, byl zaveden hrudní drén na aktivní sání. Pro přetrvávající dušnost bylo provedeno CT vyšetření – pravá plíce částečně zkolabovaná, na viscerální pleuru nasedal nehomogenně se sytící nádor (obr. 2). Jako vedlejší nález byla ventrálně od hilu levé ledviny detekována kulovitá cystoidní formace. Probandka byla přeložena na KDO. Na základě radiologického nálezu a věku bylo vyjádřeno podezření na PPB. V červnu 2010 proběhla thorakoskopická parciální resekce nádoru. Histologicky byl potvrzen PPB, typ II. Dívka absolvovala systémovou protinádorovou léčbu a dosáhla první kompletní remise. V roce 2017 bylo cystické ložisko pravé ledviny biopticky verifikováno jako cystický nefrom. Vzhledem k souběhu PPB a cystického nefromu bylo vysloveno podezření na syndrom DICER1. Dívka byla zároveň sledována pro uzly ve štítné žláze – ve FN Motol proběhla v červnu 2017 biopsie a byl potvrzen folikulární karcinom štítné žlázy. Nyní je pacientka po totální thyreoidektomii a léčbě radiojodem. Progrese cystického nefromu v pravé ledvině s destrukcí parenchymu si vynutila pravostrannou nefrektomii. V lednu 2018 byl zjištěn nález vícečetných cystických nefromů v solitární levé ledvině, pro které je v současné době léčena experimentální biologickou léčbou (mTOR inhibitory). Při další progresi je pacientka v riziku levostranné nefrektomie a kandidátkou následné transplantace ledviny.

Sangerovým sekvenováním byla nalezena sestřihová varianta c.2889-2A>G (NM_177438.2) na hraničním místě 16. a 17. exonu genu *DICER1* v heterozygotní formě. Tato varianta nebyla v databázích dosud popsána. Nachází se ve vysoce konzervovaném místě rozpoznávaném sestřihovým komplexem. Podle predikčního programu Sroogle varianta pravděpodobně způsobuje nižší afinitu sestřihového komplexu k akceptorovému místu v intronu 16, a následně tak může

dojít k vynechání exonu 17 genu *DICER1*. Varianta byla klasifikována jako IARC – class 4, pravděpodobně patogenní.

Z genealogie plyne, že sestra matky měla diagnostikovan ve 37 letech kožní melanom a otec matky měl tumor ledviny (blíže nespecifikovaný). Jinak je rodina bez onkologické zátěže.

Bylo provedeno vyšetření rodičů. Ani jeden z rodičů uvedenou variantu v genu *DICER1* nepřenáší. Jedná se tedy o mutaci *de novo*.

Kazuistika 3

Poslední kazuistika popisuje případ 2leté dívky. Perinatální anamnéza nebyla spojená s patologií. Do 2 let pacientka prodělala pouze běžné infekty. Ve 2 letech byla hospitalizována pro respirační febrilní infekt. V komplexním vyšetření byla prokázána hematurie a leukocyturie, klinicky byl stav vyhodnocen jako zánět močových cest, a proto byla nasazena antibiotika, celkový stav pacientky se poté zlepšil. Po propuštění byla dívka odeslána ke sledování do nefrologické ambulance. Zde byl v lednu 2018 proveden UZ břicha a byl zjištěn multicystický útvar ledviny vpravo. Pacientka byla odeslána na KDO. Po vstupním stagingu byla na základě radiologického obrazu a velikosti ložiska indikována primární nefrektomie (obr. 3). Histologicky se jednalo o benigní cystický nefrom. Adjuvantní onkologická léčba nebyla indikována, dívka je dále sledována v ambulanci KDO. Vzhledem k charakteru nádoru bylo vysloveno podezření na syndrom DICER1.

Sangerovým sekvenováním byla nalezena nonsense varianta c.2534T>A/p.L845* (NM_177438.2) v 16. exonu genu *DICER1* v heterozygotním stavu, která má za následek vznik předčasněho terminačního kodonu a následně tak vznik proteinu s pozměněnou strukturou a funkcí. Varianta nebyla dříve popsána. Klasifikována byla jako IARC – class 4, pravděpodobně patogenní.

Genealogie je bez významné onkologické zátěže, pouze dědeček ze strany

matky měl nádor prostaty a tlustého střeva v pokročilém věku.

Segregace mutace v rodině nebyla pro nespolečnosti rodiny provedena.

Závěr

Syndrom DICER1 je predispoziční nádorový syndrom, pro který jsou charakteristické určité typy maligních nádorů, ale i benigních dysplazií s velmi variabilními příznaky. Většina jedinců s patogenními zárodečnými variantami genu *DICER1* je naštěstí zdravá nebo má pouze benigní typ nádoru, přesto je vhodné tyto pacienty pravidelně sledovat. V případech výskytu uvedených typů nádorů je dobré na tento syndrom myslet.

Literatura

- Slade I, Bacchelli CH, Davies H et al. DICER1 syndrome: clarifying the diagnosis, clinical futures and management implications of a pleiotropic tumor predisposition syndrome. *J Med Genet* 2011; 48(4): 273–278. doi: 10.1136/jmg.2010.083790.
- Schultz KA, Williams GM, Kamihara J et al. DICER1 and associated conditions: identification of at-risk individuals and recommended surveillance strategies. *Clin Cancer Res* 2018; 24(10): 2251–2261. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-3089.
- Kim J, Field A, Schultz KA et al. The prevalence of DICER1 pathogenic variation in population databases. *Int J Cancer* 2017; 141(10): 2030–2036. doi: 10.1002/ijc.30907.
- Stewart DR, Best AF, Williams GM et al. Neoplasm risk among individuals with a pathogenic germline variant in DICER1. *J Clin Oncol* 2019; 37(8): 668–676. doi: 10.1200/JCO.2018.78.4678.
- Hill DA, Dehner LP. A cautionary note about congenital cystic adenomatoid malformation (CCAM) type 4. *Am J Surg Pathol* 2004; 28(4): 554–555.
- Hill DA, Ivanovich J, Priest JR et al. Germline DICER1 mutations in familial pleuropulmonary blastoma. *Science* 2009; 325(5943): 965. doi: 10.1126/science.1174334.
- Priest JR, Watterson J, Strong L. Pleuropulmonary blastoma: a marker for familial disease. *J Pediatr* 1996; 128(2): 220–224.
- Doros L, Schultz KA, Stewart DR et al. DICER1-related disorders: genereviews. [online]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK196157/>.
- Schultz KA, Rednam SP, Kamihara J et al. PTEN, DICER1, FH, and their associated tumor susceptibility syndromes: clinical features, genetics, and surveillance recommendations in childhood. *Clin Cancer Res* 2017; 23(12): e76–e82. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0629.
- The International Pleuropulmonary Blastoma/DICER1 Registry. [online]. Available from: www.PPBregistry.org.
- European Cooperative Study Group for Pediatric Rare Tumors. [online]. Available from: www.raretumors-children.eu.

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.
prof. MUDr. Martin Klabusay, Ph.D.

Širší redakční rada

prof. MUDr. Zdeněk Adam, CSc., Brno
doc. MUDr. Igor Andrašina, CSc., Košice
doc. MUDr. Soňa Balogová, Ph.D., Bratislava
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. Luboš Drgoňa, CSc., Bratislava
prof. MUDr. Ladislav Dušek, Ph.D., Brno
prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc., Praha
prof. MUDr. David Feltl, Ph.D., Ostrava
doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D., Olomouc
prof. MUDr. Roman Hájek, CSc., Ostrava
MUDr. Jana Halámková, Ph.D., Brno

Čestní členové redakční rady

prof. MUDr. Josef Bilder, CSc., Brno
prof. Sándor Eckhardt, Budapešť
prof. MUDr. Ludovít Jurga, DrSc., Trnava
doc. MUDr. Juraj Kaušitz, CSc., Bratislava

výkonný redaktor

prof. MUDr. Marek Svoboda, Ph.D.

MUDr. Ivo Kocák, Ph.D.
MUDr. Rudolf Nenutil, CSc.
MUDr. Jiří Novák

prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc., Praha
doc. MUDr. Alexandra Kolenová, Ph.D., Bratislava
Andrea Lancia, M.D., Rome
assoc. prof. Jeong Eon Lee, M.D., Ph.D., Seoul
prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc., Brno
prof. MUDr. Michal Mego, DrSc., Bratislava
prof. MUDr. Bohuslav Melichar, Ph.D., Olomouc
prof. MUDr. Beata Mladosičová, CSc., Bratislava
doc. MUDr. Jan Novotný, Ph.D., Praha
prof. MUDr. Dalibor Ondruš, DrSc., Bratislava
doc. RNDr. Martina Ondrušová, Ph.D., MPH, 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

prof. MUDr. Jan Klusterský, Brusel
prof. MUDr. Josef Koutecký, DrSc., Praha
prof. RNDr. Jan Kovařík, DrSc., Brno
prof. MUDr. Ivan Koza, DrSc., Bratislava

prof. RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D.
doc. RNDr. Sabina Ševčíková, Ph.D.
prof. MUDr. Jan Žaloudík, CSc.

doc. MUDr. Igor Puzanov, 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

doc. MUDr. Jozef Mardiak, CSc., Bratislava
MUDr. Zdeněk Mechl, CSc., Brno
MUDr. Jaroslav Němec, CSc., Brno
MUDr. Viliam Ujházy, DrSc., Bratislava

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2018

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., Prusíkova 2577/16, Stodůlky, 155 00 Praha 5, tel./fax: +420 222 352 573/572.

Odpovědná redaktorka: Mgr. Barbora Kovářová, e-mail: barbora.kovarova@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 2019 činí 540 Kč (22 eur).

Informace o předplatném a objednávky předplatitelů: www.centram.cz

Informace o podmínkách inzerce poskytuje a objednávky přijímá: Josef Seher, e-mail: josef.seher@ambitmedia.cz, tel.: +420 733 675 008.

Rukopisy vkládejte do redakčního systému: <http://redakce.ambitmedia.cz/ko>; případně 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. 8. 2019

Hrazena
od 1. září 2018
v udržovací
léčbě ovariálního
karcinomu*

Lynparza™
olaparib
capsules 50 mg

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.¹

Otestujte každou svou pacientku s karcinomem vaječníku^A na přítomnost mutace BRCA a najděte tu, která bude mít užitek z léčby přípravkem Lynparza.

ZKRÁCENÁ INFORMACE O PŘÍPRAVKU LYNPARZA® 50 mg tvrdé tobolky

▼ 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 recidivujícím high-grade serózním epitelálním karcinomem vaječníku, vejcovodu, nebo primárně peritoneálním karcinomem s mutací BRCA (germinální a/nebo somatickou) citlivým k platině, u nichž došlo k recidivě a které odpovídají (úplná nebo částečná odpověď) 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 pacientek přípravkem Lynparza má být zahájena nejpozději 8 týdnů po podání poslední dávky režimu s deriváty platiny. V případě výskytu nežádoucích účinků, jako je nauzea, zvracení, průjem a anémie, může být léčba přerušena a lze zvážit snížení dávkování. Doporučuje se snížit dávku na 200 mg 2× denně. Pokud je potřeba výsledné dávkování ještě snížit, může být zváženo snížení na 100 mg 2× denně. Souběžné podávání silných a středně silných inhibitorů CYP3A se nedoporučuje a má se uvažovat o alternativních látkách. Pokud musí být silné a středně silné inhibitory CYP3A podávány souběžně, doporučená snížená dávka olaparibu je 150 mg dvakrát denně (ekvivalentní celkové denní dávce 300 mg) se silným inhibitorem CYP3A nebo 200 mg dvakrát denně (ekvivalentní celkové denní dávce 400 mg) se středně silným inhibitorem CYP3A. Přípravek Lynparza může být podáván pacientkám s lehkou poruchou funkce ledvin (clearance kreatininu 51 až 80 ml/min) bez úpravy dávkování. U pacientek se středně těžkou poruchou funkce ledvin (clearance kreatininu 31 až 50 ml/min) je doporučená dávka přípravku Lynparza 300 mg dvakrát denně (to odpovídá celkové denní dávce 600 mg). Použití přípravku Lynparza se nedoporučuje u pacientek s těžkou poruchou funkce ledvin nebo v konečném stádiu renální nemoci (clearance kreatininu ≤ 30 ml/min), protože nejsou k dispozici údaje o těchto pacientkách. Přípravek Lynparza může být podáván pacientkám s lehkou poruchou funkce jater (Child-Pugh Class A) bez úpravy dávkování. Přípravek Lynparza se nedoporučuje používat u pacientek se středně těžkou nebo těžkou poruchou funkce jater, protože bezpečnost a účinnost nebyla u těchto pacientek studována. Populační analýza dostupných dat neodhalila žádné údaje, že by hmotnost ovlivňovala plazmatické koncentrace olaparibu, a neprokázala vztah mezi plazmatickými koncentracemi olaparibu a věkem pacientky. 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 má 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 nově 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. **Embryofetální toxicita:** Vzhledem k mechanismu účinku (inhibice PARP) může olaparib podáváný těhotným ženám způsobit poškození plodu. **Interakce:** Souběžné podávání olaparibu se silnými a středně silnými inhibitory CYP3A se nedoporučuje. Pokud se silné nebo středně silné inhibitory CYP3A musí podávat souběžně, dávka olaparibu se má snížit. Souběžné podávání olaparibu se silnými induktory CYP3A se nedoporučuje. V případě, že pacientka užívající olaparib má být léčena silným induktorem CYP3A, předepisující lékař si má být vědom, že účinnost olaparibu může být zásadně snížena. V případě, že pacientka, která užívá olaparib, má být léčena inhibitory P-gp, je třeba pečlivě monitorovat nežádoucí účinky olaparibu a doporučuje se korigovat tyto nežádoucí účinky snížením dávky. Kombinace olaparibu s vakcínami nebo imunosupresivy nebyla studována. Pokud se tyto léčivé přípravky podávají souběžně s olaparibem, je třeba opatrnosti a pacientky mají být pečlivě sledovány. **Těhotenství a kojení:** Přípravek Lynparza se nesmí podávat v průběhu těhotenství a ženám ve fertilním věku, které nepoužívají spolehlivou antikoncepci v průběhu léčby a dále ještě 1 měsíc po podání poslední dávky přípravku Lynparza. Vzhledem k tomu, že nelze vyloučit snížení expozice substrátům pro CYP3A olaparibem cestou enzymové indukce, může být účinnost hormonální antikoncepce snížena při souběžném užívání olaparibu. Proto je třeba zvážit dodatečnou nehoromonální metodu antikoncepce a pravidelné provádění těhotenských testů v průběhu léčby. Přípravek Lynparza je kontraindikován v průběhu kojení a ještě 1 měsíc po podání poslední dávky. **Nežádoucí účinky:** Monoterapie olaparibem byla prováděna nežádoucími účinky nejčastěji mírné nebo střední závažnosti, které ve většině případů nevedly k nutnosti přerušit léčbu. K velmi častým nežádoucím účinkům patří anémie, snížená chuť k jídlu, závrať, bolest hlavy, dysgeuzie, kašel, zvracení, průjem, nauzea, dyspepsie a únava (včetně astenie). K častým nežádoucím účinkům patří neutropenie, trombocytopenie, leukopenie, stomatitida, bolest horní části břicha a zvýšený kreatinin v krvi. Jako méně časté byly zaznamenány lymfopenie, hypersenzitivita a dermatitida. **Zvláštní opatření pro uchovávání:** Uchovávejte v chladničce (2 °C–8 °C). Chrňte před mrazem. Veškeré tobolky, které zmrzly, musí být zlikvidovány. Přípravek Lynparza tobolky lze uchovávat až 3 měsíce při teplotě do 30 °C. Po této době musí být tobolky zlikvidovány. **Doba použitelnosti:** 2 roky. **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:** 26. 7. 2018. **Referenční číslo dokumentu:** 26072018API.

Výdej léčivého přípravku vázán na lékařský předpis. Přípravek je 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., U Trezorky 921/2, 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 2018

* high-grade serózní epitelální nádor 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.

AstraZeneca