

HEREDITÁRNÍ NÁDOROVÁ ONEMOCNĚNÍ

HEREDITARY CANCER DISEASES

REDAKČNĚ ZPRACOVALA: FORETOVÁ L.

klinická onkologie

Supplement 2006

ROČNÍK 19

Duben 2006

VYDÁVÁ
ČESKÁ LÉKAŘSKÁ
SPOLEČNOST J. E. PURKYNĚ
IČO 444359

V NAKLADATELSTVÍ
ApS BRNO, spol. s r. o.
IČO 543535

REDAKCE:
Masarykův onkologický ústav Brno
Žlutý kopec č. 7
656 53 Brno

Sekretář redakce:
ing. Zdeněk Bouša
tel., fax: 543 134 226
Přijetí příspěvků:
e-mail: vukfait@centrum.cz
e-mail: bousa@mou.cz

Tiskne Moravská typografie, a. s.
Brno, Moravské náměstí 13
IČO 15549763

Vychází 6krát ročně
Roční předplatné 180 Kč
pro studenty LF 90 Kč

Expedici na základě roční objednávky
vyřizuje redakce

Ministerstvo kultury ČR
MK ČR 5158
ISSN 0862-495 X

INTERNET – vstupní adresa:
<http://www.linkos.cz>

INDEXED IN EXCERPTA MEDICA

ČASOPIS ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI
A SLOVENSKEJ ONKOLOGICKEJ SPOLOČNOSTI

THE JOURNAL OF THE CZECH AND SLOVAK
ONCOLOGICAL SOCIETIES

VEDOUcí REDAKTOR: REJTHAR ALEŠ

ZÁSTUPCE VEDOUcíHO

REDAKTORA: KOZA IVAN

VÝKONNÝ REDAKTOR: FAIT VUK

REDAKTOŘI:

ČOUPEK PETR
HÁJEK ROMAN
KOCÁK IVO

VALÍK DALIBOR
VORLÍČEK JIŘÍ
ŽALOUdÍK JAN

REDAKČNÍ RADA:

ADAM ZDENĚK, Brno
BABUŠÍKOVÁ OLGA, Bratislava
BEDNAŘÍK OTAKAR, Brno
BILDER JOSEF, Brno
ČOUPEK PETR, Brno
DRBAL JOSEF, Brno
ECKHARDT SANDOR, Budapešť
FAIT VUK, Brno
HÁJEK ROMAN, Brno
JURGA LUDOVIT, Trnava
KALLAY JOZEF, Bratislava
KAUŠITZ JURAJ, Bratislava
KLAŠTERSKÝ JAN, Brusel
KLENER PAVEL, Praha
KOCÁK IVO, Brno
KOUTECKÝ JOSEF, Praha

KOVAŘÍK JAN, Brno
KOZA IVAN, Bratislava
MAYER JIŘÍ, Brno
MECHL ZDENĚK, Brno
NĚMEC JAROSLAV, Brno
ONDRUŠ DALIBOR, Bratislava
PAČOVSKÝ ZDENĚK, Brno
PLEŠKO IVAN, Bratislava
PETRUŽELKA LUBOŠ, Praha
REJTHAR ALEŠ, Brno
SPURNÝ VLADIMÍR, Brno
UJHÁZY VILIAM, Bratislava
VORLÍČEK JIŘÍ, Brno
VYZULA ROSTISLAV, Brno
WAGNEROVÁ MÁRIA, Košice
ŽALOUdÍK JAN, Brno

Úvodní slovo	43
Goetz P., Foretová L., Puchmajerová A. Hereditární etiologie nádorových onemocnění a význam genetického poradenství a testování v onkologii.	44
Macháčková E., Plevová P., Lukešová M., Šilhánová E., Foretová L. Genetická predispozice ke vzniku maligního nádoru prsu	48
Lukešová M., Macháčková E., Vašíčková P., Navrátilová M., Pavlů H., Urbánková V., Kuklová J., Foretová L. Výsledky testování BRCA1 a BRCA2 genů v molekulárně genetické laboratoři Masarykova onkologického ústavu	55
Vašíčková P., Macháčková E., Lukešová M., Horký O., Pavlů H., Kuklová J., Urbánková V., Foltánková V., Navrátilová M., Foretová L. Varianty neznámého významu a intragenové přeskupení v genech BRCA1 a BRCA2	58
Štekrová J., Šulová M., Zídková K., Kleibl Z., Vandrovcová J., Kebrdlová V., Kotlas J., Kohoutová M. Familiární adenomatózní polypóza – novinky v molekulární diagnostice	63
Plevová P., Šilhánová E., Foretová L. Vzácné hereditární syndromy s vyšším rizikem vzniku nádorů	68
Křepelová A., Pavlíková K., Plevová P. Diagnostika Lynchova syndromu – nové geny a metody	76
Křepelová A. Dědičné formy nádorů ledvin – spektrum predispozičních genů a jejich testování	82
Foretová L., Navrátilová M., Petráková K., Palácová M., Kalábová R., Puchmajerová A., Novotná K., Sedláček Z. Kasuistiky Li-Fraumeni syndromu: diagnostické a preventivní možnosti	85
Petráková K., Palácová M., Foretová L., Kalábová R. Algoritmus preventivních vyšetření u geneticky podmíněných malignit	88
M. Schneiderová, H. Bartoňková Úloha magnetické rezonance v mamologické prevenci u žen s dědičným rizikem nádoru prsu.	91
Dražan L. Profylaktická mastektomie a její indikace u rizikových žen	92
Foretová L., Navrátilová M., Vítová H., Hanousková D., Dvořáčková B., Kalábová R., Palácová M., Schneiderová M., Petráková K. Preventivní péče o ženy s dědičným syndromem nádorů prsu/ovaria – výsledky dotazníkové studie, prevence na Masarykově onkologickém ústavu	101
Přílohy	105

Introduction	43
Goetz P., Foretová L., Puchmajerová A. Hereditary aetiology of cancer diseases and the importance of genetic counselling and testing in oncology	44
Macháčková E., Plevová P., Lukešová M., Šilhánová E., Foretová L. Genetic susceptibility to breast cancer	48
Lukešová M., Macháčková E., Vašíčková P., Navrátilová M., Pavlů H., Urbánková V., Kuklová J., Foretová L. The results of testing BRCA1 and BRCA2 genes in molecular genetic laboratory of Masaryk Memorial Cancer Institute	55
Vašíčková P., Macháčková E., Lukešová M., Horký O., Pavlů H., Kuklová J., Urbánková V., Foltánková V., Navrátilová M., Foretová L. Variants of unknown clinical significance and intragenic rearrangements in BRCA1 and BRCA2 genes	58
Štekrová J., Šulová M., Zídková K., Kleibl Z., Vandrovcová J., Kebrdlová V., Kotlas J., Kohoutová M., Familial adenomatous polyposis – novel molecular diagnostic techniques	63
Plevová P., Šilhánová E., Foretová L. Rare hereditary syndromes with increased risk of cancer	68
Křepelová A., Pavlíková K., Plevová P. Diagnostics in Lynch syndrome - New genes and methods	76
Křepelová A. Hereditary renal cell cancer - predisposition genes and their testing	82
Foretová L., Navrátilová M., Petráková K., Palácová M., Kalábová R., Puchmajerová A., Novotná K., Sedláček Z. Cases of Li- Fraumeni syndrome: diagnostic and preventive possibilities	85
Petráková K., Palácová M., Foretová L., Kalábová R. Algorithm of preventive care in genetically determined malignancies	88
M. Schneiderová, H. Bartoňková Breast Magnetic Resonance Imaging in Surveillance of Women at High Risk for Breast Cancer.	91
Dražan L. Prophylactic mastectomy and its indications in high-risk women	92
Foretová L., Navrátilová M., Vítová H., Hanousková D., Dvořáčková B., Kalábová R., Palácová M., Schneiderová M., Petráková K. Prevention care in women with hereditary breast/ovarian cancer – the results of questionnaire study, prevention at the Masaryk Memorial Cancer Institute	101
Annexe	105

ÚVODNÍ SLOVO

Nárůst nádorových onemocnění je každoročně alarmující. Se vzrůstající životní úrovní se incidence některých nádorů zvyšuje. Náš životní styl je pohodlnější, což paradoxně s sebou přináší nikoliv zlepšení, ale zhoršování některých nádorových rizik. Nelze očekávat, že bychom byli schopni zásadně náš životní styl měnit. Pracovní tempo, stres, nedostatek pohybu a mnohdy ne zrovna kvalitní strava jsou součástí moderního stylu, na který jsme si zvykli.

Ne vždy se však nádorová onemocnění objevují díky faktorům životního stylu. Mnohdy se objevují díky našim genům, které jsme získali od svých předků. Nemůžeme si vybrat, naše dědictví si neseme s sebou a předáváme dále. Nemůžeme je změnit, ale můžeme je poznat, vyšetřit, testovat a ovlivnit mnoha různými způsoby.

Stále se ve své praxi setkáváme s opomíjením evidentních příznaků rodinné zátěže, přestože jsou to mnohdy jediné signály umožňující zabránit předčasnému úmrtí na onkologické onemocnění.

Je na nás, abychom byli všímavější a dokázali v naší denní praxi rozpoznat riziko nádorů, které mnohým lidem skutečně hrozí. Často si tito lidé dlouhodobě lámou hlavu tím, proč tolik jejich příbuzných muselo zemřít mladých. Ne vždy, ale velice často jsme schopni jim vyřešit jejich problém a pomoci v prevenci těch nádorů, které je mohou ohrožovat.

Postupně jsou objevovány geny, které jsou zodpovědné za různé nádorové syndromy. V roce 1993 byly identifikovány geny způsobující Lynchův syndrom, v roce 1994 a 1995 geny BRCA1 a BRCA2 pro dědičný syndrom nádorů prsu a ovaria. Jsou objasňovány genetické příčiny dalších i vzácných syndromů. V České republice máme možnost mnohé z nich testovat. Přehledné informace o existujících molekulárně genetických laboratořích a testovaných chorobách je možné získat na webových stránkách ÚHK (www.uhkt.cz) nebo na stránkách Společnosti lékařské genetiky (www.slg.cz).

Každé podezření na geneticky podmíněné nádorové onemocnění by mělo znamenat odeslání pacienta nebo jeho příbuzného na genetickou konzultaci (adresy s telefony jsou uvedeny v příloze č. 2.). Při této konzultaci je podrobně probrána rodinná anamnéza, jsou zhodnocena rizika a jsou navrženy možnosti genetického testování. Při ukončení testování je znovu pacient pozván na konzultaci a jsou mu vysvětleny výsledky, rizika pro ostatní rodinné příslušníky a možnosti preventivní péče.

Dědičná rizika nejsou zanedbatelná, dědičná dispozice k nádorům není vzácná. Lidí, kteří by o ní měli vědět, je mezi námi mnoho. Spíše bych řekla, že pouze málokdo může říci, že v jeho rodině se onkologické onemocnění nevyskytl. Je třeba rozlišovat. I když téměř v každé rodině se nádor vyskytl, mnoho faktorů jako typ nádoru, četnost výskytu, věk při onemocnění, příbuzenský vztah nás mohou dovést až k podezření na hereditární monogenní zátěž.

V uvedeném supplementu bychom vám chtěli předat informace, které pomohou mezi vašimi pacienty diagnostikovat suspektní hereditární syndrom a odeslat na genetické pracoviště. Společnými silami je možné předcházet zbytečným tragédiím v rodinách, které vždy s sebou léčba nádoru přináší.

MUDr. Lenka Foretová PhD.

HEREDITÁRNÍ ETIOLOGIE NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ A VÝZNAM GENETICKÉHO PORADENSTVÍ A TESTOVÁNÍ V ONKOLOGII.

HEREDITARY AETIOLOGY OF CANCER DISEASES AND THE IMPORTANCE OF GENETIC COUNSELLING AND TESTING IN ONCOLOGY.

GOETZ P.¹, FORETOVÁ L.² PUCHMAJEROVÁ A.¹

¹ÚSTAV BIOLOGIE A LÉKAŘSKÉ GENETIKY 2. LF UK A FN MOTOL

²MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO

Souhrn

Nádorová onemocnění jsou ve většině případů nedědičná. Odhaduje se, že asi 5-10% však může být hereditárního původu. Existuje mnoho desítek častějších i vzácných syndromů s vysokým rizikem určitých typů nádorových onemocnění. U některých syndromů je pouze kumulace nádorových onemocnění v rodině jediným příznakem hereditární dispozice. V uvedeném článku je podáván přehled dědičných nádorových syndromů a vysvětlen význam genetického poradenství a testování v onkologii.

Klíčová slova: nádorová onemocnění, hereditární nádorové syndromy, genetické poradenství, genetické testování, prevence.

Summary

Cancer diseases are mostly sporadic, but it is estimated that about 5-10% may be of hereditary origin. Dozens of common or rare syndromes with a high risk of certain types of cancer exist. In some of them the accumulation of cancer in a family is the only sign of hereditary predisposition. In this article the list of hereditary cancer syndromes is provided and the importance of genetic counselling and testing in oncology is explained.

Key words: cancer diseases, hereditary cancer syndromes, genetic counselling, genetic testing, prevention.

Sporadická maligní onemocnění

Většina maligních onemocnění je sporadická, nedědičná. V kterékoli somatické buňce může vzniknout primární genetická událost (mutace obvykle tumor supresorového genu), která se přenáší na další buněčné potomky vytvářející nádorový klon (monoklonální teorie). Mutace přináší buňkám klonu pouze selekční růstovou výhodu. K dosažení plně rozvinutého maligního fenotypu (nezávislost na externích růstových signálech, necitlivost k externím protirůstovým signálům, unikání apoptóze, schopnost nekonečné replikace, podpora neoangiogeneze, invazivita a metastatická schopnost) je třeba, aby se v buňkách klonu nahromadilo v průměru minimálně 6-7 dalších mutací „za nádor odpovědných genů“ (onkogenů, tumor supresorových genů včetně reparačních genů) a dalších tzv. epigenetických událostí (např. metylace promotorových oblastí genů snižující nebo eliminující jejich expresi). Žádná jediná mutace unikající protinádorovým mechanismům (reparace mutací, apoptóza, imunologické mechanismy) není schopna změnit normální buňku v nádorovou. Je evidentní, že akumulace počtu popsanych nereparovaných změn v nádorovém klonu vyžaduje uplynutí určitého času. Proto vykazuje incidence sporadických nedědičných malignit závislost na věku, jsou onemocněními postreprodukčního období, kdy také postupně klesá efektivita protinádorových mechanismů.

Hromadí se stále více důkazů, že každý tumor je individuální. Existuje mnoho různých genů, které mohou být mutovány v různých nádo-rech i stejného typu. Pozornost směřuje k modifikujícím genům a DNA polymorfismům, které nepochybně ovlivňují individuální povahu vzniku a rozvoje nádorového onemocnění. K jedinečnosti každého nádoru

ru navíc podstatně přispívají velmi spletité, dosud v podstatě neodhalené interakce mutovaných genů i interakce normálních genů nádorových i okolních buněk (1,2).

Hereditární maligní onemocnění

Minimálně 10% nádorových onemocnění je hereditárních způsobených mutacemi vysoce penetrantních nádorových genů. Na rozdíl od sporadických nádorů se jedinec již s jednou mutovanou alelou určitého nádorového genu rodí. Příčina je ve zdědění mutace zárodečnými buňkami (zárodečná, germinální mutace). Predisponující mutace je tedy u nosiče přítomna ve všech jeho somatických buňkách a zvyšuje podstatným způsobem riziko onemocnět určitou malignitou (dle typu nádorového genu jehož mutovaná alela byla přenesena). V cílové tkáni obvykle stačí mutace nebo eliminace druhé alely (vzácněji ani k tomu nemusí dojít – haploinsuficience), aby se rozběhl mnohastupňový tumorigenní proces. Predisponující alela a nádorová predispozice je dále přenášena zárodečnými buňkami přenášce do dalších generací, obvykle autosomálně dominantním, ale i recesivním i na X- vázaným recesivním způsobem. Výsledkem je kumulace maligních nádorů určitého typu v několika generacích, vznikají tzv. nádorové rodiny. Typickým znakem nádorových rodin je nejen nahromadění malignit, ale zejména jejich výskyt v mladém věku (3, 4).

Prvou takto děděnou predispozicí byla hereditární forma retinoblastomu, kdy v cílové somatické buňce retiny (heterozygotní pro mutovanou alelu Rb genu) stačí mutace/eliminace druhé alely genu (Knudsonova dvojzásahová teorie) k rozvoji maligního nádoru, často bilaterálního. V buňkách jiných tkání se složitější regulací buněčné proliferace, diferenciace

a apoptózy je třeba k rozvoji nádorového klonu kromě inici-
ační události (vyřazení dvou alel genu nebo haploinsuficien-
ce) ještě akumulace dalších genetických (mutací) a epigene-
tických událostí.

Objevení zděděných mutací genů spojených se zvýšeným
rizikem vzniku maligního onemocnění otevřelo novou efek-
tivní oblast klinické onkologie zejména v oblasti preventiv-
ních programů. Spolupráce klinických genetiků s onkology
a dalšími klinickými specialisty směřuje k vyhledávání rodin
s genetickou zátěží pro určité typy zhoubných onemocnění.
Následuje specializované genetické poradenství s výtýpová-
ním rodinných příslušníků, kteří mohou mít zvýšené riziko
onemocnět určitým typem malignity. Těm je pak nabídnuta
možnost genetického testování - detekce vrozených predis-
ponujících mutací příslušných za nádor odpovědných genů.
Pro nepostižené rizikové jedince jsou vypracovány podrobné
a pravidelné monitorovací programy jejich zdravotního
stavu, s cílem předejít onemocnění nádorem, případně jej dia-
gnostikovat v nejranějším období vývoje, kdy je terapeu-
ticky nejprístupnější.

Jsou také velmi dobře známé rodiny s nahromaděním nádoro-
vých onemocnění, které nesplňují monogenní typ dědičnosti
nádorové predispozice a ani mutační analýza nepřinese pozi-
tivní výsledek. Vysvětlení pravděpodobně spočívá v existen-
ci dosud neznámých predisponujících nízké penetrantních genů
nebo polymorfismů. Je třeba také uvažovat sdílení určitého
životního stylu v rodinách, který může k nádorovému one-
mocnění predisponovat. Příslušníci rodin s familiárním výsky-
tem nádorových onemocnění by měli být dispenzarizováni stej-
ným způsobem, odpovídajícím příslušným hereditárním
formám.

Význam rodinné anamnézy

Podezření na nádorovou rodinu určitého typu představují
typické charakteristiky rodokmenu. Pro některé hereditární
malignity jsou genealogická kritéria přesně stanovena (např.
u kolorektálního karcinomu – amsterdamská kritéria I, II,
Bethesda kritéria, u nádorů prsu a ovaria – kritéria v rodinách
bez židovských předků, v rodinách s židovskými předky (5),
genealogická kritéria Li-Fraumeni syndromu). Jejich splně-
ní také selektuje rodiny, kde je genetické testování plně indi-
kováno a může odhalit dosud nepostižené nosiče zárodečné
mutace.

Obecně lze říci, že k podezření na některý typ hereditárního
nádorového onemocnění vede opakovaný výskyt malignit
v několika generacích stejné genealogické linie (otcovská,
mateřská), výskyt malignit v nízkém věku (do 45 let), výskyt
nádorů bilaterálních nebo mnohočetných, nahromadění popu-
lačně vzácných nádorů.

Proto je potřebné dostatečně zdůraznit význam pečlivě ode-
brané rodinné anamnézy a její zhodnocení. Při respekto-
vání tohoto nepochybně „lege artis“ medicínského pravi-
dla je ošetřující lékař, onkolog nebo jiný klinický
specialista klíčovou osobou, která doporučí pacienta/rodi-
nu k vyšetření na genetickém oddělení. Následují další
vysoce specializované vyšetřovací i etické postupy, jak
uvádíme dále.

Syndromy s vrozenou nádorovou predispozicí

Popis syndromů s vrozenou nádorovou predispozicí by pře-
sahoval kapacitní možnosti sdělení. Proto uvádíme pouze
přehlednou tabulku (Tab.1) a pro podrobnější informace uvá-
díme čísla syndromů v databázi OMIM a odkazy na sou-
hrnné publikace, kde jsou uvedeny i postupy sledování rizi-
kových jedinců (4,6). Z tabulky je zřejmé, že hereditárních
nádorových onemocnění s rozvojem genomiky a odpovídá-
jících vyšetřovacích metod přibývá. Efektivita preventiv-
ních monitorovacích a terapeutických programů pro nepo-
stižené nosiče predisponujících mutací je nepochybná. Proto
některé národní odborné společnosti vydávají závazná dolo-

ručení pro vyhledávání rizikových jedinců a aplikaci onko-
logické péče (7).

Tab. 1. Syndromy zděděné nádorové predispozice
(Dle Garber JE, Offit K.: Hereditary cancer predisposition syn-
dromes. Journal of Clinical Oncology, 2005,23(2),276-292)

SYNDROM	NÁDORY	DĚDIČNOST	GENY
(č. v dat. OMIM)			
Syndromy hereditárního karcinomu prsu			
Hereditární karcinom prsu	ca prsu	dominantní	BRCA1
a ovaria (113705,600185)	ca ovaria		BRCA2
	ca prostaty		
	ca pankreatu		
	Fanconiho anemie/ meduloblastom	recesivní	BRCA2
Li-Fraumeni syndrom			
sarkomy měkkých tk.		dominantní	p53
(151623)	ca prsu		CHEK2
	osteosarkom		
	leukemie		
	mozkové nád.		
	adrenokortik. ca		
Cowdenův syndrom			
	ca prsu	dominantní	PTEN
(158350)	ca štítné žlázy		
	endometriální a		
	další ca		
Bannayan-Riley-			
Ruvalcaba sy	meningeom		
(153480)	nádory štítné		
	žlázy z follicul. bb		
Ataxia teleangiectatica			
	leukemie	recesivní	ATM
(208900)	lymfom		
Hereditární gastrointest. malignity			
HNPCC včetně			
Lynch II			
Syndromu	ca tračniku	dominantní	MHL1
(120435,	endometriální ca		MSH2
120436,114500,114400)	ca ovaria		MSH6
	ca ledvině pánevičky		
	ca ureteru		
	ca pankreatu		
	ca žaludku a tenkého		
	střeva		
	hepatobiliární ca		
Familiární polypóza			
	ca tračniku	dominantní	APC
včetně atenuované formy			
(175100)			
Hereditární ca žaludku			
	ca žaludku	dominantní	CDH1
(137215)			
Juvenilní polypóza			
	gastrointestinální ca	dominantní	SMAD4/
	ca pankreatu		BMPRI1A
(174900)			DPC4
Peutz-Jeghers sy			
	ca tračniku	dominantní	STK11
(175200)	ca tenkého střeva		
	ca prsu		
	ca ovaria		
	ca pankreatu		
Hereditární melanom			
	ca pankreatu	dominantní	CDKN2A/p16
ca pankreatický sy			
(606719)			
Hereditární pankreatitida			
	ca pankreatu	dominantní	PRSS1
(167800)			
Turcotův syndrom			
	ca tračniku	dominantní	APC
(276300)	ca z bazálních bb		MLH1

SYNDROM	NÁDORY	DĚDIČNOST	GENY
	ependymom		PMS2
	meduloblastom		
	glioblastom		
Familiární gastroint.	Gastrointestinální	dominantní	KIT
stromální nádor	stromální tumory		
(606764)			
Genodermatosy s nádorovou predispozicí			
Melanomové syndromy	maligní melanom	dominantní	CDKN2(p16)
(155600,155601,609048,			CDK4
608035)			CMM
Ca bazálních buněk	ca bazálních buněk	dominantní	PTCH
Gorlinův sy (109400)	mozkové nádory		
Cowdenův syndrom	viz výše	dominantní	PTEN
Neurofibromatosis 1	neurofibrosarkomy	dominantní	NF1
(162200)	feochromocytomy		
	gliomy optiku		
	meningeomy		
Neurofibromatosis 2	Vestibulární schwanomy	dominantní	NF2
(101000)			
Tuberosní skleroza	myokardiální	dominantní	TSC1
(191100)	rhabdomyomy		
	mnohočetné bilaterální		
	renální angiolipomy		
	ependymomy		
	renální ca		
	obrovskobuněčné		
	astrocytomy		
Carneyův komplex	myxoidní subcutánní	dominantní	PRKAR1A
(160980,605244)	nádory		
	primární adrenocortik.		
	nodulární hyperplasie		
	tumor testikulárních		
	Sertoliho buněk		
	předstíňový myxom		
	pituitární adenom		
	fibroadenom prsu		
	thyreoidální ca		
	Schwanom		
Muir Torre syndrom	subkutánní ca	dominantní	MLH1
(158320)	sebaceosní epitheliomy		MSH2
	sebaceosní adenomy		
	keratoakantomy		
	ca tračníku		
	ca laryngu		
	maligní gastrointest.		
	nádory		
	maligní nádory		
	genitourin. traktu		
Xeroderma pigmentosum	ca kůže	recesivní	XPA,B,C,D,E,F,G
(278.730,278700,278720	melanomy		POLH
278760,74740,278780	leukemie		
278750,133510)			
Rothmund Thomson	bazocelulární ca	recesivní	RECQL4
(268400)	skvamosní ca kůže		
	osteogenní sarkom		
Predisponující syndromy pro leukemie/lymfomy			
Bloomův syndrom	leukemie	recesivní	BLM
(210900)	ca jazyka		
	skvamosní ca		
	Wilmsův tumor		
	Ca tračníku		
Fanconiho anemie	leukemie	recesivní	FANCA,B,C
	skvamosní ca		FANCA,D2
	ca kůže		FANCE,F,G

SYNDROM	NÁDORY	DĚDIČNOST	GENY
	hepatomy		
Schwaman-Diamond	myelodysplazie	recesivní	SBDS
syndrom (260400)	akutní myelog.		
	leukemie		
Nijmegen breakage	lymfomy	recesivní	NBS1
syndrom (251260)	gliomy		
	meduloblastomy		
	rhabdomyosarkomy		
Canale-Smith	lymfomy	dominantní	FAS
syndrom (601859)			FASL
Syndromy s imunodeficiencí			
Wiskot-Aldrich	hematopoetické	recesivní X-linked	WAS
(301000)			
Variabilní imunitní	lymfomy	recesivní	neznámý
deficience (240500)			
Těžká kombinovaná	B buněčné lymfomy	X-linked recesivní	IL2RG
imunodefciencie		recesivní	ADA
102700,300400,			JAK3
312863,601457			RAG1
600802,602450			RAG2
			IL7R
			CD45
			Artemis
X-linked lymfopro-	lymfomy	X-linked recesivní	SH2D1A
liferativní sy			
(308240)			
Syndromy predisponující k genitourinárním malignitám			
Hereditární ca prostaty	ca prostaty	dominantní	HPC1
(176807,601518)			HPCX
			HPC2/ELAC2
			PCAP
			PCBP
			PRCA
Simpson-Golabi-Behmel	embryonální tumory	X-linked rec.	GPC3
syndrom (312870)	Wilmsův tumor		
von Hippel-Lindau	hemangioblastomy	dominantní	VHL
syndrom (193300)	retiny a CNS		
	ca ledviny		
	feochromocytomy		
Beckwith-Wiedemann	Wilmsův tumor	dominantní	CDKN1C
syndrom (130650)	hepatoblastom		NSD1
	adrenální ca		
	gonadoblastom		
Wilm's tumor sy	Wilmsův tumor	dominantní	WT1
(194070)			
WAGR : Wilmsův tu,	Wilmsův tumor	dominantní	WT1
aniridia,genitourin.	gonadoblastom		
abnormality, mentální			
retardace (194072)			
Birt-Hogg-Dubé	ledvinné tumory	dominantní	FLFC
Syndrom(135150)			
Ledvinný karcinom	ledvinný karcinom	dominantní	MET,PRCC
papilárních buněk	papilárních buněk		
(605046)			
Konstituční t(3;8)	ledvinný karcinom	dominantní	TRC8
translokace (603046)			
Hereditární ca	ca močového měchyře	sporadický	neznámý
močového měch.(109800)			
Hereditární testikulární	testikulární karcinomy	možná X-linked	neznámý
karcinom(273300)	možná	recesivní	neznámý
Rhabdoid predispoziční	rhabdoidní nádory	dominantní	SNF5/INI1
syndrom (601607)			
viz níže			
			viz níže

SYNDROM	NÁDORY	DĚDIČNOST	GENY
Syndromy predisponující ke karcinomům CNS a vaskulárního systému			
Hereditární para-	paragangliom	dominantní	SDHD
gangliom (185470,	feochromocytom		SDHC
115470,16800)			SDHB
Retinoblastom	retinoblastom	dominantní	RB1
(180200)	osteosarkom		
Rhabdoid predispo-	rhabdoidní nádory	dominantní	SNF5/INI1
ziční syndrom	meduloblastom		
(601607)	nádory chorioid. plexu		
	primitivní neuroecto-		
	dermální nádory		
Syndromy predisponující ke kostním sarkomům			
Mnočetné exostozy	chondrosarkom	dominantní	EXT1
(133700,133701)			EXT2
Leiomyom/renální	karcinom ledvin	dominantní	FH
karcinom (605839)	papilárních buněk		
	děložní leiomyosarkomy		
Carneyův komplex	viz výše		
Wernerův syndrom	sarkom/osteosarkom	resesivní	WRN
(277700)	meningeom		
Syndromy predisponující k endokrinním karcinomům			
MEN 1 (131100)	nádory pankreatických	dominantní	MEN1
	ostrůvků		
	hypofyzární adenomy		
	parathyroidální adenomy		
MEN 2 (171400)	medulární thyreoidální ca	dominantní	RET
	feochromocytom		
	parathyreoidální hyperplazie		
Familiární papilární	papilární thyreideální	dominantní	mnohotné lokusy
thyreoidální ca			
(188500)			

Genetické poradenství a testování

Genetické poradenství je obvykle charakterizováno jako komunikativní proces zabývající se lidskými i odbornými problémy spojenými s výskytem nebo rizikem výskytu geneticky podmíněného onemocnění v rodině. Cíle poradenství, lépe řečeno konsultací, jsou mnohostranné:

Klinický genetik musí vytvořit vztah důvěry s vyšetřovaným pacientem/rodinou i pro sdělování tabuizovaných dat významných pro stanovení genetické prognózy (např. mimopartnerské vztahy), je třeba zmírnit pocity zklamání či viny z komplikovaných životních situací při manifestaci genetické poruchy v rodině. Objasnit příčiny manifestace geneticky podmíněného onemocnění, posoudit a vysvětlit preventivní možnosti rekurence, její rizika, úskalí a limitace. Je nezbytné seznámit vyšetřované s klinickou prognózou onemocnění a možnostmi terapie. Významná je psychosociální podpora proti vzniku společenské izolovanosti. Klinický genetik musí prezentovat bezvýhradnou pomoc při realizaci rozhodnutí pacienta/rodiny, ke kterým dospívá a rozhodnutí respektovat ve smyslu nedirektivního genetického poradenství.

Je zřejmé, že genetické poradenství u nádorových onemocnění je mimořádně náročný proces, opírá se nejen o odborné zna-

losti klinického genetika, ale zejména o etický a empatický přístup k pacientům/rodinám. Ve vyspělých zemích je obecně dodržována minimálně dvoustupňová genetická konzultace (před event. genetickým testováním a po něm), ale v mnoha případech je praktikována opakovaná konzultace i za přispění klinického psychologa.

U nádorových onemocnění, tak jako i u jiných geneticky podmíněných postižení a chorob, klinický genetik nejprve pacientovi vysvětlí, proč je genetická konzultace nutná a sestaví nejméně třígenerační rodokmen. Je třeba ověřit genealogické údaje, diagnózu pacienta i dalších příbuzných. Na podkladě zhodnocení genealogie určí genetik pravděpodobnost genetické determinace maligního onemocnění a v indikovaných případech navrhne pacientovi (obvykle postiženého nádorem) genetické testování. Ne vždy je genetické testování vhodné (příslušný gen není znám, metodická obtížnost a pod). Naprosto nezbytnou součástí genetického testování musí být **podepsaný informovaný souhlas vyšetřovaného** s jeho provedením. Dokumentuje, že pacient byl srozumitelným způsobem informován o významu vyšetření pro něj a jeho rodinu. Není-li genetické testování možné, genetik stanoví empirická rizika onemocnění a doporučí další možná preventivní sledování pro rodinné příslušníky.

Genetické testování – mutační analýza - se provádí u pacienta postiženého nádorem z DNA extrahované z jeho periferní krve s cílem detekovat zárodečné mutace příslušných genů. Někdy se provádí, nebo doplňuje vyšetřením DNA z nádorové tkáně.

Při druhé genetické konzultaci sděluje genetik výsledek vyšetření pacientovi, přeje-li si výsledek znát. Pokud byla zárodečná mutace zjištěna, je na místě dohoda o eventuelním dalším testováním nepostižených příbuzných (presymptomatické testování), kteří jsou v riziku, že také mohou být nositeli zárodečné mutace. Opět platí, že je před testováním nutná genetická konzultace, podpis informovaného souhlasu a souhlasu se sdělením výsledku analýzy.

Některé rodiny o možné hereditární podmíněnosti nádorového onemocnění vědí, nebo jej oprávněně tuší podle častého výskytu maligních onemocnění v rodině. Není třeba zdůrazňovat, že negativní nález zárodečných mutací u rizikových příslušníků nádorové rodiny přináší velmi pozitivní informace, odstranění strachu, depresi apod. U jedinců s pozitivním výsledkem je třeba se zaměřit na monitorovací a terapeutické preventivní programy dle přesně stanovených klinických algoritmů.

Je samozřejmé, že o průběhu a výsledcích genetického vyšetření a testování je příslušný ošetřující lékař/klinický specialista, který pacienta, potažmo rodinu k vyšetření doporučil, informován. Je to právě on, kdo zajišťuje a vede preventivní programy vyplývající z genetických vyšetření.

Z uvedených skutečností je nepochybné, že onkologická péče o příslušníky nádorových rodin je záležitostí multidisciplinární a její konečný efekt záleží na nekomplikované a vstřícné spolupráci genetických a klinických specialistů.

Poděkování

Publikace byla podpořena VZ FNM 00000064203-6701 a MZ 00209805

Literatura

- Strachan T, Read AD. Human molecular genetics 3. Garland Science London, New York, 2004
- Goetz P. et al. Klinická genetika : Postgraduální medicína 4 (5), 2002
- Emery J, Lucassen A, Murphy M. Common hereditary cancers and implications for primary care. Lancet 2001; 358, (9275): 56-63
- Garber JE, Offit K. Hereditary cancer predisposition syndromes J Clin Oncol. 2005; 23 (2): 276-292

- Fady Khoury-Collado, Bonbard A. Hereditary breast and ovarian cancer: what the primary care physician should know. Obstet Gynecol Surv 2004; 59(7): 537-542
- Goetz P. Genetika a nádory s. 43-56. V Koutecký J a spol. Klinická onkologie, 2004. Riopress Praha
- American Society of Clinical Oncology Policy Statement Update: Genetic Testing for Cancer Susceptibility. J Clin Oncol. 2003; 21(12): 2397-2406

GENETICKÁ PREDISPOZICE KE VZNIKU MALIGNÍHO NÁDORU PRSU

GENETIC SUSCEPTIBILITY TO BREAST CANCER

MACHÁČKOVÁ E.^{1,*}, PLEVOVÁ P.^{2,3,*}, LUKEŠOVÁ M.¹, VAŠÍČKOVÁ P.¹, ŠILHÁNOVÁ E.², FORETOVÁ L.¹

¹ODDĚLENÍ EPIDEMIOLOGIE A GENETIKY NÁDORŮ, MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

²ODDĚLENÍ LÉKAŘSKÉ GENETIKY, FNŠP OSTRAVA-8

³ÚSTAV PATOLOGIE & LABORATOŘ MOLEKULÁRNÍ PATOLOGIE, LF UP OLOMOUC

*Autoři se na této práci podíleli rovnocenně.

Souhrn

Nádor prsu je jedním z nejčastěji diagnostikovaných maligních onemocnění u žen západního světa, kde je tímto onemocněním postižena každá desátá žena. Přibližně 5-7% nádorových onemocnění prsu vzniká na základě genetické predispozice. Dědičné případy nádoru prsu bývají diagnostikovány v relativně mladém věku, přičemž u postižených žen je vysoké riziko vzniku duplexního nádoru prsu nebo ovaria. Hlavní příčinou genetické predispozice ke vzniku nádoru prsu a ovaria jsou mutace v genech BRCA1 a BRCA2. V tomto přehledovém článku se pokusíme podat aktuální přehled o příčinách genetické predispozice ke vzniku nádoru prsu a ovaria, o biologické funkci genů BRCA1 a BRCA2, histopatologické charakteristice a možných specifických aspektech prevence a léčby u nosičů zárodečné mutace.

Klíčová slova: BRCA1, BRCA2, genetická predispozice, nádor prsu, nádor ovaria

Summary

Breast cancer is the most frequent malignancy diagnosed in women in the western world, affecting approximately 1 in 10 women. Estimated 5-7% of all breast cancers can be of hereditary origin. Familial cases of the breast cancer are characterised by relatively young age at diagnoses, an increased risk of bilateral breast cancer, and a strong association with ovarian cancer. Inherited mutations in BRCA1 and BRCA2 are the major reason for the genetic predisposition to these cancers. Here, we summarised what is known about the genetic susceptibility to breast and ovarian cancers, biological functions of the BRCA1 and BRCA2 genes, histopathological features, specific preventive and therapeutic intervention of the cancers in mutation carriers.

Key words: BRCA1, BRCA2, genetic susceptibility, breast cancer, ovarian cancer

Hereditární a familiární formy nádoru prsu

Nádor prsu představuje komplexní multifaktoriální onemocnění, jehož vznik je podmíněn interakcí genetických faktorů a vlivu prostředí. Představuje v současné době jedno z nejčastěji diagnostikovaných maligních onemocnění u žen nejen v České republice. V naší populaci přibližně každá desátá žena onemocní během svého života nádorem prsu. Při odhadu relativního rizika onemocnění je třeba brát v úvahu věk, gynekologické a endokrinologické události v životě ženy, životní styl, vliv prostředí a v neposlední řadě rodinnou anamnézu. Převážná většina případů nádoru prsu se vyskytuje u žen v menopauze sporadicky, bez rodinného výskytu. Asi u 15 procent nově diagnostikovaných případů však lze zdokumentovat výskyt nádoru prsu u příbuzné prvního nebo druhého stupně. Výskyt nádoru prsu v rodinné anamnéze ženy je bezesporu významným rizikovým faktorem. Žena, která má jednu příbuznou prvního stupně diagnostikovanou s nádorem prsu, má riziko onemocnění zhruba 2- násobně vyšší než je riziko běžné populace. Toto riziko však dále narůstá, pokud nádorem prsu onemocněla mladá žena. Obecně lze říci, že riziko vzniku nádoru prsu u ženy, odhadované podle rodinné anamnézy, roste se snižujícím se věkem v době diagnózy a vzrůstajícím počtem postižených příbuzných v rodině (1). Výši tohoto rizika lze odhadnout podle tzv. Clausových tabulek (2, 3).

V závislosti na velikosti rodiny a věku postižených v době diagnózy bývají rozlišovány **familiární** (2-3 násobné zvýšení rizika vzhledem k populaci) a **hereditární** (více než 3 násobné zvýšení rizika) formy nádoru prsu.

Diagnózu hereditární formy nádoru prsu lze stanovit v případě rodiny, kde je evidováno několik postižených příbuzných, jejichž věk v době diagnózy je výrazně nižší než v případě sporadických nádorů prsu, je zde zvýšené riziko bilaterálního nádoru a často přidružený nádor vaječníků. U převážné části rodin s mnohočetným výskytem nádoru prsu v několika generacích lze segregaci analýzou prokázat autozomálně dominantní dědičnost. Takovéto případy bývají způsobeny monogenní genetickou predispozicí a tvoří jen asi 5-7% z celkového počtu diagnostikovaných nádorů prsu (4). Genetická predispozice je zde způsobena poškozením vysoce penetrantního genu.

Diagnóza familiární formy nádoru prsu zahrnuje rodiny, ve kterých je incidence nádoru prsu vyšší než v běžné populaci, ale nejsou zde splněny podmínky pro označení hereditárního syndromu. Ke kumulaci nádorů může docházet v důsledku kombinace rizikových negenetických faktorů a vlivu alternací v genech s nízkou penetrancí. Genetické variace (DNA sekvenční varianty) v několika metabolických a detoxikačních enzymech, ve složkách hormonální signální dráhy, v protoonkogenech a v DNA reparačních genech mohou mít vliv na nádorovou predispozici (5, 6, 7). U některých z těchto rodin však může být autozomálně dominantní dědičnost pouze skryta z důvodu malého počtu příbuzných nebo převahy mužů v rodokmenu.

Geny BRCA1 a BRCA2

Během posledních 15 let bylo vyvinuto značné úsilí s cílem identifikovat geny zodpovědné za monogenně podmíněnou genetickou predispozici k nádoru prsu. V roce 1990 byl pomocí

vazebné analýzy lokalizován gen *BRCA1* v oblasti 17q12-21, zodpovědný za segregaci onemocnění u přibližně poloviny mnohočetně postižených rodin s výskytem nádoru prsu v mladém věku (8). Sekvence genu *BRCA1* byla dokončena metodou pozičního klonování o 4 roky později (9). Při použití vysoce rizikových rodin, které nevykazovaly vazbu ke genu *BRCA1*, byl v roce 1994 lokalizován gen *BRCA2* v oblasti 13q12-13 a o rok později byla zveřejněna jeho sekvence (10, 11).

Geny *BRCA1* a *BRCA2* jsou velké (1863 a 3418 aminokyselin), sekvenčně nepříbuzné jaderné fosfoproteiny. Jsou přítomné ve všech tkáních a jejich exprese a stupeň fosforylace závisí na fázi buněčného cyklu. Nejvyšší exprese mRNA genů *BRCA1* a *BRCA2* je při přechodu z G1 do S fáze buněčného cyklu a během M fáze je mRNA obou genů degradována. Zvýšená exprese byla pozorována u proliferujících buňkách a po působení estrogenů (12, 13, 14). Geny *BRCA1* a *BRCA2* mají 2 homologní oblasti v promotorových oblastech, které umožňují regulaci společnými faktory (15).

Tabulka 2. shrnuje nejdůležitější popsané proteiny interagující přímo s proteinem *BRCA1* a/nebo *BRCA2*, od nichž byla odvozena a později experimentálně prokazována funkce *BRCA1* a *BRCA2*.

Geny *BRCA1* a *BRCA2* kódují multifunkční proteiny a jsou řazeny do skupiny tzv. strážných („caretakers“) genů, které jsou významné pro udržení integrity a stability genomu (22). Proteiny *BRCA1* a *BRCA2* jsou součástí multiproteinových komplexů fidičních homologní rekombinaci a reparační procesy indukované poškozením DNA, podílí se na lokální remodelaci chromatinu, regulaci transkripce a regulaci buněčného cyklu (16, 17). Zatímco hlavní úloha proteinu *BRCA2* spočívá v regulaci funkce rekombinázy *RAD51* při opravách zlomů dvouvláknové DNA, *BRCA1* má odlišnou, obecnější funkci jako zprostředkovatel mezi detekcí/signalizací a výkonnými komponentami odpovědi na poškození dvouvláknové DNA (19). Tvorba stabilního komplexu mezi proteiny *BRCA1* a *BRCA2* nebyla experimentálně prokázána. Oba *BRCA* proteiny jsou pravděpodobně součástí různých multiproteinových komplexů, kde spojovacím článkem je vazba s proteinem *RAD51* a účast při homologní rekombinaci a reparačních procesech v buňce. Protein *BRCA1* je pravděpodobně důležitým spojovacím článkem mezi komplementárními způsoby reparační poškozené DNA a zároveň hraje důležitou roli v řízení apoptózy prostřednictvím drah zprostředkovaných proteiny *p53* a *c-Abl* (21).

Úloha proteinu *BRCA2* se jeví přímo provázaná s homologní rekombinací. Bylo prokázáno, že protein *BRCA2* reguluje intracelulární lokalizaci proteinu *RAD51*, který je naprosto nezbytný pro správný průběh homologní rekombinace. *RAD51* je prostřednictvím proteinu *BRCA2* transportován z cytoplazmy do jádra a pak do míst poškození DNA (23).

Zdědění jedné poškozené alely genu *BRCA1* nebo *BRCA2* je dostatečné k vyvolání nádorové predispozice. V nádorech pacientů se zárodečnou mutací genů *BRCA1* nebo *BRCA2* byla pozorována ztráta heterozygosity (LOH). V nádorech se vyskytovala pouze mutovaná alela genu (24, 25). Inaktivace obou kopií genů *BRCA1* nebo *BRCA2* způsobuje narušení reparačních procesů v buňce, dochází k hromadění mutačních změn a může vyústit až v maligní zvrhnutí buňky (22).

V roce 1998 byly publikovány mezinárodní souhrnné výsledky vazebné a mutační analýzy vysoce rizikových rodin se 4 a více příbuznými s (diagnostikovaným) nádorem prsu, které ukázaly, že v 52% byl za onemocnění zodpovědný gen *BRCA1*, u 32% rodin gen *BRCA2* a v 16% nebyla nalezena souvislost onemocnění s geny *BRCA1* nebo *BRCA2* (Ford et al., 1998). Mutační analýza odhalila několik stovek různých mutací rozptýlených v celé sekvenci obou genů (Breast Cancer Information Core Database: <http://research.nhgri.nih.gov/bic/>).

Mutace, které způsobují předčasnou terminaci translace proteinů *BRCA1* a *BRCA2*, jsou patogenní. V případě genu *BRCA1* se na C-terminálním konci proteinu nachází důležitá

funkční doména (BRCT doména, lokalizována v pozici kódonu 1818-1855) a bylo prokázáno, že i mutace, která způsobí ztrátu pouze posledních 10 aminokyselin proteinu *BRCA1*, způsobuje predispozici ke vzniku nádoru prsu a ovária (26). V případě genu *BRCA2* jsou nefunkční všechny mutace způsobující předčasnou terminaci translace, které jsou lokalizovány před jadernou lokalizační sekvencí na C-terminálním konci genu. Znemožní totiž transport zkráceného proteinu *BRCA2* z cytoplazmy do jádra (27).

Odhady rizika byly u dřívějších prací stanoveny převážně u vysoce rizikových rodin s velkým počtem postižených příbuzných jedinců (minimálně tři postižení příbuzní prvního stupně). Následné práce, které zahrnují také mírněji selektovanou skupinu rizikových rodin, vykazují spíše nižší odhady rizika. Tyto rozdíly pravděpodobně představují vliv genetického pozadí jedinců, jako jsou variace v genech reparačních, signalizačních, metabolických a detoxikačních drah (6, 36). Například zvýšené riziko onemocnění kolorektálním karcinomem se dává do souvislosti s kooperací proteinů *BRCA1* a *BRCA2* s proteiny systému oprav chybného párování bází, především hMSH2 a hMSH6 v rámci potranskripčních oprav (18).

Vzhledem k multifunkčnosti *BRCA* proteinů a komplexitě nádorového onemocnění zůstává odlišení patogenních missense mutací od vzácných polymorfních variant problematické. V současné době lze s jistotou označit jako patogenní pouze několik desítek missense mutací, které se nacházejí ve vysoce konzervativních oblastech, u kterých bylo prokázáno, že segregují v postižených rodinách s nádorovým onemocněním, a u kterých bylo experimentálně prokázáno narušení funkčně důležité domény nebo narušení významné interakce protein-protein. Další stovky vzácných missense variant zůstávají klasifikovány jako varianty nejasného významu.

Pokusy o sestavení korelace mezi dědičností konkrétní mutace v *BRCA* genech a výsledným fenotypem nádorového onemocnění selhávají. Riziko nádorového onemocnění u nosičů mutace je modifikováno dalšími genetickými i negenetickými faktory (37, 38). Ilustrativním příkladem je studie z geneticky poměrně homogenní islandské populace. Na Islandu je za většinu případů dědičného výskytu nádoru prsu odpovědná mutace 999del5 v genu *BRCA2*. Mezi jednotlivými rodinami, zatíženými touto mutací, byly pozorovány výrazné rozdíly ve stupni penetrance, věku u době diagnózy a také v histologickém typu nádoru prsu u predisponovaných jedinců (39).

Odhady frekvence výskytu mutací genů *BRCA1* a *BRCA2* v USA se pohybují mezi 1/150 až 1/800 (40). V některých etnických skupinách je jejich prevalence mnohem vyšší, například u Židů Ashkenazi až 1/50 (38). Vysoká prevalence v určitých skupinách souvisí s přítomností „founder“ mutací, tedy jednou či více specifických mutací, které byly zděděny od společného předka a k jejichž rozšíření často pomohla geografická izolace příslušné populace. Zatímco v populaci Židů Ashkenazi je možné vyšetřovat jen dvě mutace v genu *BRCA1* a jednu v *BRCA2*, které tvoří více než 90% všech mutací, v etnicky smíšené populaci Evropy, Asie a Severní Ameriky je nezbytné provádět skríning celých sekvencí obou genů (40).

Nádory prsu jako součást jiných syndromů dědičné predispozice ke vzniku nádorového onemocnění

Pouze frekvenčně malá část hereditárních nádorů prsu se vyskytuje v souvislosti s jinými známými dědičnými nádorovými syndromy - viz. Tabulka 4.

U vzácných dědičných nádorových syndromů shrnutých v Tabulce 4. by měl zkušený genetik podle spektra nádorů u postižených příbuzných vytipovat odpovědný gen.

Mutace genů *BRCA1* a *BRCA2* jsou odpovědné za majoritní část případů vysoce penetrantní dědičné predispozice ke vzniku karcinomu prsu a ovária (30).

Stále však zůstává významný počet postižených rodin s predispozicí ke vzniku nádoru prsu, které prokazatelně nejsou

způsobeny žádným z výše zmíněných genů. V současné době probíhají intenzivní mezinárodní studie s cílem lokalizovat nové geny velkého účinku - neboli vysoce penetrantní geny, které by mohly způsobovat dědičnou predispozici ke vzniku nádoru prsu. Kandidátní geny, vytvářené pomocí vazebné analýzy bývají označovány jako *BRCA* nebo *BRCA3*. Některé DNA sekvenční varianty ve výše zmíněných genech mohou způsobit mírnější zvýšení rizika pro vznik nádorového onemocnění. Tyto varianty bývají popisovány jako nízko penetrantní alely, ale jsou často v populaci zastoupeny s frekvencí vyšší než 1%. V současné době byla popsána mutace 1100delC v *CHEK2* genu, která se u postižených jedinců projevuje přibližně dvojnásobným zvýšením rizika ve srovnání s běžnou populací (41).

Jiným příkladem pravděpodobných nízko penetrantních alel mohou být varianty p.Arg72Pro v p53 genu nebo varianta p.R841W v *BRCA1* genu (42). Prokazování míry významnosti jednotlivých sekvenčních variant je však značně komplikované a jednotlivé studie mohou docházet k rozdílným závěrům. Jako geny malého účinku neboli nízko penetrantní geny bývají označovány geny, ve kterých některé sekvenční varianty mohou být asociovány s malým nebo středním rizikem pro vznik nádoru prsu. Jako nízko penetrantní geny jsou v souvislosti s rizikem pro vznik nádoru prsu zmiňovány geny cytochromu P450 (*CYP1A1*, *CYP2D6*, *CYP17*, *CYP19*), glutathion S-transferázová rodina genů (*GSTM1*, *GSTP1*, *GSTT1*), geny metabolismu a detoxikačních drah (*ADH1C*, *NAT1*, *NAT2*, *MTHFR*), geny hormonálních signálních drah (*PR*, *ER*, *TNFA*, *HSP70*), geny excizní DNA reparace (*XRCC1*, *XRCC3*, *ERCC4/XPF*), protoonkogeny (*HER-2*, *HRAS1*, *L-myc*) (5, 6, 7, 42).

Charakteristika nádorů prsu vzniklých na podkladě zárodečných mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2*

Fenotyp nádorů prsu pacientek s mutacemi genu *BRCA1* je do jisté míry charakteristický. Nádory bývají často medulární, atypické medulární nebo duktální karcinomy s nebo bez medulárních rysů. V případě duktálních karcinomů se velmi často jedná o nízko diferencované karcinomy (43, 44). Často bývá zjišťován také bazální fenotyp charakterizovaný expresí epitelálních cytokeratinů 5, 6 a 14 (45, 46). Nádory lobulárního typu se u těchto pacientek vyskytují méně často. Ve většině případů se jedná o nádory s negativitou estrogenových a progesteronových receptorů, androgenového receptoru a *c-erbB-2* (47, 48, 49). Z biologického hlediska je pro ně typická vysoká mitotická aktivita, aneuploidie (tj. jiný než normální počet chromozomů) a vysoké procento buněk v S-fázi. Cyklin D1 je v nádorech těchto žen exprimován méně často než v nádorech sporadických. Bývá zjišťována vyšší exprese proteinu p53 a vyšší frekvence somatických mutací genu p53. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl v expresi EGFR, katepsinu D, bcl-2, p27 a E-cadherinu (47, 48, 50, 51).

Pro některé z výše uvedených charakteristik existují hypotetická vysvětlení, vycházející z funkcí proteinu. Protein *BRCA1* inhibuje signální dráhu estrogenových receptorů a aktivovanou estrogeny (52). Tato signální dráha se může stát konstitutivně aktivní v buňkách deficitních na *BRCA1* a může dojít k indukci ztráty exprese estrogenových receptorů (19).

Zatímco ve sporadických nádorech prsu je protein *c-erbB-2* nadměrně exprimován či gen *c-erbB-2* amplifikován ve 20-30% případů (53), v nádorech prsu u nosiček mutací v genu *BRCA1* bývá exprese/amplifikace *c-erbB-2* ve většině případů negativní (49, 54). Pro vysvětlení této skutečnosti existuje více hypotéz. Geny *BRCA1* a *c-erbB-2* jsou lokalizovány v těsné blízkosti na chromozomu 17 (17q11-21), tedy v oblasti, která je v těchto nádorech často postižena ztrátou heterozygotnosti. Jedním vysvětlením relativně nízkého výskytu amplifikace *c-erbB-2* v nádorech pacientek s mutací v genu *BRCA1* by mohla být delece jedné alely genu (55). Podle jiné hypotézy může vést mutace a/nebo ztráta heterozygotnosti lokusu

BRCA1 k potlačení amplifikace *c-erbB-2* v důsledku abnormální konformace chromatinu na 17q (56).

Mutace genu *p53* jsou nejčastějšími genetickými změnami v lidských nádorech a bývají detekovány ve 20-40% sporadických nádorů prsu. V nádorech prsu na podkladě zárodečných mutací genů *BRCA1* a *BRCA2* jsou mutace genu *p53* detekovány častěji než v nádorech sporadických (50). Spektrum mutací v těchto nádorech je oproti nádorům sporadickým také odlišné (57). Pro transformaci buněk deficitních na *BRCA* by mohly být důležité mutace inaktivující určité funkce proteinu p53 (19).

Výsledky mnoha studií ukázaly, že nádory prsu u žen s mutacemi genu *BRCA2* nemají charakteristický fenotyp. Podobají se nádorům sporadickým (47).

Klíč k pochopení rozdílů ve fenotypu nádorů souvisejících s mutacemi obou genů lze hledat v rozdílných funkcích obou proteinů. Do jisté míry specifický fenotyp nádorů nosiček mutací v genu *BRCA1* by mohl souviset se tím, že jeho určitá funkce je zcela zásadní pro určité pochody v buňce. Inaktivace genu se pak projeví charakteristickými rysy nádoru.

Vzhledem k tomu, že v některých indikačních skupinách je pravděpodobnost nálezu mutace v genech *BRCA1* nebo *BRCA2* relativně nízká (například u žen s nádory prsu pod 40 let bez pozitivní rodinné anamnézy přibližně 10%), zaměřily se některé skupiny na využití histopatologických charakteristik ke zvýšení pravděpodobnosti nálezu mutace. Negativita estrogenových receptorů v nádoru přibližně zdvojnásobuje pravděpodobnost, že žena bude nosičkou mutace v genu *BRCA1*, zatímco pozitivita jejich exprese tuto pravděpodobnost snižuje přibližně pětkrát (58, 59). Chang a spol. sledovali prediktivní hodnotu současné negativity exprese estrogenových receptorů a nízké diferenciace nádoru u pacientek ve věku pod 45 let. Čtvrtina pacientek, jejichž nádor byl negativní v expresi estrogenových receptorů a současně nízko diferencovaný, nesla mutaci v genu *BRCA1*. Pouze 5,4% nádorů pacientek s mutací genu *BRCA1* nemělo tento morfologický profil oproti 94,4% nádorů pacientek bez mutace genu *BRCA1* (59).

V nádorech pacientek s mutací v genu *BRCA1* bývá často zjišťována současná negativita exprese hormonálních receptorů a *c-erbB-2*. Nově byla kombinace těchto dvou parametrů doplněna také současnou pozitivitou exprese cytokeratinu 5/14, který je normálně exprimován v bazálních epitelálních vrstvách vývodů prsní žlázy (46). Kombinace těchto faktorů by mohla představovat další prediktivní faktor, který by zvyšoval pravděpodobnost nálezu mutace v genu *BRCA1* (46, 48). Lze tedy říci, že histopatologické charakteristiky představují relativně silný prediktivní faktor nosičství mutace v genu *BRCA1*, který upřesňuje hodnocení rizika na podkladě rodinné anamnézy karcinomu prsu a vaječníků (48). Toto však neplatí v případě mutací genu *BRCA2*.

Oboustranné karcinomy prsu (jak synchronní tak metachronní) jsou často shodné histologicky s ohledem na typ nádoru, grading a expresi estrogenových receptorů (40).

Ve srovnání s nádory sporadickými je pro nádory prsu nosiček mutací v *BRCA* genech z klinického hlediska typický nižší věk při diagnóze onemocnění a vyšší incidence bilaterálních nádorů v porovnání s nádory sporadickými (40). Vzhledem k agresivnímu histopatologickému fenotypu nádorů prsu nosiček mutací v genu *BRCA1* by se dala očekávat horší prognóza těchto pacientek. Avšak řada studií prokázala, že prognóza pacientek s mutacemi *BRCA* genů je srovnatelná s pacientkami se sporadickými nádory. V několika studiích byla prognóza těchto pacientek horší. V žádné studii nebylo zjištěno lepší přežívání pacientek s mutacemi *BRCA* genů (60, 61, 62). Mnohé z rysů, které jsou typické pro nádory nosiček mutací v genu *BRCA1* (časný věk, nízká diferenciace nádorů, aneuploidie, velký počet buněk v S-fázi) bývají zjišťovány také u mladých žen s anamnézou časného a protražovaného užívání vysokých dávek hormonální antikoncepce, což svědčí pro skutečnost, že hormonální faktory mohou indukovat proces

kancerogeneze, jehož důsledkem je vznik nádorů obdobných jako v případě mutací genu *BRCA1*. Pro tyto nádory dáváno do souvislosti s užíváním hormonální antikoncepce však bývá typická amplifikace genu *c-erbB-2* (63).

Pacientky s mutacemi *BRCA* genů, které onemocní ovariálním karcinomem, mají lepší prognózu než pacientky se sporadickým nádorem vaječníků. Je to pravděpodobně způsobeno lepší odpovědí na chemoterapii, pro což svědčí jak klinická pozorování tak testy lékové rezistence *in vitro* (64).

Specifické aspekty klinické péče o nosičky/nosiče zárodečných mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2*

Péče o pacientky/pacienty s mutacemi genů *BRCA1* a *BRCA2*, ať již symptomatické či asymptomatické, byla již v naší literatuře velmi podrobně popsána (65, 66). Proto jsme se v této souvislosti zaměřili pouze na určité doplňující aspekty této problematiky.

Primární prevence

Některé reprodukční faktory mohou modifikovat riziko vzniku karcinomu prsu u nosiček mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2*. Kojení po dobu jednoho roku a více (kumulativně) snižuje riziko vzniku karcinomu prsu přibližně o polovinu u nosiček mutací v genu *BRCA1*, ale nikoli *BRCA2* (67). Zvýšená parita je rizikovým faktorem u nosiček mutací v genu *BRCA2*, ale nikoli *BRCA1* (40). Mírné zvýšení rizika karcinomu prsu bylo pozorováno u žen, které užívaly hormonální antikoncepci déle než 5 let (68). Tato pozorování jsou výsledky jednotlivých studií a je nutné je ověřit.

Ze současných antihormonálních přístupů, tedy selektivních modulátorů estrogenových receptorů (SERM), ovarektomie a inhibitorů aromatáz, byly v kontextu mutací genů *BRCA1* a *BRCA2* studovány pouze tamoxifen a ovarektomie. Otázka podávání tamoxifenu jako chemoprevence karcinomu prsu u nosiček mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2* zůstává kontroverzní. (41). Výsledky jedné retrospektivní studie nasvědčovaly tomu, že adjuvantní léčba tamoxifenem u nosiček mutací *BRCA1* genu s nádory s pozitivitou hormonálních receptorů snižuje riziko vzniku kontralaterálního karcinomu prsu o 50%, stejnou měrou jako u pacientek bez mutací genů (69). Naopak výsledky studie NSABP-P1 (National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P1) zaměřené na chemoprevenci tamoxifenem neprokázaly snížení rizika vzniku prvního karcinomu prsu u nosiček mutací genu v *BRCA1*, což je dááno do souvislosti s častou negativitou exprese estrogenových receptorů v *BRCA1* nádorech (70).

Ovarektomie provedená premenopauzálně snižuje riziko vzniku karcinomu prsu asi o 50% (71). Ovarektomií ve věku pod 40 let lze dosáhnout dalšího snížení rizika (40). Provedení ovarektomie také řeší otázku vysokého rizika onemocnění karcinomem vaječníků a snižuje riziko onemocnění tímto nádorem o více než 95% (72). Provedení oboustranné ovarektomie ve věku kolem 35–40 let je v současné době považováno za metodu první volby u nosiček mutací v genu *BRCA1*, které mají děti. U nosiček mutací v genu *BRCA2* se ovariální karcinom vyskytuje vzácně ve věku pod 50 let. Jako prevence ovariálního karcinomu je u nich doporučováno provedení výkonu ve věku kolem 50 let (73), avšak jde-li o prevenci karcinomu prsu, výkon by měl být proveden dříve. Nosičství mutací v *BRCA* genech je spojeno také s rizikem vzniku tubárních nádorů, proto by měly být při ovarektomii odstraněny i vejcovody (73). Krátkodobé podávání estrogenů u mladých žen po ovarektomii může snížit protektivní účinek výkonu, avšak je spojeno s výrazným zlepšením kvality života. V současnosti probíhají studie zaměřené na relativní riziko vzniku karcinomu prsu spojené s hormonální substituční léčbou u mladých nosiček mutací v *BRCA* genech.

Zatím nejsou dostupné údaje o stupni protektivního účinku jiných forem ovariální ablace, tj. ozářením a agonisty gonadotropin relasing hormonu (GnRH). Agonisté GnRH by moh-

ly být preferovány ženami, které si přejí zachovat fertilitu, avšak podávání těchto léčiv u nosiček mutací v *BRCA* genech není běžné a jejich účinnost na snížení rizika karcinomu prsu není známa. Dalším faktorem u těchto postupů je skutečnost, že neřeší vysoké riziko vzniku tubárních a ovariálních karcinomů (40).

Jedinou účinnou metodou, která může zabránit mortalitě spojené s karcinomem prsu u nosiček mutací v *BRCA* genech, je profylaktická mastektomie (73). Reziduální riziko karcinomu prsu po tomto výkonu je téměř nulové (74). V současné době je dáána přednost totální mastektomii před subkutánní nebo bradavku šetřící mastektomií. Údaje o selhání subkutánní mastektomie jsou většinou anekdotické a jsou popisovány ve starší literatuře. Technické pokroky v metodách šetřících kůže a dostupnost svalových laloků nebo implantabilních protéz rozšířila chirurgické možnosti pro ženy, které tento výkon zvažují (40). Nevýhodou výkonu je jeho zatížení morbiditou a možné sexuální problémy (73, 75).

Sekundární prevence

Cílem skriningových opatření je záchyt karcinomu prsu ve stádiu, kdy je vysoce pravděpodobné vyléčení chirurgicky, tedy primárního nádoru o velikosti do 1 cm, s negativitou lymfatických uzlin a bez známek vzdálených metastáz. Podrobná doporučení ke sledování osob s mutacemi *BRCA* genů byla v naší literatuře publikována (65). V této souvislosti je nutno zdůraznit význam fyzikálního vyšetření, ať již samovyšetřování či vyšetření klinikem (73). Nádory u nosiček mutací v *BRCA* genech jsou obtížné detekovatelné pomocí mamografie, senzitivita vyšetření se pohybuje od 44 do 70% (76). Ženy sledované mamografií mají poměrně vysoké riziko rozvoje lokálně metastatického onemocnění, které dosahuje až 13% (73). Vyšší senzitivita byla opakovaně popsána u ultrazvukového vyšetření oproti mamografii (77, 78). Velice slibné je vyšetření prsou pomocí nukleární magnetické rezonance, jehož senzitivita se pohybuje mezi 71% a 100% (79, 40). Nevýhodou tohoto vyšetření je přibližně 10%-ní výskyt falešně pozitivních výsledků (80). Nahrazení mamografie nukleární magnetickou rezonancí při skriningu nosiček mutací v *BRCA* genech by mohlo být teoreticky výhodné také vzhledem k hypersenzitivitě buněk s inaktivací obou alel genu *BRCA2* k poškození ionizujícím zářením zjišťované *in vitro* (81). Avšak empirické údaje nespovídají pro skutečnost, že by mamografie nebo terapeutické ozáření byly v tomto ohledu rizikové (viz také dále; 40).

Skrining ovariálního karcinomu pomocí markru CA-125 a abdominálního ultrazvuku je běžně navrhován jako metoda snižující mortalitu díky včasné detekci nádoru. Výsledky dostupných studií však nejsou optimistické, neboť velká část nádorů je diagnostikována ve stádiu III nebo IV a ani CA-125 ani ultrazvuk nejsou dostatečně citlivé pro záchyt onemocnění ve stádiích I nebo II. Z těchto důvodů je jednoznačně doporučováno provedení ovarektomie (40).

Vzhledem k různým možnostem prevence karcinomu prsu a vaječníků by pacientky měly být podrobně informovány o všech výhodách a nevýhodách jednotlivých metod, aby se mohly rozhodnout pro některou z nich. Rozhodnutí o prevenci karcinomu prsu velmi záleží také na psychosociálním zázemí pacientky a proto by poradenství nemělo být direktivní (73).

Léčba

V současné době se léčba většiny pacientek s nádory prsu na podkladě hereditární predispozice liší minimálně od pacientek se sporadickými nádory. Avšak vzhledem k tomu, že nosičky mutací v *BRCA* genech mají desetileté riziko vzniku kontralaterálního karcinomu prsu 32% a karcinomu vaječníků 13%, mohou se ženy s nádory prsu ve stádiu I nebo II iniciál-

ně rozhodnout, že podstoupí profylaktickou ovariectomii a/nebo oboustrannou mastektomii jako součást léčebného plánu za předpokladu, že je k dispozici výsledek mutační analýzy. Ovariectomie snižuje nejen riziko primárních nádorů prsu, ale také lokálních recidiv a kontralaterálních nádorů prsu. Předběžně se také zdá, že nádory prsu, které vzniknou u žen po ovariectomii, nemají tak agresivní fenotyp jako nádory u žen s intaktními ovárii (40). Co se týče radioterapie nebo chemoterapie, nejsou dostupné validní studie, které by srovnávaly a hodnotily různé léčebné přístupy k léčbě nádorů prsu na podkladě hereditární predispozice (40). Radioterapie nezvyšuje riziko vzniku nádoru v druhostranném prsu a výskyt místních reakcí při radioterapii není u nosiček mutací v *BRCA* genech častější než u ostatních žen. Také frekvence lokálních recidiv se u těchto pacientek neliší oproti pacientkám bez mutací genů (82). Nádory prsu vzniklé na podkladě zárodečných mutací v *BRCA* genech mají stejnou pravděpodobnost, že budou sterilizovány adjuvantní léčbou ozáření, jako nádory nedědičné, avšak tkáň prsu zůstává riziková v důsledku dědičné predispozice. Konzervativní léčba zůstává možností volby pro ženy s mutacemi *BRCA* genů, je však nutné, aby tyto ženy byly monitorovány na výskyt sekundárních primárních nádorů (40). Nádory prsu pacientek s mutacemi genu *BRCA1* jsou pravděpodobně vysoce citlivé na některá cytostatika včetně mitomycinu a cis- platiny a na adjuvantní i neoadjuvantní chemoterapii, pravděpodobně v důsledku neschopnosti nádorových buněk opravovat účinně poškození DNA. Tyto nádory jsou rezistentní k taxanům, což by mohlo souviset s úlohou proteinu *BRCA1* v apoptotické odpovědi (40). Vzhledem k časté negativitě exprese estrogenových a progesteronových receptorů lze u pacientek se zárodečnými

Tabulka 1. Diagnostická kritéria u hereditárního a familiárního nádoru prsu.

Hereditární nádor prsu
Diagnóza nádoru prsu (a/nebo ovaria)
1) u alespoň 3 příbuzných prvního stupně (nebo druhého stupně v případě paternální dědičnosti)
2) v alespoň 2 po sobě jdoucích generacích
3) u alespoň jednoho příbuzného pod 50 let
Familiární nádor prsu
Diagnóza nádoru prsu
1) u alespoň 2 příbuzných prvního stupně (nebo druhého stupně v případě paternální dědičnosti)
2) ale nesplňují kritéria pro hereditární nádor prsu

Tabulka 3. Odhady kumulativního rizika vzniku nádorů u nosičů mutace v genech *BRCA1* a *BRCA2* (Zdroj: 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35).

Nosič mutace v <i>BRCA1</i>	Kumulativní riziko do 70 let
Maligní nádor prsu	65-85%
Duplexní primární nádor prsu	40-60%
Ovariální nádor	39-63%
Nádor tlustého střeva	~ 2-4 násobku populačního rizika
Nádor pankreatu	~ 2-3 násobku populačního rizika
Nádor žaludku	~ 2-4 násobku populačního rizika
Nádor děložního čípku	~ 3-4 násobku populačního rizika
Nádor prostaty	~ 2-3 násobku populačního rizika
Nosič mutace v <i>BRCA2</i>	Kumulativní riziko do 70 let
Maligní nádor prsu	45-84%
Duplexní primární nádor prsu	~ 55%
Ovariální nádor	11-27%
Nádor prsu u mužů	7% (~ 80 násobek populačního rizika)
Nádor žlučníku	~ 5 násobku populačního rizika
Nádor prostaty	~ 4,5 násobku populačního rizika
Nádor pankreatu	~ 3,5 násobku populačního rizika
Nádor žaludku	~ 2,5 násobku populačního rizika
Maligní melanom	~ 2,5 násobku populačního rizika

mutacemi genu *BRCA1* očekávat méně efektivní účinek anti-hormonální léčby (tamoxifenu), i když fyziologický účinek tamoxifenu je komplexní a je zprostředkován nejen blokádou hormonálních receptorů (83). Vzhledem k tomu, že exprese/amplifikace *c-erbB2* bývá v *BRCA1* nádorech spíše negativní, není pravděpodobné, že by se Herceptin významně uplatnil v léčbě nádorů pacientek s mutacemi genu *BRCA1* (54).

Závěr

Nádor prsu je komplexní onemocnění, které vzniká na základě široké škály rizikových faktorů genetických i negenetických. Určení příčiny vzniku nádorového onemocnění ve vysoce rizikových rodinách umožňuje přesné stanovení rizika u příbuzných postižených pacientů. Časná diagnostika presymptomatických jedinců s predispozicí k nádorovému onemocnění umožňuje cílená preventivní opatření a léčbu v raném stádiu onemocnění.

Tato práce byla podpořena granty MZČR MZO 0020980501, IGA MZČR NR/8213-3, NR/ 8022-3 a grantem MSM 6198959216.

Tabulka 2. Předpokládaná funkce proteinů *BRCA1* a *BRCA2* (zdroj: 16, 17, 18, 19, 20, 21).

Předpokládaná funkce	Experimentálně prokázaná přímá vazba proteinu <i>BRCA1</i> s:	Experimentálně prokázaná přímá vazba proteinu <i>BRCA2</i> s:
<i>Homologní rekombinace a reparační procesy spřážené s rekombinací</i>	RAD51 – klíčový protein homologní rekombinace a reparace dvoušroubovicových zlomů v DNA RAD50 - v komplexu s MRE11/NBS1 je nezbytný pro reparaci DNA spojenou s homologní rekombinací a s nehomologním spojením zlomů v DNA ATM kináza - aktivuje proteiny p53, c-Abl, <i>BRCA1</i> a další po poškození DNA FANCD2 - je součástí komplexu proteinů „Fanconiho anémie“, nezbytného pro reparaci zkřížených vazeb v DNA c-Abl tyrozin protein kináza - regulace transkripce, reparační a apoptotické dráhy hMSH2 – reparace chybného párování bází	RAD51 - klíčový protein homologní rekombinace a reparace dvoušroubovicových zlomů v DNA => <i>BRCA2</i> protein je nezbytný pro transport proteinu RAD51 do jádra a pro jeho lokalizaci do místa poškození DNA
<i>Remodelace chromatinu</i>	HDAC - histon-deacetylázy 1 a 2 SWI/SNF - remodelační komplex chromatinu	P/CAF - acetylace histonů
<i>Regulace transkripce</i>	RNA helikáza A - součást holoenzymu RNA Pol II Transkripční faktory c-Myc , E2F , STAT1 , ATF Estrogenový receptor (<i>BRCA1</i> inhibuje transkripční dráhu zprostředkovanou estrogenovým receptorem α) Progesteronový receptor	P/CAF - koaktivátor transkripce
<i>Regulace buněčného cyklu (BC)</i>	p53 (<i>BRCA1</i> zesiluje transkripci aktivovanou p53) pRB (<i>BRCA1</i> váže hypofosforylovanou formu proteinu RB) E2F transkripční faktor - regulace BC ATR - klíčová kináza regulující BC => <i>BRCA1</i> zpomaluje přechod buňky z G1 do S fáze BC	BRAF-35 - DNA-vazebný protein, nezbytný pro progresi buněčného cyklu hBUBR1 mitotická kináza nutná pro přechod z G2 do M fáze BC
<i>Vliv na aktivaci a stabilitu cílových proteinů v signálních drahách</i>	BARD1 - ubikvitinační enzym (substrátem <i>FANCD1/BARD1</i> komplexu je protein <i>FANCD2</i> , který je aktivován ubikvitinací) BAP1 - jaderný deubikvitinační enzym	-

Tabulka 4.: Hereditární nádorové syndromy se zvýšeným rizikem výskytu nádoru prsu (Zdroj OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim>)

Syndrom	Gen	Lokalizace-	Základní funkce genu	Dědičnost	Klinická manifestace
Ataxia telangiectasia	<i>ATM</i>	11q22.3	protein kináza, aktivuje DNA reparační procesy	recesivní dominantní	Radiační hypersenzitivita, cerebelární ataxie, okulokutánní hypersenzitivita Nádor prsu (pravděpodobně pouze některé mutace)
Hereditární nepolypósní kolorektální karcinom (Lynchův syndrom)	<i>MLH1</i> <i>MSH2</i> <i>MSH6</i> <i>PMS1</i> <i>PMS2</i> <i>MLH3</i> <i>MSH3</i>	3p21.3 2p22-p21 2p16 2q31-q32 7p22 14q24.3 5q11-q12	„mismatch“ reparační geny (geny systému oprav chybného párování bází)	dominantní	Nádory kolorekta, endometria, ovária, žaludku, urotraktu, hepatobiliárního systému a prsu
Cowdenův syndrom	<i>PTEN</i>	10q23.31	Fosfatáza, defosforyluje produkty signálních drah	dominantní	Mnohočetné hamartomy, nádor prsu, štítné žlázy (folikulární typ)
Syndrom Li-Fraumeni	<i>TP53</i> <i>CHEK2</i>	17p13.1 22q12.1	Transkripční faktor, kontrola přechodu G1/S fáze buněčného cyklu Protein kináza klíčová pro zástavu buněčného cyklu	dominantní dominantní	Sarkomy, nádory adrenokortikální, prsu, mozku, hematologické malignity, melanom, gonadální nádory a další Sarkomy, nádory mozku a prsu
Peutz-Jeghersův syndrom	<i>STK11</i> =LBK1	19p13.3	Serin/threonin protein kináza	dominantní	Nádory GIT, ovária, děložního čípku, varlat a prsu

Literatura:

- Vogel V. Assessing risk of breast cancer. Tools for evaluating a patient's 5-year and lifetime probabilities. Postgraduate Medicine 1999; 105:49-58.
- Claus EB, Risch NR, Thompson WD. The calculation of breast cancer risk for women with a first degree family history of ovarian cancer. Breast Cancer Res. Treatment 1993; 28:115-120.
- Claus EB, Risch N, Thompson WD. Autosomal dominant inheritance of early onset breast cancer: Implications for risk prediction. Cancer 1994; 73:643-651.
- Newman B, Austin MA, Lee M, et al. Inheritance of human breast cancer: evidence for autosomal dominant transmission in high risk families. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1988; 85:3044-3048.
- Dunning AM, Healey CS, Pharoah PD, et al. A systematic review of genetic polymorphisms and breast cancer risk. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 1999; 8:843-854.
- De Jong MM, Nolte IM, te Meerman GJ, et al. Genes other than BRCA1 and BRCA2 involved in breast cancer susceptibility. J. Med. Genet. 2002; 39:225-242.
- Dumitrescu RG, Cotarlar I. Understanding breast cancer risk - where do we stand in 2005? J. Cell. Mol. 2005; 9:208-221.
- Hall JM, Lee MK, Newman B, et al. Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. Science 1990; 250:1684-89.
- Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, et al. A strong candidate for the Breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. Science 1994; 266:66-71.
- Wooster R, Neuhausen SL, Mangion J, et al. Localisation of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13. Science 1994; 265:2088-90.
- Wooster R, Bignell G, Lancaster J, et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. Nature 1995; 378:789-792.
- Marquis ST, Rajan JV, Wynshaw-Boris A, et al. The developmental pattern of BRCA1 expression implies a role in differentiation of the breast and other tissues. Nat. Genet. 1995; 11:17-26.
- Gudas JM, Li T, Nguyen H, et al. Cell cycle regulation of BRCA1 messenger RNA in human breast epithelial cells. Cell Growth Differ. 1996; 7:717-723.
- Spillman MA, Bowcock AM. BRCA1 and BRCA2 mRNA level are coordinately elevated in human breast cancer cells in response to estrogen. Oncogene 1996; 13:1639-1645.
- Vaughn JP, Cirisano FD, Huper G, et al. Cell cycle control of BRCA2. Cancer Research 1996; 56:4590-4594.
- Welch PL, King MC. BRCA1 and BRCA2 and the genetics of breast and ovarian cancer. Hum. Mol. Genet. 2001; 10:705-713.
- Venkitaraman AR. Functions of BRCA1 and BRCA2 in the biological response to DNA damage. Journal of Cell Science 2001; 114:3591-3598.
- Wang Q, Zhang H, Guerrette S, Chen J, Mazurek A, Wilson T, Slupianek A, Skorski T, Fishel R, Greene MI. Adenosine nucleotide modulates the physical interaction between hMSH2 and BRCA1. Oncogene 2001;20:4640-9.
- Venkitaraman AR. Cancer susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2. Cell 2002; 108:171-182.
- Liu Y, West SC. Distinct functions of BRCA1 and BRCA2 in double-strand break repair. Breast Cancer Res. 2002; 4:9-13.
- Yoshida K, Miki Y. Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, transcription, and cell cycle in response to DNA damage. Cancer Sci. 2004; 95:866-871.
- Kinzler KW, Vogelstein B. Cancer-susceptibility genes. Gatekeepers and caretakers. Nature 1997; 386:761-763.
- Davies AA, Masson JY, McIlwraith et al. Role of BRCA2 in control of the RAD51 recombination and DNA repair protein. Mol. Cell 2001; 7: 273-82.
- Collins A, McManus R, Wooster R, et al. Consistent loss of the wild-type allele in breast cancers from a family linked to the BRCA2 gene on chromosome 13q12-13. Oncogene 1995; 10:1673-1675.
- Cornelis RS, Neuhausen SL, Johansson O, et al. High allele loss rates at 17q12-q21 in breast and ovarian tumors from BRCA1-linked families. Gen. Chromos. Cancer 1995; 13:203-210.
- Friedman LS, Ostermeyer EA, Szabo CI, et al. Confirmation of BRCA1 by analysis of germline mutations linked to breast and ovarian cancer in ten families. Nat. Genet. 1994; 8:399-404.
- Spain BH, Larson CJ, Shihabuddin LS, et al. Truncated BRCA2 is cytoplasmic: Implications for cancer-linked mutations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999; 96:13920-13925.
- Ford D, Easton DF, Bishop DT, et al. Risk of cancer in BRCA1 mutation carriers. Lancet 1994; 343:692-695.
- Easton DF, Bishop DT, Breast Cancer Linkage Consortium. Breast and ovarian cancer incidence in BRCA1-mutation carriers. Am. J. Hum. Genet. 1995; 56:265-271.
- Ford D, Easton DF, Stratton M, et al. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. Am. J. Hum. Genet. 1998; 62:676-689.
- Breast Cancer Linkage Consortium. Cancer risks in BRCA2 mutation carriers. The Breast Cancer Linkage Consortium. J. Natl. Cancer Inst. 1999; 91:1310-1316.
- Thompson D, Easton D; Breast Cancer Linkage Consortium. Variation in cancer risks, by mutation position, in BRCA2 mutation carriers. Am. J. Hum. Genet. 2001; 68:410-419.
- Brose MS, Rebbeck TR, Calzone KA, et al. Cancer risk estimates for BRCA1 mutation carriers identified in a risk evaluation program. J Natl Cancer Inst 2002; 94:1365-1372.
- Thompson D, Easton DF; Breast Cancer Linkage Consortium. Cancer

- Incidence in BRCA1 mutation carriers. *J Nat Cancer Inst* 2002; 94:1358-1365.
35. Antoniou A, Pharoah PD, Narod S, et al. Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case Series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. *J. Hum. Genet.* 2003; 72:1117-1130.
36. Nathanson KL, Wooster R, Weber BL. Breast cancer genetics: what we know and what we need. *Nat. Med.* 2001; 7:552-556.
37. Gayther SA, Mangion J, Russel P, et al. Variation of risk of breast and ovarian cancer associated with different germline mutations of the BRCA2 gene. *Nat. Genet.* 1997; 15:103-105.
38. Struwing J.P., Hartge P., Wacholder S. et al. The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews. *N. Engl. J. Med.* 1997; 336:1401-1408.
39. Thorlacius S., Olafsdottir G., Tryggvadottir L. et al. A single BRCA2 mutation in male and female breast cancer families from Iceland with varied cancer phenotypes. *Nat. Genet.* 1996; 13:117-119.
40. Narod et Offit. Prevention and management of hereditary breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23:1656-1663.
41. Wooster R et Weber BL. Breast and Ovarian Cancer. *N Engl J Med* 2003;348:2339-47.
42. Nathanson KL, Weber BL. „Other“ breast cancer susceptibility genes: searching for more holy grail. *Hum. Mol. Genet.* 2001; 10:715-720.
43. Marcus JN, Watson P, Page DL, et al. Hereditary breast cancer: pathobiology, prognosis, and BRCA1 and BRCA2 gene linkage. *Cancer* 1996; 77:697-709.
44. Shousha S. Medullary carcinoma of the breast and BRCA1 mutation. *Histopathology* 2000; 37:182-185.
45. Lakhani SR, Reis-Filho JS, Fulford L, et al. Prediction of BRCA1 status in patients with breast cancer using estrogen receptor and basal phenotype. *Clin. Cancer. Res.* 2005; 11:5175-5180.
46. Laakso M, Loman N, Borg A, et al. Cytokeratin 5/14-positive breast cancer: true basal phenotype confined to BRCA1 tumors. *Mod. Pathol.* 2005; Jul 1 (E-pub).
47. Osin PP et Lakhani SR. The pathology of familial breast cancer: Immunohistochemistry and molecular analysis. *Breast Cancer Res.* 1999; 1:36-40.
48. Lakhani SR, Van De Vijver MJ, Jacquemier J, et al. The pathology of familial breast cancer: predictive value of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and p53 in patients with mutations in BRCA1 and BRCA2. *J. Clin. Oncol.* 2002; 20:2310-2318.
49. Grushko TA, Blackwood A, Schumm PL, et al. Molecular- cytogenetic analysis of HER-2/neu gene in BRCA1-associated breast cancers. *Cancer Res.* 2002; 62:1481-1488.
50. Phillips KA, Nichol K, Ozcelik H, et al. Frequency of p53 mutations in breast carcinomas from Ashkenazi Jewish carriers of BRCA1 mutations. *J. Natl. Cancer Inst.* 1999; 91:469-473.
51. De Bock GH, Tollenaar RA, Papelard H, et al. Clinical and pathological features of BRCA1 associated carcinomas in a hospital-based sample of Dutch breast cancer patients. *Br. J. Cancer.* 2001; 85:1347-1350.
52. Fan S, Wang J, Yuan R, et al. BRCA1 inhibition of estrogen receptor signaling in transfected cells. *Science* 1999; 284:1354- 1356.
53. Revillion F, Bonnetterre J, Peyrat JP. ERBB2 oncogene in human breast cancer and its clinical significance. *Eur. J. Cancer* 1998; 34:791-808.
54. Quenneville LA, Phillips KA, Ozcelik H, et al. HER-2/neu status and tumor morphology of invasive breast carcinomas in Ashkenazi women with known BRCA1 mutation status in the Ontario Familial Breast Cancer Registry. *Cancer* 2002; 95:2068-2075.
55. Johansson OT, Idvall I, Anderson C, et al. Tumour biological features of BRCA1-induced breast and ovarian cancer. *Eur. J. Cancer.* 1997; 33:362-371.
56. Park PC et De Boni U. A specific conformation of the territory of chromosome 17 locates ERBB-2 sequences to a DNase- hypersensitive domain at the nuclear periphery. *Chromosoma* 1998; 107:87-95.
57. Greenblatt MS, Chappuis PO, Bond JP, et al. TP53 mutations in breast cancer associated with BRCA1 or BRCA2 germ-line mutations: distinctive spectrum and structural distribution. *Cancer Res.* 2001; 61:4092-4097.
58. Lidereau R, Eisinger F, Champeme MH, et al. Major improvement in the efficacy of BRCA1 mutation screening using morphoclinical features of breast cancer. *Cancer Res.* 2000; 60:1206-1210.
59. Chang J, Hilsenbeck SG, Sng JH, et al. Pathological features and BRCA1 mutation screening in premenopausal breast cancer patients. *Clin. Cancer Res.* 2001; 7:1739-1742.
60. Robson ME, Boyd J, Borgen PI, et al. Hereditary breast cancer. *Curr. Probl. Surg.* 2001; 38:387-480.
61. Foulkes WD, Rosenblatt J, Chappuis PO. The contribution of inherited factors to the clinicopathological features and behaviour of breast cancer. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 2001; 6:453-465.
62. Robson ME, Chappuis PO, Satagopan J, et al. A combined analysis of outcome following breast cancer: differences in survival based on BRCA1/BRCA2 mutation status and administration of adjuvant treatment. *Breast Cancer Res.* 2004; 6:R8-17.
63. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data on 53 297 women with breast cancer and 111 239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies. *Lancet* 1996; 347:1713-1727.
64. Cass I, Baldwin R, Varkey T, et al. Improved survival in women with BRCA-associated ovarian cancer. *Cancer* 2003; 97:2187- 2195.
65. Bartoňková H, Foretová L, Helmichová E, et al. Doporučené zásady péče o nemocné s nádory prsu a vaječníků a zdravé osoby se zárodečnými mutacemi genů BRCA1 nebo BRCA2. *Klinická onkologie* 2003; 16:28-34.
66. Zikán M, Jančárková N, Pohlreich P, et al. Hereditární dispozice ke vzniku karcinomu prsu a ovaria. *Čas. Lék. Česk.* 2004; 143:26-30.
67. Jernstrom H, Lubinski J, Lynch HT, et al. Breast-feeding and the risk of breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *J. Natl. Cancer Inst.* 2004; 96:1094-1098.
68. Narod SA, Dube MP, Klijn J, et al. Oral contraceptives and the risk of breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *J. Natl. Cancer Inst.* 2002; 94:1773-1779.
69. Narod SA, , et al. Tamoxifen and risk of contralateral breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: a case- control study. *Hereditary Breast Cancer Clinical Study Group. Lancet* 2000; 356:1876-1881.
70. King MC, Wicand S, Hale K, et al. Tamoxifen and breast cancer incidence among women with inherited mutations in BRCA1 and BRCA2: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP-P1) Breast Cancer Prevention Trial. *JAMA* 2001; 286:2251-2256.
71. Rebbeck TR, Levin AM, Eisen A, et al. Breast cancer risk after bilateral prophylactic oophorectomy in BRCA1 mutation carriers. *J. Natl. Cancer Inst.* 1999; 91:1475-1479.
72. Rebbeck TR, Lynch HT, Neuhausen SL, et al. Prophylactic oophorectomy in carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. *N. Engl. J. Med.* 2002; 346:1616-1622.
73. Vasen HFA, Tesfay E, Boonstra H, et al. Early detection of breast and ovarian cancer in families with BRCA mutations. *Eur. J. Cancer* 2005; 41:549-554.
74. Meijers-Heijboer H, van Geel B, van Putten WL, et al. Breast cancer after prophylactic bilateral mastectomy in women with a BRCA1 or BRCA2 mutation. *New Engl. J. Med.* 2001; 345:159- 164.
75. Bresser PIC, Van Gool AR, Seynaeve C, et al. Long-term psychosocial impact of prophylactic mastectomy and immediate breast reconstruction. Abstracts XVth symposium of The Netherlands Foundation for the Detection of Hereditary Tumors. *Familial Cancer* 2003; 2:131-132.
76. Kerlikowske K, Carney PA, Geller B, et al. Performance of screening mammography among women with and without a first-degree relative with breast cancer. *Ann. Intern. Med.* 2000; 133:855- 863.
77. Kuhl CK, Schrading S, Leutner CC, et al. Surveillance of „high risk“ women with proven or suspected familial (hereditary) breast cancer: First mid-term results of a multi-modality clinical screening trial. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* et al., 2003
78. Warner E, Plewes D, Hill K, et al. Surveillance of BRCA1 and BRCA2 mutation carriers with magnetic resonance imaging, ultrasound and mammography, and clinical breast examination. *JAMA* 2004; 292:1317-1325.
79. Kriege M, Brekelmans CT, Boetes C. Efficacy of MRI and mammography for breast cancer screening in women with a familial or genetic predisposition. *N. Engl. J. Med.* 2004; 351:427-437.
80. Liberman L, Morris EA, Benton CL, et al. Probably benign lesions at breast magnetic resonance imaging: preliminary experience in high-risk women. *Cancer* 2003; 98:377-388.
81. Yu VP, Koehler M, Steinlein C, et al. Gross chromosomal rearrangements and genetic exchange between nonhomologous chromosomes following BRCA2 inactivation. *Genes Dev.* 2000; 14:1400-1406.
82. Pierce LJ, Strawderman M, Narod SA, et al. Effect of radiotherapy after breast-conserving treatment in women with breast cancer and germline BRCA1/2 mutations. *J. Clin. Oncol.* 2000; 18:3360-3369.
83. Osborne CK. Tamoxifen in the treatment of breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 1998; 339:1609-1618.

VÝSLEDKY TESTOVÁNÍ BRCA1 A BRCA2 GENŮ V MOLEKULÁRNĚ GENETICKÉ LABORATOŘI MASARYKOVA ONKOLOGICKÉHO ÚSTAVU

THE RESULTS OF TESTING BRCA1 AND BRCA2 GENES IN MOLECULAR GENETIC LABORATORY OF MASARYK MEMORIAL CANCER INSTITUTE

LUKEŠOVÁ M., MACHÁČKOVÁ E., VAŠIČKOVÁ P., NAVRÁTILOVÁ M., PAVLŮ H., URBÁNKOVÁ V., KUKLOVÁ J., FORETOVÁ L.

ODDĚLENÍ EPIDEMIOLOGIE A GENETIKY NÁDORŮ,
MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

Souhrn

Hlavní příčinou genetické predispozice ke vzniku nádoru prsu a ovaria jsou mutace v genech BRCA1 a BRCA2. Od roku 1999 je v laboratoři Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů Masarykova onkologického ústavu prováděna molekulárně genetická analýza těchto dvou genů. Do října 2005 bylo vyšetřeno 470 žen z vysoce rizikových rodin, 38 patientek se sporadickým výskytem bilaterálního nádoru prsu a/nebo ovaria, 109 patientek se sporadickým výskytem nádoru prsu nebo ovaria do 40 let věku a 14 mužů s karcinomem prsu. U 194 pacientů bylo nalezeno celkem 64 různých patogenních mutací, 30 v BRCA1 genu a 34 v BRCA2 genu. Prediktivním vyšetření bylo provedeno u 486 symptomatických a presymptomatických příbuzných. Všem nosičům mutace byla nabídnuta preventivní péče na specializovaných pracovištích.

Klíčová slova: BRCA1, BRCA2, genetická predispozice, nádor prsu, nádor ovaria

Summary

Inherited mutations in BRCA1 and BRCA2 are the major reason for the genetic predisposition to breast and ovarian cancer. Molecular genetic analysis of these two genes has been performed in laboratory of Department of Cancer Epidemiology and Genetics in Masaryk Memorial Cancer Institute since 1999. Until October 2005 there have been investigated 470 high-risk breast and breast/ovarian cancer families, 38 patients with bilateral breast or ovarian cancer or both, 109 women diagnosed with early-onset sporadic breast/ovarian cancer below 40 years, and 14 men diagnosed with breast cancer. Concerning disease causing mutations, 64 different germline mutations were found in 194 patients, 30 in BRCA1 gene and 34 in BRCA2 gene. Moreover, predictive testing of 486 symptomatic and nonsymptomatic relatives has been done. Preventive care was offered to all mutation carriers in a specialised clinic.

Key words: BRCA1, BRCA2, genetic susceptibility, breast cancer ovarian cancer

Úvod:

Přibližně 5-7% případů nádorů může být způsobeno monogenní genetickou predispozicí (1). Pro hereditární formy nádorů je typický nízký věk v době stanovení diagnózy a bilaterální výskyt či duplicita. Dědičná predispozice k nádorům je přenášena jako autozomálně dominantní znak s vysokou penetrancí. V roce 1994 a 1995 byly objeveny tumor supresorové geny BRCA1 (chromosom 17q21) a BRCA2 (chromosom 13q12-13), které jsou zodpovědné za podstatnou část případů dědičných forem nádorů prsu nebo vaječníků (2).

V genech BRCA1 a 2 bylo doposud detekováno několik set různých patogenních mutací, které jsou popsány v BIC mutační databázi (3), přičemž nelze pozorovat preferenční výskyt mutací v některé části kódující sekvence. V určitých populacích byla zjištěna vysoká četnost specifických mutací, které zodpovídají za většinu detekovaných mutací v dané populaci. Takovéto případy najdeme například na Islandu nebo v Izraeli (4, 5). Oproti tomu v jiných populacích je nacházeno široké spektrum nejrozličnějších mutací (6).

V laboratoři Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů Masarykova onkologického ústavu je screening genů BRCA1 a BRCA2 prováděn od roku 1999 (7).

Metody:

1. klinické

Molekulárně genetické vyšetření genů BRCA1 a BRCA2 je prováděno u indikovaných případů, po genetickém poradenství a podepsání informovaného souhlasu. Kromě probandů zapadajících do testovacích kritérií I.-V. (viz Tab.1) byly vyšetřovány také zdravé ženy z vysoce rizikových rodin, kde již z důvodu úmrtí nebylo možno testovat příbuznou s nádorem prsu nebo ovaria. Detekovaná změna je vždy potvrzena z druhého, nezávisle izolovaného vzorku DNA. Charakterizace mutace a její významnosti je součástí laboratorní zprávy.

Výsledky předává vyšetřovanému klinický genetik s řádným vysvětlením a s případným návrhem prevence. Prediktivní test lze doporučit u příbuzných v riziku starších 18 let v rodinách s detekovanou konkrétní mutací.

2. molekulárně genetické

U pacientů byl proveden kompletní screening kódujících oblastí a míst sestřihu (splice sites) jednotlivých exonů genů BRCA1 (22 kódujících exonů, mRNA = 5711 nt) a BRCA2 (26 kódujících exonů, mRNA = 10987 nt).

Genomická DNA byla izolována z lymfocytů periferní krve za pomoci izolačního kitu firmy Qiagen. Jako screeningové testy k vyhledávání blíže neurčených mutací byly použity tyto metody: „protein truncation test“ (PTT) a heteroduplexní ana-

lýza (HA). Neradioaktivní PTT byl prováděn u exonu 11 BRCA1 genu a u exonů 10 a 11 BRCA2 genu. U všech zbývajících exonů obou genů byl proveden screening metodou HA. Přesný postup molekulárně biologické analýzy včetně použitých primerů byl podrobně popsán v publikaci Claes et al. (8).

Fragmenty s aberantní mobilitou detekované pomocí PTT nebo HA testu byly sekvenovány metodou přímého sekvenování na ALFexpress™ DNA automatickým sekvenátorem (Pharmacia). Kvalita detekovaná mutace byla potvrzena z nového, nezávisle izolovaného vzorku DNA pacienta.

Tab.1: Kritéria pro zařazení do jednotlivých skupin

I.	3 a více příbuzných diagnostikovaných s nádorem prsu/ovária v jakémkoli věku, nebo alespoň 2 příbuzní-jeden z nich diagnostikován s bilaterálním nádorem nebo nádorem prsu a ovária
II.	2 příbuzní s nádorem prsu/ovária - alespoň jeden diagnostikován pod 50 let
III.A	pacientka s bilaterálním nádorem prsu s první diagnózou pod 50 let
III.B	pacientka s bilaterálním nádorem ovária s první diagnózou pod 50 let
III.C	pacientka s nádorem prsu a vaječníku s první diagnózou pod 50 let
IV.	sporadické případy diagnostikované pod 40 let
V.	muž s nádorem prsu diagnostikovaným v jakémkoli věku

Tab.2: Celkový záchyt mutací v závislosti na indikačních kritériích

Kritéria zařazení a fenotyp	Počet rodin/pacientů	BRCA1 mutace (%)	BRCA2 mutace (%)	Celkem mutací (%)
I. HOC+HBOC	93	47 (50,5%)	7 (8,1%)	54 (59,3%)
II. HBC	169	31 (18,3%)	21 (13,2%)	52 (32,1%)
I. Celkem	262	78 (29,8%)	28 (11,4%)	106 (41,6%)
II. HOC+HBOC	31	17 (54,8%)	1 (3,2%)	18 (58,0%)
III. HBC	177	19 (10,7%)	19 (10,7%)	38 (21,4%)
II. Celkem	208	36 (17,3%)	20 (9,6%)	56 (26,9%)
I+II. Familiární případy HOC+HBOC	124	64 (51,6%)	8 (6,5%)	72 (58,1%)
I+II. Familiární případy HBC	346	50 (14,5%)	40 (11,5%)	90 (26,0%)
I+II. Celkem	470	114 (24,3%)	48 (10,2%)	162 (34,5%)
III.A Pacientky s bilaterálním karcinomem prsu	19	3 (15,8%)	1 (5,3%)	4 (21,1%)
III.B Pacientky s bilaterálním karcinomem ovária	7	1 (14,3%)	0	1 (14,3%)
III.C Pacientky s karcinomem prsu a ovária	12	9 (75,0%)	2 (16,7%)	11 (91,7%)
III. Celkem	38	13 (34,2%)	3 (7,9%)	16 (42,1%)
IV. Pacientky <40 let s karcinomem ovária	17	1 (5,9%)	0	1 (5,9%)
IV. Pacientky <40 let s karcinomem prsu	92	7 (7,6%)	4 (4,4%)	11 (12,0%)
IV. Celkem	109	8 (7,3%)	4 (3,7%)	12 (11,0%)
V. Muži s karcinomem prsu	14	1 (7,1%)	3 (21,4%)	4 (28,6%)

Zkratky: HOC - dědičný syndrom nádoru ovária; HBOC - dědičný syndrom nádoru prsu a ovária; HBC - dědičný syndrom nádoru prsu; mutace - pouze patogenní mutace

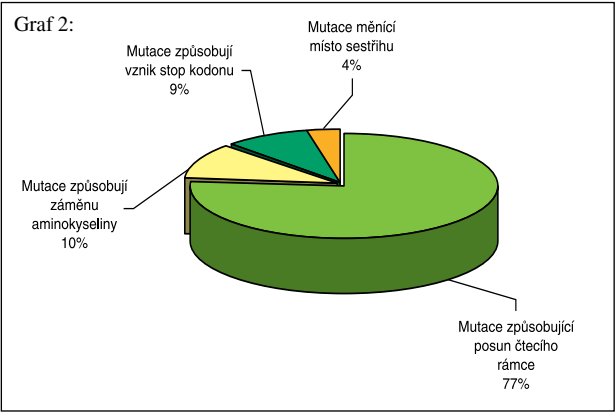
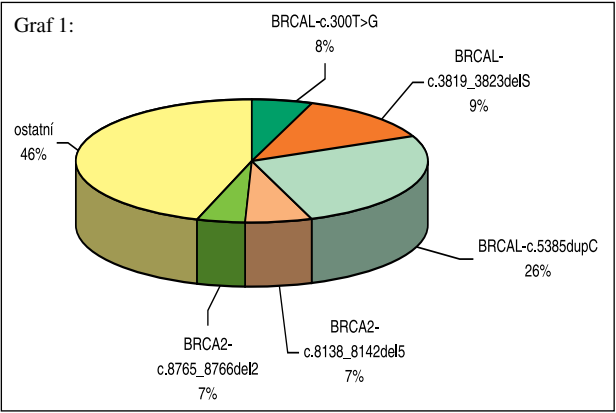
Výsledky:

Do října 2005 byla molekulárně genetická analýza genů BRCA1 a BRCA2 ukončena u 470 žen z vysoce rizikových rodin, 38 pacientek se sporadickým výskytem bilaterálního nádoru prsu a/nebo ovária, 109 pacientek se sporadickým výskytem nádoru prsu nebo ovária do 40 let věku a 14 mužů s karcinomem prsu. U probandů bylo nalezeno celkem 64 různých patogenních mutací (30 v BRCA1 genu a 34 v BRCA2 genu), které byly rozptýleny podél celé kódující sekvence obou genů. Celkový záchyt mutací u probandů, kteří byli dle indikačních kritérií zařazení do skupiny I.-V. je znázorněn v tabulce 2. Screening genů BRCA1 a 2 byl proveden také u 40 zdravých žen s vysoce pozitivní rodinnou anamnézou, přičemž u devíti z nich (22,5%) byla detekována patogenní mutace v BRCA1 nebo BRCA2 genu. Nejčastěji detekovanými mutacemi byly: c.5385dupC (59 případů), c.3819_3823delGTAAA (23 případů), c.300T>G (18 případů) v BRCA1 genu a c.8138_8142delCCTTT (14 případů), c.8765_8766delAG (10 případů) v BRCA2 genu. Těchto pět mutací dohromady představuje 54 % všech detekovaných mutací (viz. Graf 1). Patogenních mutace, které byly u vyšetřovaných probandů dete-

kovány je možno roztrždit dle typu mutace a jejího důsledku (viz Graf 2). Nejčastěji byly detekovány mutace způsobující předčasnou terminaci translace a vedou k odstranění významné funkční domény proteinu. Jedná se konkrétně o inserce a delece způsobující posun čtecího rámce „frame shift“ a vznik předčasného terminačního kodonu a „nonsense“ substituce způsobující v místě záměny vznik terminačního kodonu. Dalším typem detekovaných mutací byly mutace měnící místo sestřihu a nukleotidové substituce, které způsobí záměnu aminokyseliny v důležité funkční doměně proteinu. Kromě častých nepatogenních polymorfismů byly u všech skupin pacientek zachyceny vzácné sekvenční varianty nejasného významu. Tyto sekvenční varianty jsou z hlediska interpretace problematickou skupinou a v současné době nelze s jistotou určit, zda by mohla některá z těchto detekovaných variant souviset s nádorovým onemocněním pacientky nebo zda se jedná o neutrální (polymorfni) variantu bez vlivu na fenotyp. Prediktivní testování příbuzných na konkrétní mutaci zodpovědnou za segregaci onemocnění v rodině bylo provedeno u 486 osob. Pozitivní výsledek (vyšetřovaný je nosičem dané mutace a s určitou pravděpodobností bude v budoucnu trpět danou nemocí) byl zjištěn u 165 presymptomatických jedinců. Negativně testovaní jedinci nejsou nosiči dané mutace a riziko pro vznik nádoru by u nich mělo být na úrovni rizika běžné populace bez genetického zatížení. Prediktivní test umožňuje cílené preventivní opatření pouze u osob s významným genetickým rizikem.

Diskuze:

Nejvyšší pravděpodobnost záchytu kauzální mutace v genu BRCA1 je v rodinách s anamnézou nádoru prsu a ovária. Pravděpodobnost záchytu BRCA1 nebo BRCA2 mutace pak narůstá s počtem diagnostikovaných případů v rodině a s klesajícím věkem v době diagnózy. U mužů diagnostikovaných s karcinomem prsu je více pravděpodobné, že bude nalezena mutace v genu BRCA2. Situaci vystihuje tabulka 2.



Faktu, že 3 mutace v BRCA1 a 2 mutace v BRCA2 genu představují 54 % všech detekovaných mutací byl přizpůsoben mutační screening. Pomocí heteroduplex analýzy a restrikční analýzy jsou probandi testováni nejdříve na přítomnost těchto pěti nejčastějších mutací, což umožňuje významně zkrátit dobu vyšetření a také finanční náročnost.

U vysoce rizikových pacientů je však naprosto opodstatněné provést kompletní analýzu obou BRCA genů, neboť patogenní mutace jsou roztroušeny podél celé kódující sekvence těchto genů.

Spektrum mutací detekovaných na území České republiky je značně rozsáhlé. Spolu s výsledky, které publikoval Pohlreich a kolektiv z Ústavu biochemie a experimentální onkologie I.LF UK Praha (9), bylo v České republice zachyceno již 35 různých mutací v BRCA1 genu a 38 různých mutací v BRCA2 genu a tento výčet s vysokou pravděpodobností nebude úplný. Vzhledem k tomu, že onkologické onemocnění se projevuje v dospělosti a často již po ukončení reprodukčního období, byl selekční tlak proti nosičům BRCA mutace minimální a mutace se v populaci v heterozygotním stavu úspěšně udržely.

Velké množství různých mutací také svědčí o značné heterogenitě české populace, která odpovídá historickým událostem. Vysoký byl zachyt patogenních mutací (22,5%) u zdravých pacientek z vysoce rizikových rodin, kde nebylo možno testovat příbuzné s nádorovým onemocněním z důvodu úmrtí. Ukazuje se, že také tyto ženy jsou vhodnou indikační skupinou pro screening genů BRCA1 a BRCA2.

Pokud se u pacientky s vysoce rizikovou anamnézou nepodařilo detekovat patogenní mutaci v BRCA1 nebo BRCA2 genu, nelze samozřejmě vyloučit genetickou predispozici. Predispoziční mutace může být v této rodině přítomna, ale:

a) není zachytitelná zvolenými screeningovými metodami

(např. intragenové přeskupení, kauzální mutace v promotorových nebo intronových oblastech genu)

b) mutační screening mohl být proveden u osoby, která je fenokopii (náhodný sporadický nádor u osoby, která není nosičem predispoziční mutace)

c) za predispozici k nádorovému onemocnění v rodině je zodpovědná kumulace rizikových genetických faktorů (např. kombinace nepříznivých alel více genů s nízkou penetrancí) a negenetických faktorů.

Pokud nebyla v kódující sekvenci BRCA1 nebo BRCA2 genu vyšetřovaného, vysoce rizikového probanda nalezena žádná patogenní mutace, zůstává tento pacient nadále v registru rodin s vysokou dědičnou zátěží a může být v budoucnu zařazen do dalších vyšetření jako je MLPA nebo Southern blot analýza, k vyšetření senzitivnější screeningovou metodou, vyšetření regulačních nebo intronických oblastí BRCA1 a BRCA2 genů nebo pro vyšetření jiných genů, které mohou vytvářet predispozici k nádorovému onemocnění.

Závěr:

Při molekulárně genetické analýze genů BRCA1 a BRCA2 byla u rizikových pacientů nalezena široká škála mutací, které jsou rozptýleny podél celé kódující sekvence obou genů. Tři mutace v BRCA1 genu a dvě mutace v BRCA2 genu se ovšem vyskytují s vysokou četností a dohromady tvoří více než 50% všech detekovaných mutací. Proto je vhodné vyšetřit pacienty nejdříve na přítomnost těchto pěti mutací a dále potom pokračovat v kompletní analýze obou BRCA genů. Pacientům, u kterých byla detekována mutace, lze nabídnout dispenzarizaci ve specializovaných centrech a navrhnout prevenci.

Tato práce byla sponzorována grantem IGA MZČR NR/8213-3 a MZO 00209805.

Literatura:

1. Newman B, Austin MA, Lee M, et al. Inheritance of human breast cancer: evidence for autosomal dominant transmission in high risk families. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1988; 85:3044-3048.
2. Ford D, Easton DF, Stratton M, et al. Genetic heterogeneity and penetrance of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. *Am J Hum Genet* 1998; 62:767-689.
3. Breast Cancer Information Core Internet Website (BIC database). <http://research.nhgri.nih.gov/bic/>
4. Roa BB, Boyd AA, Volcik K, Richards CS. Ashkenazi Jewish population frequencies for common mutations in BRCA1 and BRCA2. *Nat Genet* 1996; 14:185-187.
5. Thorlacius S, Sigurdsson S, Bjarnadottir H, et al. Study of a single BRCA2 mutation with a high carrier frequency in a small population. *Am J Hum Genet* 1997; 60:1079-1084.

6. Szabo CL, King M-C. Population genetics of BRCA1 and BRCA2. *Am J Hum Genet* 1997; 60:1013-1020.
7. Foretova L, Machackova E, Navrátilova M, et al. BRCA1 and BRCA2 mutations in women with familial or early-onset breast/ovarian cancer in the Czech Republic. *Hum Mutat.* 2004; Apr;23(4):397-8.
8. Claes K, Machackova E, De Vos M, et al. Mutation analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes results in the identification of novel and recurrent mutations in 6/16 Flemish families with breast and/or ovarian cancer but not in 12 sporadic patients with early-onset disease. *Hum Mutat.* 1999; 13:256.
9. Pohlreich P, Zikán M, Stribrna J, et al. High proportion of recurrent germline mutations in the BRCA1 gene in breast and ovarian cancer patients from the Prague area. *Breast Cancer Res.* 2005; 7:R728-R736.

VARIANTY NEZNÁMÉHO VÝZNAMU A INTRAGENOVÁ PŘESKUPENÍ V GENECH BRCA1 A BRCA2

VARIANTS OF UNKNOWN CLINICAL SIGNIFICANCE AND INTRAGENIC REARRANGEMENTS IN BRCA1 AND BRCA2 GENES

VAŠÍČKOVÁ P.¹, MACHÁČKOVÁ E.¹, LUKEŠOVÁ M.¹, HORKÝ O.², PAVLŮ H.¹, KUKLOVÁ J.¹, URBÁNKOVÁ V.¹, FOLTÁNKOVÁ V.¹, NAVRÁTILOVÁ M.¹, FORETOVÁ L.¹

¹ ODDĚLENÍ EPIDEMIOLOGIE A GENETIKY NÁDORŮ, MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

² CENTRUM MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE A GENOVÉ TERAPIE, FAKULTNÍ NEMOCNICE, BRNO

Souhrn

V klinické praxi lze využít jako výstup molekulárně genetického testování pouze prokazatelně patogenní - onemocnění způsobující - mutace. Podhodnocení množství celkově zjištěných patogenních mutací nalezených v rámci mutačního screeningu genů BRCA1 a BRCA2 může být způsobeno existencí obtížně interpretovatelných sekvenčních variant. Ze skupiny 25 sledovaných variant neznámého významu nalezených v rámci screeningu u probandů z vysoce rizikových rodin s dědičným výskytem nádoru prsu a/nebo ovaria bylo po následných analýzách určeno šest patogenních splice site mutací a čtyři polymorfní varianty bez vlivu na nádorovou predispozici. Odlišení patogenních mutací od neškodných polymorfních variant má velký praktický význam pro genetické poradenství. Další příčinou podhodnocení zachytu mutace u vysoce rizikových rodin může být přítomnost velkých intragenových přeskupení nedetekovaných screeningovými testy vycházejícími z PCR reakce. Proto byla u 152 nepřibuzných pacientek diagnostikovaných s dědičnou formou nádoru prsu a/nebo ovaria, které byly negativní po kompletním screeningu kódujících sekvencí BRCA1 a BRCA2 genů, provedena MLPA analýza. Bylo identifikováno 6 různých typů rozsáhlých intragenových delecí v BRCA1 genu celkem u 9 vysoce rizikových rodin. Pomocí MLPA se celkové množství nalezených BRCA1 mutací zvýšilo o dalších téměř 8%.

Klíčová slova: BRCA1, BRCA2, varianty neznámého významu, sestřihové mutace, MLPA, intragenové přestavby

Abstract

In clinical practice only true pathogenic - disease causing - mutations can be used as an output of molecular genetic testing. Underestimating of total number of pathogenic mutations detected during BRCA1 and BRCA2 genes mutation screening might be due to existence of sequence variants of unknown significance. The group of 25 unknown variants found in probands from high-risk families with hereditary breast and/or ovarian cancer syndrome was examined. After consequent analysis six pathogenic splice site mutations and four polymorphic variants without an effect on cancer predisposition were determined. Differentiating of pathogenic mutations from common benign polymorphisms is very important for genetic counseling.

The presence of large intragenic rearrangements commonly overlooked by PCR-based screening techniques is supposed to be another reason for lower prevalence of pathogenic mutations in high-risk families. MLPA analysis was performed in 152 unrelated patients with hereditary breast and/or ovarian cancer syndrome which were negative after complete screening of coding regions of BRCA1/2 genes. Six different large intragenic deletions in BRCA1 gene were identified in nine of high-risk families. Using MLPA the total number of detected BRCA1 mutations were increased about 8%.

Key words: BRCA1, BRCA2, variants of unknown significance, splice site mutations, MLPA, intragenic rearrangements

Úvod

V laboratoři epidemiologie a genetiky nádorů Masarykova onkologického ústavu v Brně je prováděna molekulárně genetická analýza kompletní kódující sekvence a míst sestřihu BRCA1 a BRCA2 genů u rizikových pacientek (viz. výběrová kritéria - 1). Přibližně u 35% vysoce rizikových rodin s dědičným výskytem nádoru prsu a/nebo ovaria bývá standardním screeninem zachycena patogenní mutace. U dalších zhruba 10% rodin jsou nalézány obtížně klasifikovatelné vzácné varianty neznámého významu (zkráceně označovány jako UV – „unknown“ variant), u kterých nelze jednoznačně prokázat nebo vyloučit přímou souvislost s výskytem nádorového onemocnění. Většinou se jedná o nukleotidové substituce v intronech nebo substituce v kódující sekvenci vedoucí

k záměně aminokyseliny v polypeptidovém řetězci. Jako „UV“ varianty jsou klasifikovány také drobné delece/inzerce, které buď nenarušují čtecí rámec nebo jsou lokalizovány na C-terminálním konci proteinu a není jasný jejich důsledek na funkci proteinu. Za varianty neznámého významu by měly být považovány také varianty v místech sestřihu, dokud nebyl aberantní sestřih prokázán na mRNA úrovni.

Pro posuzování vlivu UV variant na vznik nádorového onemocnění lze použít různé metody. Ideální metodou by byl **funkční test**, který ovšem není v případě BRCA1 a BRCA2 genu dostupný. **Segregační analýza** sleduje kosegregaci onemocnění spolu se sekvenční variantou v dané rodině. K jejímu provedení je však potřeba větší počet spolupracujících příbuzných z alespoň 2 generací a ve věku s předpokládaným pro-

jevem onemocnění. V případě komplexního onemocnění s neúplnou penetrancí a navíc s projevem silně ovlivněným pohlavím jedince je interpretace segreganční analýzy často velmi problematická. K orientačnímu posouzení možné patogenity lze použít **srovnání četnosti výskytu** varianty v selektované a kontrolní skupině (2).

Dá se usuzovat, že pokud je četnost dané sekvenční varianty ve skupině pacientek s předpokládanou genetickou predispozicí podobná její četnosti v onemocněním nezatížené skupině, je velmi nepravděpodobné, že by varianta mohla mít výraznější vliv na vznik onemocnění.

Patogenní mutace v BRCA1 nebo BRCA2 genu je nejčastější monogenně podmíněnou příčinou u dědičné formy nádoru prsu a/nebo ovaria. Záchyt patogenních mutací v genech BRCA1 a BRCA2 u vysoce rizikových probandů závisí také na zvolených postupech molekulárně genetického vyšetření. Jednou z příčin podhodnocení záchytu u vysoce rizikových rodin může být přítomnost intragenového přeskupení, které nelze detekovat v rámci standardního screeningu založeného na PCR metodách. Zvýšená náchylnost k rozsáhlým intragenovým rekombinacím je v případě genu BRCA1 způsobena vysokou četností Alu-repetitivních sekvencí v jeho intronických oblastech (3) a také přítomností duplikace oblasti na 5' konci BRCA1 genu obsahující BRCA1 pseudogen (4).

Podle údajů z literatury se množství nalezených genových přestaveb v BRCA1 genu v různých populacích liší, pohybuje se nejčastěji v rozmezí 5-15% (5), v holandské populaci však tvoří až 36% z celkového počtu mutací v BRCA1 genu (6). O spektru a frekvenci intragenových přeskupení v BRCA1 genu u pacientů s dědičnou formou karcinomu prsu a/nebo ovaria v české populaci není doposud nic známo. Proto byla v laboratoři epidemiologie a genetiky nádorů MOU zavedena metoda MLPA (Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification), která umožňuje stanovení počtu kopií všech BRCA1 exonů současně v jedné reakci (7). Podstatou MLPA je hybridizace speciálně navržených sond specifických pro jednotlivé BRCA1 exony s genomovou DNA, jejich ligace a následná multiplex PCR reakce s využitím pouze jednoho páru primerů. Pouze sousední zligované sondy, které hybridizovaly s genomovou DNA, mohou být následně amplifikovány. Relativní plocha píků jednotlivých amplifikačních produktů je srovnávána s relativní plochou píků kontrolních sond a odpovídá relativnímu počtu kopií cílové sekvence.

Metody

Vyšetřovaná skupina a standardní mutační screening

Molekulárně genetické testování bylo prováděno na základě genetické konzultace a podepsaného informovaného souhlasu u rodin, jejichž členové splňovali alespoň jedno z výběrových kritérií I. – V (1). Standardní mutační screening kódujících oblastí a míst sestřihu genů BRCA1 a BRCA2 byl prováděn pomocí „protein truncation testu“ (PTT) a heteroduplexní analýzy (HA), detekované fragmenty s aberantní mobilitou byly sekvenovány (1).

Kontrolní skupina

Kontrolní skupina byla vytvořena ze 73 nepříbuzných, zdravých žen starších 60-ti let, bez výskytu nádorového onemocnění v rodinné anamnéze. Výskyt sledovaných variant v kontrolní skupině byl detekován pomocí heteroduplexní analýzy a následného sekvenování fragmentů s aberantní mobilitou. **Segregační analýza**

V této studii je zahrnuto 11 rizikových rodin s přítomností sekvenční varianty, kde bylo k dispozici několik (2-6) spolupracujících příbuzných, případně kde byl k vyšetření dostupný dostupný archivní patologický materiál: tkáňové parafinové bloky.

cDNA analýza

cDNA analýza předpokládaných sestřihových variant byla provedena ve spolupráci s Centrem lékařské genetiky Univerzity nemocnice v Gentu v Belgii (metodika viz. 8).

MLPA (Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification)

Pro detekci intragenových přestaveb BRCA1 genu byl použit SALSA P002 BRCA1 MLPA kit (MRC-Holland, www.mlpa.com). Fragmentační analýza byla prováděna souběžně na gelovém sekvenátoru ALF express II (Pharmacia) a na sekvenátoru ABI310 ve spolupráci s Centrem molekulární biologie a genové terapie v dětské nemocnici v Brně.

„Long-range“ PCR

Pozitivní výsledky MLPA byly potvrzovány pomocí kitu Expand Long Template PCR System (Roche Applied Science).

Výsledek

Varianty neznámého významu

V této práci jsou prezentovány předběžné výsledky analýzy 25 různých variant neznámého významu: 10 variant v BRCA1 genu a 15 variant v BRCA2 genu.

Výsledky segreganční analýzy a detekované alelické frekvence 18 sledovaných variant nejasného významu ve skupině vysoce rizikových nepříbuzných pacientek s dědičným výskytem nádoru prsu a/nebo ovaria (kritérium I.+II.) bez záchytu patogenní mutace v BRCA1 nebo BRCA2 genu a v kontrolní skupině jsou uvedeny v Tab.1. U osmi žen kontrolní skupiny bylo detekováno pět různých sledovaných variant (BRCA1: c.4654G>T, c.5075G>A, c.5396+48_5396+59dup12, BRCA2: c.9485-16T>C, c.10323delCins11). BRCA1 varianta c.5075G>A se v kontrolní skupině vyskytovala s alelovou četností 2,74%, která je srovnatelná s alelovou četností zjištěnou ve skupině vysoce rizikových žen (viz. Tab. 1.), což naznačuje, že se jedná pravděpodobně o vzácnou polymorfní variantu bez vztahu k nádorové predispozici.

Segregační analýzu bylo možné provést u 11 vysoce rizikových rodin (viz. Tab.1). Vzhledem k tomu, že byl sledován projev nádorového onemocnění v dospělosti s předpokladem neúplné penetrance (cca 80% u žen a cca 10% u mužů), bylo možné využít segreganční analýzu spíše k vyloučení patogenicity sledované varianty.

Na základě segreganční analýzy a zachycených alelických frekvencí byly **BRCA1 varianty: c.5075G>A; c.5396+48_5396+59dup12 a BRCA2 varianty: c.10323delCins11** zařazeny mezi **vzácné polymorfní varianty bez výrazného vlivu na predispozici k nádorovému onemocnění**.

V případě lokalizace „UV“ variant v konzervovaných oblastech míst sestřihu, případně kde byl předpoklad ovlivnění správného sestřihu mRNA dle prediktivního softwarového programu pro vyhledávání pravděpodobného místa sestřihu (http://www.fruitfly.org/seq_tools/splice.html), byla provedena cDNA analýza. Aberantní sestřih, jehož důsledkem bylo narušení čtecího rámce a předčasná terminace translace proteinu, byl prokázán celkem u šesti variant (Tab.1.): **BRCA1: c.4304G>A; BRCA2: c.703G>A, c.704-2A>G, c.7235G>A, c.8983-1G>A a c.9346-2A>G**. Tyto sestřihové varianty jsou již nyní posuzovány jako **patogenní mutace, způsobující nádorovou predispozici**. Varianta **c.9485-16T>C v BRCA2** genu vykazovala pouze normální sestřih a byla zachycena také v kontrolní skupině (Tab.1.), což svědčí spíše o skutečnosti, že tato varianta **nemá vliv na predispozici k nádorovému onemocnění**.

Poněkud komplikovaný výsledek byl získán cDNA analýzou varianty **c.4794+1G>A v BRCA1** genu, kde byl kromě aberantního sestřihu zachován v malém množství také transkript normální.

Intragenová přeskupení BRCA1 genu

Pro MLPA testování byly vybrány pacientky/pacienti z vysoce rizikových rodin (kritérium I.), u kterých nebyla nalezena patogenní mutace v BRCA1 a BRCA2 genech v rámci standardního screeningu. Doposud bylo otestováno 152 nepříbuzných pacientů, z toho u 9 z nich byly zachyceny intragenové přestavby (Obr.1. - výsledky MLPA). Jednalo se o následující delece v BRCA1 genu:

- v jednom případě

- ve dvou případech
- ve třech případech

delece exonů 1A+1B+2
delece části exonu 11+exonu 12
delece exonů 18+19
delece exonu 20
delece exonů 21+22
delece exonů 5-14

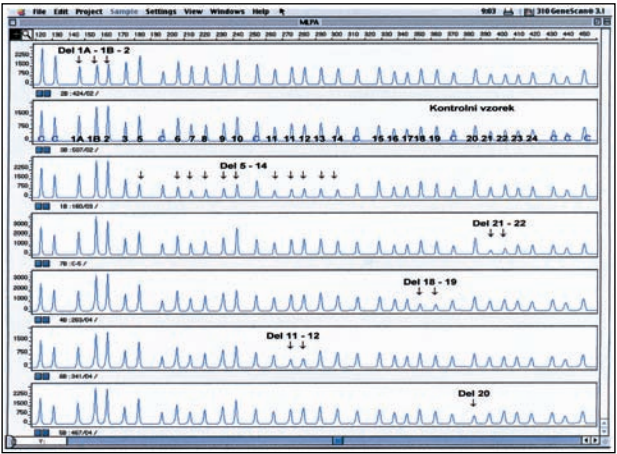
ných mutací v BRCA1 genu. Výsledky byly v současné době ověřeny metodou „Long-range“ PCR a jsou charakterizovány na úrovni genomové DNA. Teprve po charakterizaci delecí na úrovni DNA nebo případně mRNA a po posouzení jejich vlivu na funkci BRCA1 proteinu lze nabídnout testování příbuzným členům postižených rodin (Obr.2. - příklad rodiny s detekovanou delecí v BRCA1 genu) .

Tyto delece tvoří 5,8% původně BRCA1+2 negativních případů, což je v přepočtu **téměř 8% ze všech nálezů**

Tab.1. Varianty neznámého významu v genech BRCA1 a BRCA2 detekované u vysoce rizikových probandů s dědičným syndromem nádoru prsu a/nebo ovaria.

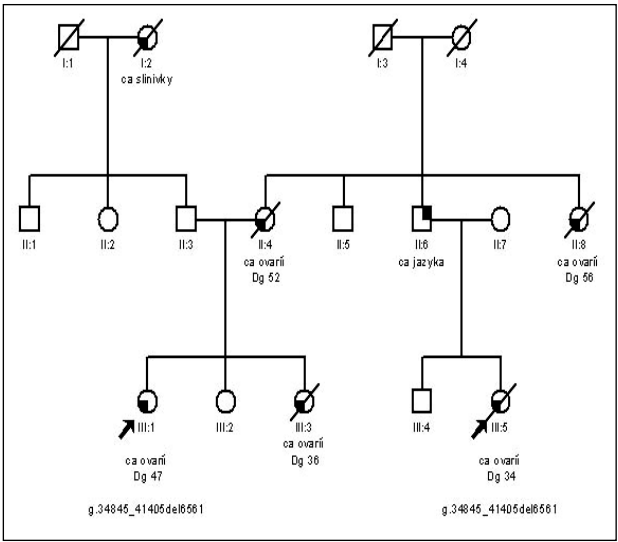
	Exon	BIC nomenklatura	Protein	Zařazovací kritéria	Alelická frekvence (množství alel)		Segregace s onemocněním: ano / ne (počet rodin)	Průkaz aberantního sestřihu mRNA (cDNA analýza)
					Pacienti (300)	Kontroly (73)		
BRCA1	2	c.172T>A	p.M18K	I, II	0,50 (3)	0	ano (2)	
	12	c.4304G>A, splice site	p.Q1395Q	I	0,17 (1)	0		Ano; předčasná terminace translate
	15	c.4654G>T	p.S1512I	II	0,50 (3)	0,69 (1)		
	15	c.4755G>A	p.D1546N	I	0,17 (1)	0		
	IVS15	c.4794+1G>A	intron	Dg.42	-	-		Ano + zachováno malé množství normálního sestřihu !!!
	16	c.4931A>G	p.Q1604Q	II	0,17 (1)	0		
	16	c.4991G>A	p.G1624G	I	0,17 (1)	0		
	16	c.5075G>A, polymorfismus	p.M1652I	I, II	2,50 (15)	2,74 (4)	ano (3), ne (1)	
	IVS20	c.5396+48_5396+59dup12, polymorfismus	intron	I, II	0,67 (4)	0,69 (1)	ne (2)	
BRCA2	IVS20	c.5396+78G>A	intron	I	0,33 (2)	0		
	5	c.703G>A, splice site	p.V159M	I	0,17 (1)	0		Ano; předčasná terminace translate
	IVS5	704-2A>G, splice site	intron	II	0,17 (1)	-		Ano; předčasná terminace translate
	10	c.1206C>A	p.S326R	II	0,33 (2)	0		
	13	c.7235G>A, splice site	p.R2281H	I	0,17 (1)	-		Ano; předčasná terminace translate
	15	c.7772C>T	p.T2515I	I	0,17 (1)	0		
	18	c.8225G>C	p.R2666T	II	0,17 (1)	0		
	18	c.8377G>T	p.A2717S	I	0,17 (1)	0		
	21	c.8951T>G	p.V2908G	II	0,17 (1)	0		
	IVS21	c.8983-1G>A, splice site	intron	II	0,17 (1)	-		Ano; předčasná terminace translate
	IVS23	c.9346-2A>G, splice site	intron	I	0,17 (1)	-		Ano; předčasná terminace translate
	IVS24	c.9485-16T>C, polymorfismus	intron	I	0,33 (2)	0,69 (1)		Ne; pouze normální transcript
	IVS24	c.9485-75G>C	intron	I, II	0,50 (3)	0		
	25	c.9599A>T	p.N3124I	I	0,83 (5)	0	ne (1)	
	27	c.10323delCins11, polymorfismus	stop 3370	I, II	0,50 (3)	0,69 (1)	ano (1), ne (1)	
	27	c.10462A>G	p.L3412V	II	0,17 (1)	0		

Obr. 1. Detekce delecí exonů BRCA1 genu metodou MLPA - výsledky kapilární elektroforézy provedené na přístroji ABI310 (Applied Biosystems).

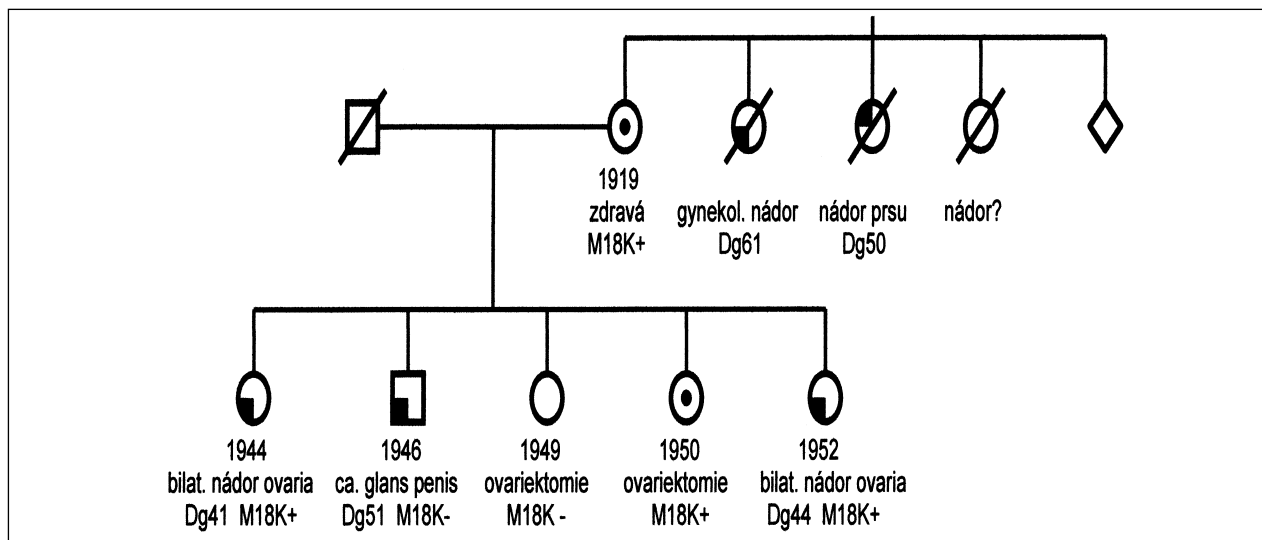


BRCA1 P002 MLPA kit obsahuje 34 sond: 9 kontrolních sond rozeznávajících sekvence různých chromozomů (označeny „C“) a BRCA1 specifické sondy (exony BRCA1 rozeznávané specifickými sondami jsou označeny čísly; dva alternativní exony 1... 1A, 1B; exon 4 není přítomen u normálního BRCA1 transkriptu; s ohledem na velikost exonu 11 zařazeny dvě sondy pro exon 11).

Obr. 2. Výsledky MLPA v rodině s častým výskytem karcinomu ovarii.



Metodou MLPA byla u dvou sester s karcinomem ovarii nalezena delece části exonu 11 a exonu 12 v BRCA1 genu. „Long-range“ PCR a následné sekvenování potvrdilo delecí 6561 bází v pozici 34845 - 41405 genomové DNA (referenční sekvence L78833).



Diskuse

Varianty neznámého významu

Varianta **c.172T>A** (p.M18K) v BRCA1 genu vykazuje pozitivní segregaci ve dvou rodinách (Obr.3. - příklad provedené segregační analýzy) a nebyla nalezena v kontrolní populaci. Vede k záměně nepolárního metioninu za polární lysin ve vysoce konzervativní oblasti domény zinkového prstu BRCA1 proteinu. Důsledkem může být změna terciální struktury proteinu a možná porucha jeho funkce, mutace je tedy pravděpodobně patogenní (9). V klinické praxi je však použití výsledků strukturálního modelování jako důkazu poněkud sporné.

Varianta **c.5075G>A** (M1652I) v BRCA1 genu byla na základě alelových frekvencí a segregační analýzy vyhodnocena jako polymorfismus, což je v souladu s výsledky jiných prací (10, 11). Také mezidruhové srovnání ukázalo, že varianta M1652I představuje wild-type variantu u jiných druhů a byla nalezena společně s patogenní mutací (12, 13).

Za polymorfismus lze nejspíš považovat také variantu **c.9485-16T>C** v BRCA2 genu. Při cDNA analýze nebyl prokázán žádný efekt této varianty na úrovni mRNA (8) a zároveň byla nalezena u sledované kontrolní skupiny. Také ve španělské populaci byla c.9485-16T>C varianta publikována jako s onemocněním nesesegrující polymorfismus (11).

Varianty **c.5396+48_5396+59dup12** v BRCA1 genu, **c.10323delCins11** a **c.9599A>T** v BRCA2 genu se jeví na základě segregační analýzy spíše jako polymorfismy. BRCA1 varianta **c.5396+48_5396+59dup12** byla také popisována v jiných populacích jako polymorfismus detekovaný u zdravých kontrol (11, 14). BRCA2 varianta **c.10323delCins11** vyvolá posun čtecího rámce a následný vznik stop kodonu v pozici 3370, což je až za jadernou lokalizační sekvencí BRCA2 proteinu. Lze tedy předpokládat, že vliv na funkci proteinu je minimální, protože způsobuje ztrátu kratší části proteinu než v literatuře popsána nepatogenní varianta K3326X (15). Varianta **c.10323delCins11** byla publikována také v souvislosti s jinými nádory a rovněž byla klasifikována jako polymorfismus bez vlivu na nádorovou predispozici (16, 17).

Varianty s prokázaným aberantním sestřihem na mRNA úrovni: **BRCA1: c.4304G>A; BRCA2: c.703G>A, c.704-2A>G, c.7235G>A, c.8983-1G>A a c.9346-2A>G** lze označit za patogenní, onemocnění způsobující mutace, protože byl prokázán aberantní sestřih s důsledkem předčasné terminace translace a narušení funkce proteinu. Prediktivní testování přítomnosti těchto mutací již lze nabídnout příbuzným postižených pacientů.

Poněkud komplikovaný výsledek byl získán cDNA analýzou varianty **c.4794+1G>A** v BRCA1 genu, kde byl kromě aberantního sestřihu zachován v malém množství také transkript normální. Patogenita c.4794+1G>A varianty tedy stále není zcela prokázána a bude potřeba provést následně pomocné analýzy jako u jiných neklasifikovaných variant.

Patogenita c.4794+1G>A varianty tedy stále není zcela prokázána a bude potřeba provést následně pomocné analýzy jako u jiných neklasifikovaných variant.

Intragenová přeskupení BRCA1 genu

Delece či duplikace částí genu je častou příčinou mnoha onemocnění. Proto je metoda MLPA pro svou jednoduchost a rychlou dostupnost výsledků v současné době často používána ke stanovení relativního počtu kopií exonů v různých genech: BRCA1/2 (rakovina prsu a vaječníků), MLH1 a MSH2 (hereditární nepolypózní kolorektální karcinom), DMD (Duchenneova muskulární dystrofie) a jiných. Zavedení metody na pracovišti MOU umožnilo detekci sekvenční alterace v BRCA1 genu u dalších téměř 6% rizikových případů.

Množství intragenových přeskupení v BRCA1 genu detekovaných v české populaci odpovídá výsledkům získaným v Německu (18), Francii (19) a Anglii (20). Podíl intragenových přeskupení v Holandsku a v Itálii je podle výsledků studií vyšší, intragenové delece a duplikace zde tvoří čtvrtinu až třetinu BRCA1 mutací (6, 21, 22). Je nepravděpodobné, že by rozdíly v množství detekovaných přestaveb byly způsobeny metodologickými odlišnostmi, protože uvedené studie využívaly stejného komerčního MLPA kitu. Příčinou bude pravděpodobně rozdílný genetický základ studovaných populací a přítomnost tzv. „founder“ mutací, které v určitých populacích tvoří většinu detekovaných přestaveb (6).

Některé typy delecí exonů BRCA1 genu zmiňovaných v této práci byly v literatuře popsány. Jedná se o delece exonů 1A-1B-2 (4, 22, 23, 24), delece exonů 18-19 a delece exonu 20 (22, 25). Po přesné charakterizaci detekovaných delecí a bodů zlomu bude možné říci, zda jsou delece nalezené v české populaci odlišné od delecí popsanych v jiných populacích.

Závěr

V rámci molekulárně genetického testování lze v klinické praxi využít pouze prokazatelně patogenní - onemocnění způsobující - mutace, odlišení patogenních mutací od neškodných polymorfismů má tedy velký praktický význam pro genetické poradenství, stejně jako zavádění nových, přesnějších metod detekce sekvenčních variant a přeskupení.

Práce podpořena granty MZČR MZO 00209805 a IGA MZČR NR/8213-3.

Poděkování K. Claes z Centra pro lékařskou genetiku při Univerzitní nemocnici v Gentu za spolupráci při cDNA analýze.

Literatura

1. Lukešová M, Macháčková E, Vašíčková P, et al. Výsledky testování BRCA1 a BRCA2 genů u rizikových pacientek v molekulárně genetické laboratoři Masarykova onkologického ústavu. *Klinická onkologie, Supplément* 2006, str. 55.
2. Cotton RGH, Scriver CR. Proof of „disease causing“ mutation. *Hum. Mutat.* 1998, 12: 1 - 3.
3. Smith TM, Lee MK, Szabo CI, et al. Complete genomic sequence and analysis of 117 kb of human DNA containing the gene BRCA1. *Genome Res.* 1996, 6: 1029 - 1049.
4. Puget N, Gad S, Perrin - Vidoz L, et al. Distinct BRCA1 rearrangements involving the BRCA1 pseudogene suggest the existence of a recombination hot spot. *Am. J. Hum. Genet.* 2002, 70: 858 - 865.
5. Unger MA, Nathanson KL, Calzone K, et al. Screening for genomic rearrangements in families with breast and ovarian cancer identifies BRCA1 mutations previously missed by conformation-sensitive gel electrophoresis or sequencing. *Am. J. Hum. Genet.* 2000, 67: 841 - 850.
6. Petrij Bosch A, Peelen T, van Vliet M, et al. BRCA1 genomic deletions are major founder mutations in Dutch breast cancer patients. *Nat. Genet.* 1997, 17: 341 - 345.
7. Schouten JP, McElgunn CJ, Cathal J, et al. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res.* 2002, 30: e57.
8. Claes K, Poppe B, Machackova E, et al. Differentiating pathogenic mutations from polymorphic alterations in the splice sites of BRCA1 and BRCA2. *Gen. Chromos. Cancer* 2003, 27: 314 - 320.
9. Machackova E, Damborsky J, Valik D, Foretova L. Novel germline BRCA1 and BRCA2 mutations in breast and breast/ovarian cancer families from the Czech Republic. *Hum. Mutat.* 2001, 18:545 - 549.
10. Deffenbaugh AM, Frank TS, Hoffman M, et al. Characterization of common BRCA1 and BRCA2 variants. *Genet. Test.* 2002, 6 (2): 119 - 121.
11. Díez O, Osorio A, Duran M, et al. Analysis of BRCA1 and BRCA2 genes in Spanish breast/ovarian cancer patients: A high proportion of mutations unique to Spain and evidence of founder effects. *Hum. Mutat.* 2003, 22: 301 - 312.
12. Southey MC, Tesoriero AA, Anderesen CR, et al. BRCA1 mutations and other sequence variants in a population-based sample of Australian women with breast cancer. *Br. J. Cancer* 1999, 79: 34 - 39.
13. Arnold N, Peper H, Bandick K, et al. Establishing a control population to screen for the occurrence of nineteen unclassified variants in the BRCA1 gene by denaturing high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. B* 2002, 782: 99 - 104.
14. Kozłowski P, Sobczak K, Jasinska A, et al. Allelic imbalance of BRCA1 transcript in the IVS20 12-bp insertion carrier. *Hum. Mutat.* 2000, 16: 371.
15. Mazoyer S, Dubbing AM, Serova O, et al. A polymorphic stop kodon in BRCA2. *Nat. Genet.* 1996, 14:253 - 254.
16. Sinilnikova OM, Egan KM, Quinn JL, et al. Germline BRCA2 sequence variants in patients with ocular melanoma. *Int. J. Cancer* 1999, 82 (3): 325 - 328.
17. Hahn SA, Greenhalf B, Ellis I, et al. BRCA2 germline mutations in familial pancreatic carcinoma. *J. Natl. Cancer Inst.* 2003, 95: 214 - 221.
18. Hartmann C, John AL, Klaes R, et al. Large BRCA1 gene deletions are found in 3 % of German high-risk breast cancer families. *Hum. Mutat.* 2004, 24 (6): 534.
19. Gad S, Caus-Moncoutier V, Pages-Berhouet S, et al. Significant contribution of large BRCA1 gene rearrangements in 120 French breast and ovarian cancer families. *Oncogene* 2002, 21: 6841 - 6847.
20. Bunyan DJ, Eccless DM, Sillibourne J, et al. Dosage analysis of cancer predisposition genes by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Br. J. Cancer* 2004, 91: 1155 - 1159.
21. Hogervorst FBL, Nederlof PM, Gille JJP, et al. Large genomic deletions and duplications in the BRCA1 gene identified by a novel quantitative Method. *Cancer Res.* 2003, 63: 1449 - 1453.
22. Montagna M, Dalla Palma M, Menin C, et al. Genomic rearrangements account for more than one-third of the BRCA1 mutations in northern Italian breast/ovarian cancer families. *Hum. Mol. Genet.* 2003, 12 (9): 1055 - 1061.
23. Swensen J, Hoffman M, Skolnick MH, Neuhausen SL. Identification of a 14kb deletion involving the promoter region of BRCA1 in a breast cancer family. *Hum. Mol. Genet.* 1997, 6 (9): 1513 - 1517.
24. Brown M, Lo L-J, Cateau A, et al. Germline BRCA1 promoter deletions in UK and Australian familial breast cancer patients: identification of a novel deletion consistent with BRCA1:BRCA1 recombination. *Hum. Mutat.* 2002, 19: 435 - 442.
25. Belogianni I, Apeessos A, Mihalatos M, et al. Characterization of a novel large deletion and single point mutations in the BRCA1 gene in a Greek cohort of families with suspected hereditary breast cancer. *BMC Cancer* 2004, 4: 61.

FAMILIÁRNÍ ADENOMATÓZNÍ POLYPÓZA – NOVINKY V MOLEKULÁRNÍ DIAGNOSTICE

FAMILIAL ADENOMATOUS POLYPOSIS – NOVEL MOLECULAR DIAGNOSTIC TECHNIQUES

ŠTEKROVÁ J.¹, ŠULOVÁ M.¹, ZÍDKOVÁ K.¹, KLEIBL Z.², VANDROVCOVÁ J.¹, KEBRDLOVÁ V.¹, KOTLAS J.¹, KOHOUTOVÁ M.¹,

¹ÚSTAV BIOLOGIE A LÉKAŘSKÉ GENETIKY 1. LF UK A VFN, PRAHA

²ÚSTAV BIOCHEMIE A EXPERIMENTÁLNÍ ONKOLOGIE 1. LF UK, PRAHA

Souhrn

Familiární adenomatózní polypóza je autozomálně dominantně dědičná predispozice pro vznik kolorektálního karcinomu. Příčinou onemocnění jsou zárodečné mutace v genu *APC*. Mírnější fenotyp onemocnění u pacientů s atenuovanou formou familiární adenomatózní polypózy nebo výskytem mnohočetných adenomů může být asociován se zárodečnými mutacemi v genu *MYH*. Přímá detekce zárodečných mutací v genu *APC* byla provedena v souboru 230 nepřibuzných rodin s familiární adenomatózní polypózou. Kódující oblast genu *APC* byla analyzována kombinací metod denaturační gradientové gelové elektroforézy, testem na detekci zkráceného proteinu a přímou sekvenací. V 93 rodinách bylo detekováno 66 různých mutací, z toho je 42 mutací unikátních pro testovaný soubor. V rodinách, kde nebyla detekována zárodečná mutace v genu *APC*, byla metodou MLPA provedena detekce rozsáhlých delecí v genu *APC* a metodou s využitím vysokotlakové kapalinové chromatografie byla provedena detekce zárodečných mutací v genu *MYH*. Ve dvou rodinách byla prokázána rozsáhlá delece celého genu *APC* a v jedné rodině byla prokázána delece jednoho exonu. Ve dvou rodinách byla detekována přítomnost kombinace dvou nejčastějších zárodečných mutací v genu *MYH*. V práci je diskutována korelace mezi lokalizací zárodečné mutace a klinickou manifestací onemocnění.

Klíčová slova: Familiární adenomatózní polypóza, kolorektální karcinom, gen *APC*, gen *MYH*, mutační analýza DNA

Summary

Familial adenomatous polyposis is an autosomal dominant predisposition to colorectal cancer and is caused by germline mutations in the *APC* gene. A milder phenotype is found in patients affected with attenuated familial adenomatous polyposis or multiple adenomas. Patients with multiple adenomas might be associated with germline mutations in the *MYH* gene. We studied a cohort of 230 adenomatous polyposis families; we screened the entire *APC* coding region using the combination of denaturing gradient gel electrophoresis and/or a protein truncation test and direct sequencing. We detected 66 different mutations in 93 families; 42 of the mutations were unique. The *APC* mutation negative patients have been screened for large *APC* deletions using multiplex ligation dependent probe amplification and for germline mutations in the *MYH* gene using the denaturing high performance liquid chromatography (system WAVE; Transgenomic) and direct sequencing. Two families showed a constitutional deletion of the entire *APC* gene and one family a single exon deletion. The most common biallelic germline mutation in the *MYH* gene was detected in two families. Correlations between the localization of germline mutations and clinical manifestations of the diseases are discussed.

Key words: Familial adenomatous polyposis, colorectal carcinoma, *APC* gene, *MYH* gene, mutation analysis of DNA

Úvod

Familiární adenomatózní polypóza (MIM # 175100) je autozomálně dominantně dědičná predispozice pro vznik kolorektálního karcinomu (CRC – colorectal carcinoma). Familiární adenomatózní polypóza (FAP), společně s hereditárním nepolypózním kolorektálním karcinomem (HNPCC), patří mezi nejvíce studované formy hereditárních kolorektálních karcinomů. Výzkum těchto onemocnění umožnil identifikaci a charakteristiku genů zodpovědných za kolorektální karcinogenezi hereditárních i sporadických forem onemocnění. Hereditární formy tvoří přibližně 20% všech případů CRC. Znalost molekulárně genetické podstaty onemocnění umožňuje presymptomatickou diagnostiku na úrovni DNA a na jejím podkladě vypracovat preventivní a léčebnou strategii.

Výskyt FAP je v české populaci odhadován na 1/5000 – 7500 jedinců. Frekvence onemocnění je v populaci udržována častý-

mi mutacemi de novo. FAP se vyskytuje ve dvou formách. Klasická forma je charakterizovaná výskytem stovek až tisíců adenomatózních polypů v tlustém střevu a rektu a časným nástupem onemocnění (2. dekáda života). V některém z velkého množství kolorektálních polypů se postupně vyvíjejí adenokarcinomy. Pro FAP je charakteristický výskyt řady extrakolických projevů (1), mezi něž patří vrozená hypertrofie pigmentového epitelu retiny (CHRPE), výskyt polypů v duodenu, desmoidních tumorů, epidermoidních cyst, osteomů a vzácný není ani výskyt hepatoblastomu. CHRPE se vyskytuje přibližně u 80 % pacientů a je proto důležitým diagnostickým faktorem. Atenuovaná forma FAP (AFAP) je charakterizovaná menším počtem polypů (<100) a pozdějším nástupem onemocnění, riziko vzniku karcinomu je však rovněž vysoké.

Příčinou FAP jsou zárodečné mutace v genu *APC* (Adenoma-

tous Polypsis Coli). Onemocnění, jež vykazuje značnou fenotypovou variabilitu, je vysoce penetrantní a k jeho rozvoji dojde téměř u 100% nosičů mutace. V rodinách s výskytem FAP je u osob v riziku onemocnění velmi významná presymptomatická diagnóza, která umožní včasné preventivní zákroky. Somatické mutace v genu *APC* byly identifikovány přibližně u 80% sporadických CRC, kde tyto mutace hrají významnou úlohu v iniciaci mnohastupňového procesu kolorektální karcinogeneze.

Gen *APC* je tumor supresorový gen, který byl v roce 1987 pozicním klonováním lokalizován na dlouhé raménko 5. chromozómu (5q21) (2) a podrobněji popsán byl v roce 1991 (3,4). Gen je tvořen 15 exony, přičemž 15. exon obsahuje přibližně 75% kódující sekvence genu. Pro kolorektální tumorigenezi u FAP jsou nezbytné mutace v obou alelách genu *APC*; zárodečná mutace genu *APC* je děděna od jednoho z rodičů, k somatické mutaci pak dochází v epiteliálních buňkách střeva na druhé, dosud zdravé alele. Sporadické CRC mají obě alely genu mutované na somatické úrovni. V genu *APC* bylo dosud popsáno asi 690 mutací, které mají za následek vznik nefunkčního proteinu (5).

Gen *APC* kóduje protein APC, který hraje významnou roli v regulaci hladiny β -kateninu v cytoplasmě a je součástí Wnt signální dráhy. V důsledku inaktivace proteinu APC dochází k hromadění β -kateninu v cytoplasmě a následně k jeho transportu do jádra, kde v komplexu s dalšími faktory (TCF - T cell factors, LEF - Lymphoid enhancer factor) aktivuje transkripci cílových genů (protoonkogen *c-myc*, cyklin D1 a další), které regulují průběh buněčného cyklu. Protein APC se účastní i regulace buněčné migrace, buněčné adheze a stability mikrotubulárního cytoskeletu, průběhu buněčného cyklu, segregace chromozomů a apoptózy (6).

V současnosti je zárodečná mutace v genu *APC* zachycena u 60–80% rodin s výskytem FAP. Přibližně u 20–40% rodin s klinickými příznaky FAP není molekulárně genetická příčina odhalena. Příčinou mohou být mutace v regulačních oblastech genu, případně další mutace, které nejsou současnými metodami mutační analýzy zachyceny. Vyloučit však nelze ani účast mutací v dalším dosud neidentifikovaném genu, případně více genech.

Možnost účasti dalšího genu při vzniku onemocnění byla v poslední době podpořena nálezy ve skupině pacientů s výskytem tzv. „mnohočetných adenomů“ (3 až 100 adenomatózních polypů). Pacienti vykazují mírnější fenotyp, často jsou jedinými postiženými v rodině a nemusí u nich být nalezena zárodečná mutace v genu *APC* (7). V této skupině pacientů je třeba v rámci diferenciální diagnostiky uvažovat o AFAP, ale i HNPCC nebo o nové nedávno identifikované dědičné formě polypózy pojmenované MYH asociovaná polypóza (MAP; OMIM 604933). Zárodečné mutace v genu *MYH* (MutY homolog *Escherichia coli*) mohou být příčinou autozomálně recesivně (AR) dědičné formy polypózy (8,9,10). Gen *MYH*, lokalizovaný na chromozom 1p34.3 – 1p32.1, je součástí opravného systému buňky zajišťujícího báзовé excisní opravy (BER – base excision repair). Tento opravný systém hraje důležitou úlohu při opravě mutací způsobených oxidačními produkty, které vznikají v průběhu aerobního metabolismu. Nejstabilnějším produktem oxidačního poškození DNA je 8-oxoG (8-oxo-7,8-dihydroxy-2'-deoxyguanosine), který se místo s cytosinem páruje s adeninem, což vede k záměně bází G:C→T:A. Nádory postižených pacientů vykazují tento typ somatické mutace (transverze G:C→T:A) v genu *APC*, což vysvětluje přítomnost příznaků podobných FAP nebo AFAP. Produktem genu *MYH* je adenin specifická DNA glykosylasa, která odstraňuje nesprávně spárovaný adenin z vazby na 8-oxoG. Součástí opravného systému BER jsou ještě další dva enzymy MTH1 a OGG1, které působí současně a brání vzniku mutací indukovaných 8-oxoG.

Z uvedených důvodů vyplývá význam molekulárně genetického testování jedinců jak s velkým, tak s malým počtem kolo-

rektálních adenomatózních polypů, včetně sporadicky se vyskytujících polypů. AR typ dědičnosti onemocnění, který je podmíněn nálezem bialelických zárodečných mutací v genu *MYH*, vysvětluje výskyt onemocnění i ve skupině pacientů s negativní rodinnou anamnézou.

Stanovení genetických příčin kolorektální polypózy, tj. určení frekvence a typu kauzálních zárodečných mutací v genu *APC* a *MYH*, umožní včasnou presymptomatickou DNA diagnostiku u příbuzných osob v riziku onemocnění a dále má nesporně diferenciálně diagnostický význam.

Materiál a metody

Detekce zárodečných mutací v genu *APC*

Pacienti: Přímá detekce zárodečných mutací v genu *APC* byla provedena v souboru 230 nepřibuzných pacientů z rodin s výskytem kolorektální polypózy; FAP byla jednoznačně klinicky diagnostikována ve 120 rodinách. Pacienti jsou k vyšetření doporučeni na základě koloskopických nálezů a/nebo pozitivní rodinné anamnézy. Pacienti mohou být k vyšetření zasláni po konzultaci klinickým genetikem, případně gastroenterologem, chirurgem, onkologem apod. Před genetickým testováním pacienti vždy podepisují poučený souhlas s molekulárně genetickým vyšetřením.

Metody: Genomová DNA byla izolována z leukocytů periferní krve (11) a následně amplifikována polymerasovou řetězovou reakcí (PCR) s využitím 30 párů oligonukleotidových primerů navržených tak, aby vyšetření pokrývalo celou oblast genu *APC*. PCR produkty byly analyzovány metodou DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) (12,13). U některých pacientů bylo DNA vyšetření doplněno testem PTT (Protein Truncation Test) (14). Úseky, ve kterých byla metodou DGGE, případně testem PTT zjištěna přítomnost abnormálního PCR produktu, byly následně sekvenovány na genetickém analyzátoru ABI Prism™ 310 (PE Applied Biosystems).

V rodinách s detekovanou mutací byla provedena segregace nalezené mutace s onemocněním jednotlivých členů rodiny metodou DGGE a/nebo sekvenací. V rodinách pacientů, u nichž byla detekována mutace, bylo doporučeno vyšetření dalších příbuzných osob v riziku onemocnění. Příbuzné osoby v riziku musí být před odběrem krve k izolaci DNA a následnou presymptomatickou DNA analýzou konzultovány klinickým genetikem.

V rodinách, kde nebyla detekována zárodečná mutace v genu *APC* standardními metodami (DGGE, příp. PTT), byla provedena detekce rozsáhlých delecí v genu *APC*. Detekce dlouhých delecí byla provedena u 96 nepřibuzných pacientů metodou MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) od firmy MRC-Holland. Pro vyšetření byl použit SALSA P043 APC MLPA kit (15).

Detekce zárodečných mutací v genu *MYH*

Pacienti: Do studie bylo zařazeno 90 nepřibuzných pacientů, u nichž nebyla standardními metodami mutační analýzy nalezena zárodečná mutace v genu *APC*. Vyšetřovaná skupina zahrnovala pacienty s mnohočetnými kolorektálními adenomy (3-100) a dále pacienty s klasickou formou FAP (>100 polypů).

Metody: Genomová DNA byla izolována z leukocytů periferní krve (11) a byla amplifikována metodou PCR. Mutační analýza byla provedena metodou DHPLC (Denaturing High Performance Liquid Chromatography) s využitím systému WAVE (Transgenomic). Typ záměny a její přesná lokalizace byla určena následnou sekvenací na genetickém analyzátoru ABI Prism™ 310.

Výsledky

V 93 rodinách z testovaného souboru byla standardními metodami (DGGE, příp. PTT) detekována zárodečná mutace v genu *APC*; bylo detekováno 66 různých mutací. Rozsáhlá delece celého genu *APC* včetně promotorových oblastí byla zjištěna metodou MLPA u dvou nepřibuzných probandů a u jednoho

probanda byla stejnou metodou nalezena delece exonu 14 genu *APC*. Celkový záchyt zárodečných mutací v genu *APC* je tedy 42% v celém testovaném souboru (230 rodin) a 69% v souboru rodin s jednoznačně klinicky diagnostikovanou FAP.

V našem souboru pacientů bylo detekováno 42 unikátních mutací; 18 z těchto mutací nebylo dosud popsáno a 24 mutací bylo publikováno v roce 2002 a 2004 (16, 17). Zbytek, tj. 24 mutací detekovaných u 47 probandů z testovaného souboru, tvoří zárodečné mutace již dříve popsané zahraničními autory. Standardními metodami bylo detekováno 31 různých mutací v exonech 1-14 (47% ze 66 různých mutací) a 35 různých mutací v exonu 15 (53% ze 66 různých mutací). Nejčastěji se vyskytující mutace v kodonu 1309 byla detekována v 8 rodinách; mutace v kodonu 935 byla detekována v 5 rodinách; ve 4 rodinách byla detekována mutace v kodonu 213 a mutace v kodonu 216; ve 3 rodinách byla detekována mutace v kodonu 1061 a mutace v kodonu 541. Ostatní detekované mutace jsou unikátní pro jednotlivé rodiny, případně se vyskytují ve dvou rodinách (4 mutace). 90% z nalezených mutací predikují vznik zkráceného nefunkčního APC proteinu. Bylo detekováno 7% mutací, které mění místo střihu a bez vyšetření na úrovni RNA nelze přesně určit výsledný protein; tyto mutace byly detekovány ve velkých rodinách a jednoznačně segregují s onemocněním. Pouze 3% z mutací tvoří dlouhé delece detekované metodou MLPA.

V 96 rodinách s detekovanou mutací bylo testováno celkem 320 osob; u 130 osob s klinicky diagnostikovaným onemocněním byla FAP jednoznačně potvrzena. Prediktivní testování bylo provedeno u 190 příbuzných osob v riziku, přítomnost mutace byla nově detekována u 76 převážně velmi mladých osob. Ve 4 rodinách byla potvrzena mutace de novo (ani u jednoho z rodičů probanda nebyla mutace detekována).

Molekulárně genetická analýza genu *MYH* v souboru 90 probandů odhalila 18 variací v sekvenci DNA. Dva pacienti byli složenými heterozygoty pro nejčastější dosud popsané varianty p.Y165C a p.G382D (8), které jsou příčinou kolorektálního polypózy. Fenotypy těchto pacientů odpovídaly AFAP a v jejich rodinné anamnéze nebyl zaznamenán výskyt CRC nebo mnohočetných adenomů. Kromě toho bylo zjištěno 13 polymorfismů nebo intronických změn, z toho 5 nově popsaných genetických alterací nacházejících se převážně v intronech genu *MYH*.

Diskuse

V testovaném souboru 230 nepříbuzných rodin s výskytem klasické či atenuované adenomatózní polypózy nebo s výskytem mnohočetných adenomů, případně s podezřením na toto onemocnění, bylo detekováno celkem 68 různých mutací v genu *APC* v 96 nepříbuzných rodinách (včetně dlouhých delecí detekovaných metodou MLPA). Tento fakt potvrzuje extrémně různorodé spektrum zárodečných mutací v genu *APC*. Standardně používané techniky detekce mutací nejsou úspěšné přibližně u 30% pacientů s jednoznačně prokázanou FAP v námi testovaném souboru rodin, což je ve shodě se zahraničními údaji (18). Rovněž spektrum detekovaných mutací v genu *APC* se příliš neliší od zahraničních údajů, pouze zastoupení dvou nejčastějších mutací (mutace v kodonech 1309 a 1061) je v našem souboru nižší (8% a 3%) – v zahraničních studiích tvoří tyto mutace až 30% z detekovaných mutací (19). Také v souboru našich pacientů je velká variabilita ve fenotypu, a to i u jedinců s identickou mutací v rámci jedné rodiny. Tyto výsledky dokazují, že výsledný fenotyp může být ovlivněn faktory vnějšího i vnitřního prostředí včetně možnosti účinku modifikujících genů genetického pozadí. Naše studie rovněž potvrdila přímou souvislost mezi fenotypem a lokalizací kauzální mutace v genu *APC*; mutace mezi kodony 1250 až 1464 jsou spojeny s velkým počtem kolorektálních polypů a časným nástupem onemocnění klasické formy FAP (20) a naopak mutace v exonech 1-4 a 9 jsou spojeny s fenotypem AFAP (21).

Metodou MLPA byla ve dvou rodinách s lehčí formou FAP detekována úplná delece genu *APC* a v jedné rodině s velmi těžkou formou FAP (u dvou sourozenců četné polypy + CHR-PE, v 18 letech provedena kolektomie; matka diagnostikována na FAP ve 25 letech, zemřela ve 27 letech) byla detekována delece exonu 14. Tento záchyt je nižší než v obdobných zahraničních studiích (18, 22). Lehčí formu onemocnění v rodinách s kompletní delecí genu *APC* lze vysvětlit sníženou hladinou koncentrace normálního APC proteinu; těžší formy FAP jsou však způsobeny jednak sníženou hladinou koncentrace normálního APC proteinu a jednak přítomností aberantního APC proteinu, který může funkčně interferovat se zdravou formou APC proteinu.

U dvou nepříbuzných probandů byly detekovány bialelické zárodečné mutace v genu *MYH*, což potvrzuje nedávný poznatek, že mohou mutace genu *MYH* způsobit fenotyp mnohočetných adenomů s autozomálně recesivní dědičností; tento typ polypózy může být považován za atenuovanou formu FAP (23). Je prozatím předčasné posuzovat význam dalších nalezených změn v genu *MYH*, ať již popsaných nebo nově zjištěných. Tyto změny vyžadují podrobnější analýzu včetně korelace s klinickými projevy. Přesto jsou již nyní významnou součástí presymptomatické diagnostiky.

Ve třech rodinách se suspektním onemocněním FAP, ve kterých nebyla nalezena mutace v genu *APC*, byla následně nalezena mutace genů *MLH1* a *MSH2*, jejichž zárodečné mutace jsou příčinou HNPCC. Naopak u probandky doporučené k molekulárně genetickému vyšetření s podezřením na HNPCC byla následně detekována zárodečná mutace v genu *APC* (24). Tyto výsledky ukazují na možnosti diferenciální DNA diagnostiky mezi jednotlivými typy hereditárních forem kolorektální polypózy.

Dosud však zůstává velké množství neobjasněných příčin polypózních CRC s familiárním výskytem. Příčinou mohou být zárodečné mutace, které ovlivňují expresi genu *APC* nebo je uvažována účast dalších, dosud neidentifikovaných genů.

Význam práce spočívá zejména v možnosti časné presymptomatické diagnostiky onemocnění u jedinců v riziku onemocnění a v možnosti diferenciální DNA diagnostiky mezi jednotlivými typy hereditárních forem kolorektální polypózy. Standardní vyšetření genu *APC* u probanda rodiny s FAP je technicky náročné a je nutno počítat s výsledkem v horizontu 3 až 6 měsíců. Genetické testování probanda může indikovat klinický genetik, gastroenterolog, případně další specialista. Indikace musí obsahovat přesné klinické údaje o pacientovi s přesnou rodinnou anamnézou (viz. příloha: Formulář k molekulárně genetickému vyšetření pacienta se suspektní FAP) a poučený souhlas pacienta s genetickým vyšetřením. Vzhledem k časové náročnosti vyšetření, se nedoporučuje u pacientů s klinicky evidentní FAP, při rozhodování o operaci, čekat na výsledek analýzy genu *APC*. V rodině, ve které je již detekována kauzální mutace, lze velmi rychle vyšetřit osoby v riziku onemocnění; vzhledem k dominantnímu přenosu je riziko pro děti pacientů s FAP 50%. Výsledek presymptomatického DNA vyšetření je jednoznačný (100%). Nositelé zárodečných mutací jsou pravidelně sledováni na gastroenterologických odděleních a na základě klinického obrazu jsou včas provedeny preventivní zákroky. Jedinci, u nichž byla vyloučena přítomnost mutace, nemusí být dále systematicky kontrolováni. Vzhledem k velmi časnému nástupu onemocnění FAP je v rodinách s detekovanou mutací doporučováno vyšetření dětí již ve věku 10 let. Presymptomatickému vyšetření osob v riziku musí vždy předcházet konzultace klinickým genetikem. I přestože existuje již výše zmíněná korelace mezi genotypem (typem a lokalizací mutace) a fenotypem, fakt vysoké variability neumožňuje jednoznačně predikovat prognózu onemocnění. Vyšetření genu *MYH* se v současnosti provádí v rámci výzkumu, získané výsledky však mohou mít v rodinách diagnostický význam.

Kromě praktického výstupu mají výsledky prací, které se zabý-

vají molekulárně genetickou analýzou hereditárních forem CRC, význam i v poznání mechanismu kolorektální karcinogeneze u sporadicky se vyskytujících CRC.

Poděkování

Autoři děkují MUDr. A. Křepelové, CSc za vyšetření genů MLH1 a MSH2 u pacientů s podezřením na diagnosu HNP-CC.

Autoři dále děkují doc. MUDr. V. Jiráskovi, CSc, MUDr. L. Fore-

tové, PhD, MUDr. P. Plevové, PhD, MUDr. Ilenčíkové, Dr. Zajacovi, MUDr. V. Krutílkové, MUDr. Puchmajerové, Doc. MUDr. F. Lošanovi, CSc, prim. MUDr. I. Šubrtovi, prim. MUDr. J. Hyjánkovi a mnoha dalším lékařům, kteří zaslali pacienty ke genetickému vyšetření a umožnili nám vytvořit unikátní soubor pacientů.

Práce je podporována výzkumným záměrem MŠMT ČR: MSM0021620808 a grantovým projektem IGA MZ ČR: NR8103-3/2004

Literatura

1. Jirásek, V.: Vyšetřování u familiární adenomatózní polypózy. Vnitř. Lék., 2002, 48, s.552-555.
2. Bodmer, W.F., Bailey, C.J., Bodmer, J.G. et al.: Localization of the gene for familial adenomatous polyposis on chromosome 5. Nature, 1987, 328, s.614-616.
3. Groden, J., Thliveris, A., Samowitz, W.S. et al.: Identification and characterization of the familial adenomatous polyposis coli gene. Cell, 1991, 66, s.589-600.
4. Kinzler, K.W., Nilbert, M.C., Vogelstein, B. et al.: Identification of FAP locus genes from chromosomes 5q21. Science, 1991, 253, s.661-665.
5. The Human Gene Mutation Database, Cardiff, <http://www.hgmd.cf.ac.uk/>
6. Fearnhead, N.S., Britton, M.P. and Bodmer, W.F.: The ABC of APC. Hum. Mol. Genet., 2001, 10, s.721-733.
7. Sieber, O.M., Lamlum, H., Crabtree, M. et al.: Whole-gene APC deletions cause classical familial adenomatous polyposis, but not attenuated polyposis or „multiple“ colorectal adenomas. Proc. Natl. Acad. Sci., 2002, 99, s.2954-2958.
8. Al-Tassan, N., Chmiel, N.H., Maynard, J. et al.: Inherited variants of MYH associated with somatic G:C>T:A mutations in colorectal tumors. Nat. Genet., 2002, 30, s.227-232.
9. Jones, S., Emmerson, P., Maynard, J. et al.: Biallelic germline mutations in MYH predispose to multiple colorectal adenoma and somatic G:C>T:A mutations. Hum. Mol. Genet., 2002, 11, s.2961-2967.
10. Sieber, O.M., Lipton, L., Crabtree, M. et al.: Multiple colorectal adenomas, classic adenomatous polyposis, and germ-line mutations in MYH. N. Engl. J. Med. 2003, 348, s.791-9.
11. Miller, S.A., Dykes, D.D., Polesky, H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucl. Acid. Res., 1988, 16, s.1215.
12. Olschwang, S., Laurent-Puig, P., Groden, J. et al.: Germ-line mutations in the first 14 exons of the adenomatous polyposis coli (APC) gene. Am. J. Hum. Genet., 1993a, 52, s. 273-279.
13. Olschwang, S., Turet, A., Laurent-Puig, P. et al.: Restriction of ocular fundus lesions to a specific subgroup of APC mutations in adenomatous polyposis coli patients. Cell, 1993b, 75, s.959-968.
14. Van der Luijt, R.B., Meera Khan, P.: Protein truncation test for presymptomatic diagnosis of familial adenomatous polyposis. In: Adolph KW (ed): Methods in Molecular Genetics 18: Human Molecular Genetics. San Diego: Academic Press, 1996, s.97-111.
15. Bunyan, D.J., Eccles, D.M., Sillibourne, J. et al.: Dosage analysis of cancer predisposition genes by MLPA. British Journal of Cancer, 2004, 91, s.1155-1159.
16. Kohoutová, M., Štekrová, J., Jirásek, V., Kapras, J.: APC germline mutations identified in Czech patients with familial adenomatous polyposis. Hum. Mutat., 2002, 19, 4, s.460-461.
17. Vandrovcová, J., Štekrová, J., Kebrdlová, V., Kohoutová, M.: Molecular analysis of the APC and MYH genes in Czech families affected by FAP or multiple adenomas: 13 novel mutations. Hum. Mutat., 2004, 23 (4), s.397. (Mutation in Brief #695 Online, pp.8).
18. Renkonen, e.t., Nieminen, P., Abdel-Rahman, W.M. et al.: Adenomatous Polyposis Families That Screen APC Mutation-Negative by Conventional Methods Are Genetically Heterogenous. Journal of Clinical Oncology, 2005, 23 (24), s.5651-5659.
19. Fernández-Suárez, A., Cordero Fernandez, C., García Lozano, R. et al.: Clinical and ethical implications of genetic counselling in familial adenomatous polyposis. Rev Esp Enferm Dig (Madrid), 2005, 97 (9), s.654-665.
20. Spirio, L.N., Samowitz, W., Robertson, J. et al.: Alleles of APC modulate the frequency and classes of mutation that lead to colon polyps. Nature Genet, 1998, 20, s. 385-388.
21. Brensinger, J.D., Laken, S.J., Luce, M.C. et al.: Variable phenotype of familial adenomatous polyposis in pedigrees with 3_ mutation in the APC gene. Gut, 1998, 43, s. 548-552.
22. Michils, G., Tejpar, S., Thoenen, R. et al.: Large Deletions of the APC Gene in 15% of Mutation-Negative Patients with Classical Polyposis (FAP): A Belgian Study. Hum. Mutat., 2005, 25, s.125-134.
23. Lipton, L., Halford, S.E., Johnson, V. et al.: Carcinogenesis in MYH-Associated Polyposis Follows a Distinct Genetic Pathway. Cancer Res., 2003, 63, s.7595-7599.
24. Vávra, P., Dostálík, J., Martinek, L. et al.: Familial adenomatous polyposis as a precancerosis of colon cancer. Bratisl.Lék.Listy, 2002, 103 (11), s.418-421.

RA: (uveďte, prosím, jméno a příjmení, u žen i příjmení za svobodna, datum narození, event. úmrtí)

jiný příbuzný(upřesněte*)

koléktomie

karcinom

extrakolické projevy

koloskopie

ne

ne

ne

ne

ano

ano

ano

ano

upřesnění/věk

nález/počet polypů

jiný příbuzný(upřesněte*)

koléktomie

karcinom

extrakolické projevy

koloskopie

ne

ne

ne

ne

ano

ano

ano

ano

upřesnění/věk

nález/počet polypů

jiný příbuzný(upřesněte*)

koléktomie

karcinom

extrakolické projevy

koloskopie

ne

ne

ne

ne

ano

ano

ano

ano

upřesnění/věk

nález/počet polypů

Další důležité údaje:

Datum:.....

Za Vaši spolupráci Vám srdečně děkujeme!

Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN

Laboratoř molekulární diagnostiky

Albertov 4, 128 00 Praha 2,

Tel.: 2 2496 8152

Formulář k molekulárně genetickému vyšetření pacienta se suspektní FAP

Jméno a příjmení pacienta:

Rozená:

Rodné číslo:

Pojišťovna:

Adresa:

koléktomie

karcinom

extrakolické projevy

koloskopie

ne

ne

ne

ne

ano

ano

ano

ano

upřesnění/věk

nález/počet polypů

RA: (uveďte, prosím, jméno a příjmení, u žen i příjmení za svobodna, datum narození, event. úmrtí)

otec/matka

koléktomie

karcinom

extrakolické projevy

koloskopie

ne

ne

ne

ne

ano

ano

ano

ano

upřesnění/věk

nález/počet polypů

jiný příbuzný(upřesněte*)

koléktomie

karcinom

extrakolické projevy

koloskopie

ne

ne

ne

ne

ano

ano

ano

ano

upřesnění/věk

nález/počet polypů

*) V případě více postižených osob v rodině použijte další list.

Podpis a adresa ošetřujícího lékaře,vč. IČZ,nákladového střediska,č. odbornosti:

Datum:.....

Za Vaši spolupráci Vám srdečně děkujeme!

Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN

Laboratoř molekulární diagnostiky

Albertov 4, 128 00 Praha 2,

Tel.: 2 2496 8152

VZÁCNÉ HEREDITÁRNÍ SYNDROMY S VYŠŠÍM RIZIKEM VZNIKU NÁDORŮ

RARE HEREDITARY SYNDROMES WITH INCREASED RISK OF CANCER

PLEVOVÁ P.^{1,2}, ŠILHÁNOVÁ E.³, FORETOVÁ L.⁴

¹ODDĚLENÍ LÉKAŘSKÉ GENETIKY, FNŠP OSTRAVA

²ÚSTAV PATOLOGIE & LABORATOŘ MOLEKULÁRNÍ PATOLOGIE, LF UP V OLOMOUCI

³ODDĚLENÍ LÉKAŘSKÉ GENETIKY, FNŠP OSTRAVA

⁴ODDĚLENÍ GENETIKY A EPIDEMIOLOGIE NÁDORŮ, MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

Souhrn

Kromě relativně častých syndromů dědičné predispozice k nádorům, které zahrnují hereditární karcinom prsu a vaječníků, hereditární nepolypózní kolorektální karcinom a familiární adenomatózní polypózu, existují také další, mnohem vzácnější syndromy, které také predisponují ke vzniku nádorů. Cílem tohoto článku je uvést přehled těchto syndromů, jejich klinický obraz a určitá doporučení ke sledování osob s těmito syndromy. Zahrnuty jsou syndromy: ataxia teleangiectasia, Nijmegen breakage syndrom, Berlin breakage syndrom, Seckelův syndrom, Bloomův syndrom, Fanconioho anémie, Xeroderma pigmentosum, familiární melanom s nebo bez dysplastických névů, neurokutánní melanóza, Gorlinův syndrom, Rothmund-Thomsonův syndrom, Wernerův syndrom, ezofageální karcinom s tylózou, familiární karcinom žaludku, familiární karcinom pankreatu, neurofibromatóza, familiární chordom, familiární paragangliom, mnohočetná endokrinní neoplázie, familiární karcinoid, mnohočetná osteochondromatóza, familiární karcinom prostaty, familiární karcinom varlete, retinoblastom, tuberozní skleróza, Cowdenův syndrom, Wilmsův tumor, syndromy nadměrného růstu tkáně a Carneyho syndrom.

Klíčová slova: nádory, hereditární predispozice, vzácné syndromy.

Summary

Besides relatively frequent syndromes of hereditary predisposition to cancer that include hereditary breast and ovarian cancer, hereditary nonpolyposis colon cancer and familial adenomatous polyposis, there are also other less frequent syndromes. The aim of this article is to review these syndromes, their clinical symptomatology and recommend screening. Included are ataxia teleangiectasia, Nijmegen breakage syndrome, Berlin breakage syndrome, Seckel syndrome, Bloom syndrome, Fanconi anaemia, Xeroderma pigmentosum, familial melanoma with and without dysplastic nevi, neurocutaneous melanosis, Gorlin syndrome, Rothmund-Thomson syndrome, Werner syndrome, oesophageal cancer with tylosis, familial cancer of stomach, familial cancer of pancreas, neurofibromatosis, familial chordoma, familial paraganglioma, multiple endocrine neoplasia, familial carcinoid, multiple osteochondromatosis, familial prostate cancer, familial testicular cancer, retinoblastoma, tuberous sclerosis, Cowden syndrome, Wilms tumor, overgrowth syndromes and Carney syndrome.

Key words: cancer, hereditary predisposition, rare syndromes.

Kromě relativně častých syndromů dědičné predispozice k nádorům, které zahrnují hereditární karcinom prsu a vaječníků, hereditární nepolypózní kolorektální karcinom a familiární adenomatózní polypózu, existují také další, mnohem vzácnější syndromy, které také predisponují ke vzniku nádorů. Cílem tohoto článku je uvést přehled těchto syndromů, jejich klinický obraz a určitá doporučení ke sledování osob s těmito syndromy. Zatímco u syndromů s relativně častým výskytem v populaci jsou screeningová opatření velmi dobře propracována, u některých vzácnějších syndromů tomu tak není a účinnost screeningových opatření lze těžko ověřit. Nicméně bylo by neetické nenabídnout osobám, o nichž víme, že mají vysoké riziko onemocnění nádorem v určité lokalizaci, screeningová opatření, která mohou vést k časné detekci vzniklého nádoru a snížení morbidit a mortality (1).

Podezření na syndrom dědičné predispozice k nádorům obecně vzniká tehdy, pokud se nádorové onemocnění objeví v neobvykle mladém věku ve srovnání s obvyklým výskytem příslušného typu nádoru, je častý výskyt nádorů v rodině, je pozitivní rodinná anamnéza nádoru téhož typu u blízkých příbuzných, jedna osoba onemocní více než jedním primárním nádorem jakéhokoli typu, nádor je multifokální v jednom orgánu či oboustranně v párových orgánech, vyskytne se nádor u osoby nebo v rodině, v níž se vyskytly vrozené anomálie nebo vady (1).

Jsme si vědomi, že uvedený výčet syndromů dědičné predispozice k nádorům není zdaleka kompletní. Jsou popsány desítky dalších vzácných syndromů, do jejichž klinického obrazu patří zvýšené riziko vzniku nádorů. Avšak jejich uvedení přesahuje rámec tohoto příspěvku.

Syndromy (za názvem každého syndromu je uveden v závorce typ dědičnosti: AD, autozomálně dominantní; AR, autozomálně recesivní; X-vázaná, s vazbou na chromozom X).

1. Syndromy chromozomální nestability

Ataxia teleangiectasia (AR)

Gen (chromozomální lokalizace): *ATM* (11q22.3); zahrnuje komplementační skupiny A, C, D, E.

Klinický obraz: Cerebelární ataxie (přítomna ve 100% případů) je patrná v období, kdy se dítě začíná učit chodit. Zpočátku je ataxie trunkální, postupně se objevuje i ataxie chůze, intenzívní tremor, choreoatetóza/dystonie, seřelá řeč, apraxie očních pohybů, nystagmus a strabismus. Většina postižených osob je upoutána na invalidní vozík ve věku kolem 10 let a dochází k rozvoji progresivní spinální muskulární atrofie ve 20. a 30. letech. Teleangiektázie se obvykle začínají objevovat v oblastech exponovaných slunci a na konjunktivě a objevují se později než začátek příznaků ataxie, typicky po 7. roce

věku. Mezi další kožní příznaky patří skvrny barvy bílé kávy, vitiligo a předčasné stárnutí vlasů, endokrinní dysfunkce včetně intolerance glukózy a hypogonadizmu. Většina pacientů má různý stupeň imunodeficitu se sníženými hladinami imunoglobulinů IgG, IgA a IgE, s predispozicí k infekcím dýchacího traktu. Je běžný také deficit buněčné imunity. Většina osob s ataxia teleangiectasia se dožívá věku kolem 30 let. Příčinou úmrtí bývají nejčastěji nádorová onemocnění a infekce. Dvě třetiny pacientů mají zvýšenou hladinu α -fetoproteinu. Získané chromozomální aberace mohou postihovat až 10% mitóz. **Nádorová onemocnění:** Postihují až třetinu pacientů s ataxia teleangiectasia, v 80% se jedná o onemocnění lymforetikulární tkáně, zejména non-Hodgkinské lymfomy a leukémie (obvykle chronickou lymfocytární leukémií). Dospělí muži, zejména ti s deficitem IgA, mají zvýšené riziko vzniku karcinomu žaludku. Je zvýšeno také riziko vzniku meduloblastomu a gliomů, bazocelulárního karcinomu a karcinomu dělohy.

Heterozygoti pro mutace v genu *ATM* mají přibližně 2,5-3x vyšší riziko vzniku karcinomu prsu oproti obecnému populačnímu riziku (Swift et al., 1987).

Doporučení: Prevence infekcí. Pro heterozygotní ženy screeningová opatření za účelem časné detekce karcinomu prsu od 30 let věku, včetně samovyšetřování prsou, vyšetření mamologem a ultrazvukem 2x ročně. Obdobná vyšetření lze doporučit ženám postiženým ataxia teleangiectasia. Dále je indikováno pravidelné monitorování event. příznaků hematologických malignit, pravidelné kontroly krevního obrazu a gastroscopické vyšetření v případě objevení se gastrointestinální symptomatologie. Pacienti s ataxia teleangiectasia jsou neobvykle přecitlivělí k působení ionizujícího záření a léčba nádorů konvenčními dávkami záření může být fatální (1, 2).

Nijmegen breakage syndrom (AR)

Berlin breakage syndrom (AR)

Gen (chromozomální lokalizace): *NBS1* (8q21)

Syndrom LIG4 (AR)

Gen (chromozomální lokalizace): *LIG4*

Klinický obraz: Nijmegen breakage syndrom je syndrom chromozomální nestability, charakterizovaný mikrocefalií s normální inteligencí, „ptačím“ obličejem, retardací růstu, imunodeficitem, lymforetikulárními abnormitami. Fenotyp Berlin breakage syndromu a syndromu LIG4 je shodný s fenotypem Nijmegen breakage syndromu. Charakteristická je hypersenzitivita buněk k ionizujícímu záření, cytogenetické rysy jsou obdobné jako u ataxia teleangiectasia, přestavby postihují zejména chromozomy 7 a 14. Hladina α -fetoproteinu v séru je normální.

Nádorová onemocnění: Akutní lymfoblastická leukémie, maligní lymfomy, neuroblastom.

Doporučení: Prevence infekcí, pravidelné monitorování event. příznaků hematologických malignit, pravidelné kontroly krevního obrazu (2).

Seckelův syndrom (AR)

Gen (chromozomální lokalizace): *ATR* (3q22-q24) kódující ataxia-teleangiectasia a RAD3-related protein; lokus SCKL2 (18p11-q11); lokus SCKL3 (14q)

Klinický obraz: Retardace růstu až trpasličtí, mikrocefalie s mentální retardací, „ptačí“ obličej, může být přítomna anémie či jiné hematologické abnormity včetně myelodysplázie. Bývá zvýšená tvorba chromozomálních zlomů.

Nádorová onemocnění: Akutní myeloidní leukémie.

Doporučení: Prevence infekcí, pravidelné monitorování event. příznaků hematologických malignit, pravidelné kontroly krevního obrazu (2).

Bloomův syndrom (AR)

Gen (chromozomální lokalizace): *BLM* neboli *RECQL3* (15q26.1) kódující DNA helikázu

Klinický obraz: Růstový deficit (prenatální a postnatální)

s normálními tělesnými proporcemi, solární faciální erytém, teleangiektázie (motýlovitý erytém), malární hypoplázie, prominence nosu, malá mandibula, dolichocefalická lebka. Vnímavost k infekcím dýchacích cest, bronchiektázie, častý výskyt diabetu, průjmů, zvracení, skvrny barvy bílé kávy, vysoce laděný hlas, azoospermie. Časté jsou obtíže s učením, ale obecně je intelekt v normě. Je výrazně zvýšená (10x nad normu) míra výměny sesterských chromatid a jiné hyperrekombinační mutace, zvýšená míra chromozomálních zlomů.

Nádorová onemocnění: Zvýšená frekvence nádorů ve všech věkových skupinách, akutní leukémie a lymfomy zejména ve věku pod 25 let, po 20 letech věku karcinom jazyka, laryngu, plic, jícnu, tlustého střeva, kůže, prsu a děložního čípku, přičemž věk diagnózy je o 20 i více let nižší než se obecně pro danou diagnózu předpokládá.

Doporučení: Screening příslušných nádorů od věku 20 let (1, 2).

Fanconiho anémie (AR)

Gen (chromozomální lokalizace): *FANCA* (16q24.3), *FANCB* (Xp22.31), *FANCC* (9q22.3), *FANCD1* (13q123), *FANCD2* (3p25.3), *FANCE* (6p22-p21), *FANCF* (11p15), *FANCG* (9p13), *FANCF*, tj. *BACH1* (17q22), *FANCL* (2p16.1), *FANCM* (14q21.3).

Klinický obraz: Progresivní pancytopenie a chromozomální zlomy se zhoršením po expozici alkylujícími látkami. U většiny dětí se manifestuje v dětství (průměrně ve věku 6 let) hematologickými abnormitami, včetně anémie, krvácení a snadné tvorby modřin. 60% osob má mnohočetné kongenitální abnormity včetně nízké porodní hmotnosti, abnormální pigmentace kůže, skeletálních deformit, renálních, neurologických abnormit, mikroftalmie, ušních anomálií/hluchoty, kongenitálních srdečních vad a hypogonadizmu. 25% osob s Fanconiho anémií nemá dysmorfické rysy. Dochází k častým chromatidovým zlomům, tvorbě radiálních chromozomů, endoreduplikací a jiných typů nehomologní rekombinace. Standardní karyotypizace tyto charakteristiky neodhalí. Zvýšení chromozomálních zlomů testem s mitomycinem *C in vitro* spolehlivě identifikuje homozygoty, ale nikoli heterozygoty.

Nádorová onemocnění: Leukémie, obvykle akutní nelymfocytární typ, hepatocelulární karcinom (obvykle důsledek léčby aplastické anémie anabolickými steroidy), spinocelulární karcinom hlavy a krku, jícnu, děložního čípku, vulvy a anu, adenom hlavy. Heterozygoti nemají zvýšené riziko onemocnění nádory. Myelodysplastický syndrom postihuje asi 5% pacientů. Může být zvýšené riziko primárních nádorů mozku.

Doporučení: Pravidelné punkce kostní dřeně, pravidelný screening jaterních enzymů a vyšetření dutiny ústní stomatologem. Lze zvážit také vyšetření jícnu, dolního pharyngu a žaludku (1, 2).

2. Syndromy predispozice predilekčně k nádorům kůže

Xeroderma pigmentosum (AR)

Gen (chromozomální lokalizace): Postiženy jsou geny, které se podílejí na excizních opravách pyrimidinových dimerů v DNA, jejichž tvorba je indukována ultrafialovým zářením. Xeroderma pigmentosum je geneticky heterogenní onemocnění. Je rozeznáváno 7 komplementačních skupin (A-G): gen *XP-A* (9p22.3), *XP-B* (2q21), *XP-C* (3p25), *XP-D* (19q13.2), *XP-E* (11p12-p11), *XP-F* (16p13.3 - p13.13), *XP-G* (13q33); alternativní typ *XP: POLH* (6p21-1-p12).

Klinický obraz: Fotosenzitivita od dětského věku (tvorba puchýřů v 50%) a/nebo tvorba pih (v 50% v 17 měsících věku) s progresivními degenerativními změnami, které vedou k poikilodermii, nepravidelné pigmentaci, teleangiektázií, fotofobii a časnému riziku vzniku karcinomu kůže či oka. Kožní změny ve slunci exponovaných oblastech jsou patrné u 50% postižených ve věku 18 měsíců, u 75% ve 4 letech a u 95% v 15 letech.

Přibližně 20% pacientů s Xeroderma pigmentosum má současně neurologické abnormity ve formě hyporeflexie nebo are-

flexie, spasticity, ataxie s manifestací v pozdním věku, choreoatetoidních pohybů, mikrocefalie, progresivní sensorineurální hluchoty nebo abnormálního EEG. Neurologické abnormality nebývají součástí příznaků u komplementačních skupin C, E a F. **Cockaynovův syndrom** je charakterizován trpasličivím, kachexií a mikrocefalií, předčasným stárnutím, progresivní mentální, neurologickou a retinální degenerací a výraznou fotosenzitivitou. Příznaky se mohou začít manifestovat již prenatálně (typ II) nebo po 6-12 měsících normálního vývoje (typ I). Někteří pacienti s Cockaynovým syndromem mohou patřit do vzácných skupin Xeroderma pigmentosum B, D a G. Laboratorně je charakteristická buněčná hypersenzitivita na ultrafialové záření s deficitem excizních oprav DNA. Vyšetření chromozomů je obvykle normální.

Nádorová onemocnění: Bazocelulární a spinocelulární karcinom kůže, často mnohočetné nádory s manifestací většinou do 20 let, průměrný věk vzniku prvních kožních nádorů je 8 let; 50%-ní riziko vzniku maligního melanomu včetně oční manifestace; spinocelulární karcinom špičky jazyka, sarkomy; 10-20x vyšší riziko nádoru vnitřních orgánů, včetně nádorů mozku, plic, žaludku a leukemií.

Doporučení: Pečlivá ochrana před ultrafialovým zářením, pravidelné kožní a oční vyšetření rodiči a lékařem s iniciální fotodokumentací a časnou excizí nádorů. Kultivované buňky od pacientů s Xeroderma pigmentosum jsou hypersenzitivní k určitým chemickým kancerogenům s vazbou na DNA, včetně sloučenin v cigaretovém kouři. Vyloučení expozice těmto škodlivinám je žádoucí (1, 2, 3).

Familiární melanom s nebo bez dysplastických névů (zahrnuje syndrom dysplastických névů, familiární syndrom atypického mateřského znaménka - maligního melanomu a syndrom melanomu - astrocytomy) (AD)

Gen (chromozomální lokalizace): *CMM1* (1p36), melanom a dysplastické névy jsou pravděpodobně pleiotropické účinky tohoto genu. *CMM2* (9p21) = *p16^{ink4a}* = *CDKN2*, asi 20-25% rodin s predispozicí k melanomu souvisí s mutacemi *p16^{ink4a}*; *CMM3* je způsoben mutacemi v genu *CDK4* (12q14), které jsou však vzácné.

Klinický obraz: 10-100 mateřských znamének na horní části trupu a končetinách s variabilitou velikosti (5-15 mm), ohraničení a barvy, dysplastické névy. Rodinná anamnéza invazivního melanomu u alespoň 2 příbuzných 1. stupně. Časný věk diagnózy melanomu a tendence k mnohočetným melanomům jsou charakteristické. Zárodečné mutace *p16^{ink4a}* byly popsány u pacientů s mnohočetnými primárními melanomy bez pozitivní rodinné anamnézy. V některých rodinách s familiálním melanomem se nemanifestuje syndrom dysplastických névů.

Nádorová onemocnění: Maligní melanom, karcinom pankreatu, vzácně astrocytomy.

Doporučení: Samovyšetřování kůže 1x měsíčně, 2x ročně dermatologické vyšetření s fotodokumentací, časná excize suspektních lézí. Ochrana před slunečním zářením, pravidelné použití ochranných krémů proti ultrafialovému záření spektra A a B (1).

Neurokutánní melanóza (pravděpodobně se nedědí podle Mendelových zákonů dědičnosti)

Gen (chromozomální lokalizace): Není znám; pravděpodobně se jedná o důsledek somatické mutace nějakého genu; onemocnění je považováno za kongenitální dysplázii neurální lišty.

Klinický obraz: Onemocnění je charakterizováno rozsáhlými pigmentovými névy s vlasy, infiltrací mening a CNS buňkami, které obsahují melanin. Bývají často křeče, hydrocefalus, intelektuální či motorický deficit.

Nádorová onemocnění: Maligní melanom kůže, míchy nebo intrakraniální.

Doporučení: Sledování kožním lékařem a neurologem (4).

Gorlinův syndrom, syndrom névu z bazálních buněk (AD)

Gen (chromozomální lokalizace): *PTCH* (9q22.3)

Klinický obraz: Charakteristické rysy postižených osob zahrnují vysokou postavu, velkou hlavu s frontálním výrůstkem, hypertelorismus, široký kořen nosu, velkou čelist, dlouhé prsty s krátkými 4. metakarpy, rozštěp rtu a/nebo patra (v 5% případech), oční abnormality včetně strabismu nebo katarakty (v 26% případech), skeletální malformace páteře a žeber, kostní cysty, hydrocefalus, mentální deficit (1-10% případů), může být přítomen srdeční nebo ovariální fibrom. Penetrance je 97%.

Nádorová onemocnění: Bazocelulární karcinom, přičemž 90% osob je postiženo ve věku 40 let (Evans et al., 1993) a 75% ve věku 20 let (Shanley et al., 1994); meduloblastom (5% případů); ovariální karcinom; fibrosarkom. Čelistní cysty u 90% osob do věku 40 let; kožní keratocysty a milia; ovariální fibromy s nebo bez kalcifikací (u 24% postižených žen); srdeční fibromy; lymfomezenterální cysty a hamartomatózní polypy žaludku.

Doporučení: Skrining dermatologem 1 x ročně, eventuálně častěji dle potřeby, je indikován počínaje pubertou. Je indikována časná excize bazocelulárních nádorů. Ochrana před sluncem. Gynekologické vyšetření 1 x ročně v dospělosti. Nutnost myslet na možnost vzniku meduloblastomu u dětí (1).

Rothmund-Thomsonův syndrom (AR)

Gen (chromozomální lokalizace): *RECQL4* (8q24.3) kódující DNA helikázu

Klinický obraz: Atrofie kůže, poikilodermie (mramorová pigmentace), teleangiektázie zejména nad extenzory se začínají objevovat ve 3.-6. měsíci života; katarakta se může rozvinout ve 4.-7. měsíci života; může být přítomen hypogonadismus, dystrofie nehtů, verukózní dyskeratóza, malý vzrůst, anomálie radiálního paprsku a mikrodancie. Intelekt je normální. Mohou být přítomny cytogenetické přestavby chromozomu 8 a bylo popsáno snížení reparace DNA po expozici buněk záření UVC a gama.

Nádorová onemocnění: Kožní malignity včetně spinocelulárního karcinomu, Bowenovy choroby a bazocelulárního karcinomu, osteosarkom; byl popsán adenom parathyreoidey, Hodgkinský lymfom, fibrosarkom a karcinom žaludku.

Doporučení: Skrining není indikován, zvýšená obezřetnost týkající se rizika nádorů kůže a kostí.

Komentář: Existují spekulace o tom, že tento syndrom může být biologicky příbuzný nebo alelický s Wernerovým syndromem (1).

Wernerův syndrom (Adultní progerie) (AR)

Gen (chromozomální lokalizace): *RECQL2* neboli *WRN* (8p12-p11.2) kódující DNA helikázu; jeho mutace spouští předčasnou expresi inhibitorů syntézy DNA a inhibitorů exprese jiných genů. Konečným důsledkem je časná buněčná senescence (stárnutí).

Klinický obraz: Zástava růstu v pubertě, ve 2.-3. dekádě života se může objevit katarakta. Předčasně šedivění a ztráta vlasů, změny na končetinách jako u sklerodermie, snížení svalové hmoty a podkožní tkáně, chronické tlakové vředy nad chodidly a kotníky, předčasná ateroskleróza, diabetes s manifestací v dospělém věku (ve 44% případů), endokrinní selhání, mohou být přítomny lokalizované kalcifikace v měkkých tkáních, průměrná délka života je 47 let, intelekt je normální, stařecký vzhled ve 30-40 letech.

Nádorová onemocnění: sarkomy měkkých tkání, melanomy (často v neobvyklých lokalizacích - intranazálně, na chodidlech), osteosarkomy, hematologické malignity, epiteliální nádory, včetně karcinomu štítné žlázy (folikulární, papilární, anaplastické), karcinom žaludku, prsu, hepatocelulární karcinom, karcinom žlučových cest, meningeom a jiné. Věk onemocnění 20-64 let, poměr epiteliálních k neepiteliálním nádorům (sarkomům) u Wernerova syndromu je 1:1 oproti 10:1 v obecné populaci.

Doporučení: Je doporučován klinický skrining pro melanom, včetně intranazálního vyšetření, a štítné žlázy s počátkem

v adolescenci. Užitečné může být pravidelné hematologické sledování (1, 5).

3. Syndromy predispozice predilekčně k nádorům zažívacího traktu

Ezofageální karcinom s tylózou (neepidermolytická palmo-plantární keratóza, Howel-Evansův syndrom) (AD)

Gen (chromozomální lokalizace): *TEC*, „tylosis with esophageal cancer“ (17q23ter)

Klinický obraz: Neepidermolytická palmo-plantární keratóza je komplexní skupina dědičných onemocnění, která se dělí do typů difúzního, tečkovaného a fokálního podle charakteristického ztlustění kůže (hyperkeratózy) na dlaních a chodidlech. Difúzní typ se vyskytuje v epidermolytické a neepidermolytické formě, přičemž druhý z nich je známý jako tylóza. Právě tato podskupina je spojena s vysokými rizikem vzniku spinocelulárního karcinomu jícnu v jeho střední a distální třetině. U jiných typů palmo-plantární hyperkeratózy není riziko onemocnění nádory zvýšeno. Hyperkeratóza u pacientů s tylózou se manifestuje po 1. roce věku (obvykle ve věku 5-15 let). Průměrný věk diagnózy karcinomu jícnu je u tohoto syndromu 45 let a 95% osob onemocní do 65 let (Howel-Evans et al., 1958). Pravděpodobně existuje synergie mezi kouřením tabáku a mutací genu *TEC*.

Nádorová onemocnění: Spinocelulární karcinom jícnu.

Doporučení: Ačkoli průměrný věk pacientů s karcinomem jícnu je u tohoto syndromu 45 let, nejmladší věk pacienta je 20 let. Je proto doporučována gastrokopie od 20 let každoročně. Abstinence kouření může snížit riziko vzniku karcinomu jícnu. Rodiny s těžkým gastroezofageálním refluxem s rozvojem Barrettova jícnu mohou být také ve vyšším riziku (1).

Familiární karcinom žaludku (AD)

Gen (chromozomální lokalizace): *CDH1* (16q22.1) kódující E- kadherin, kalcium -dependentní adhezivní protein epitelálního typu.

Klinický obraz: Diagnóza je stanovena při výskytu adenokarcinomu žaludku u dvou nebo více příbuzných 1. stupně. Členové rodiny probanda s adenokarcinomem žaludku mají 2-3x vyšší riziko karcinomu žaludku.

Nádorová onemocnění: Adenokarcinom žaludku.

Benigni nádory: Možná intestinální metaplázie sliznice žaludku.

Doporučení: Gastroskopie 1x ročně u osob v riziku od věku o 5-10 let nižšího než je nejmladší případ onemocnění v rodině.

Poznámka: Karcinom žaludku je také součástí spektra nádorů u hereditárního nepolypózního kolorektálního karcinomu a familiární adenomatózní polypózy. V rodinách se dvěma a více případy karcinomu žaludku je nutno zvážit i tyto diagnózy (1).

Familiární karcinom pankreatu (pravděpodobně AD)

Gen (chromozomální lokalizace): Neznámý.

Klinický obraz: Dva nebo více příbuzných 1. stupně s adenokarcinomem pankreatu bez možnosti alternativního vysvětlení (viz poznámka).

Nádorová onemocnění: adenokarcinom pankreatu.

Doporučení: Vyšetřování osob v riziku zobrazovacími metodami od věku o 10 let nižšího než je nejmladší postižený člen rodiny. Pravidelné stanovení hladiny amylázy.

Poznámka: Vyloučení von-Hippel-Lindauovy choroby, hereditárního karcinomu prsu/vaječníků (BRCA1, BRCA2), ataxia teleangiectázie, hereditárního nepolypózního kolorektálního karcinomu, syndromu familiárního melanomu - dysplastických névů, mnohočetné endokrinní neoplázie typu 1 a hereditární pankreatitidy jako příčiny familiárního karcinomu pankreatu (1).

Peutz-Jeghersův syndrom (AD)

Gen: STK11 (19p13.3) kódující serin threonin kinázu

Klinický obraz:

Typické pro syndrom jsou výrazné pigmentace okolo rtů a na sliznicích (přítomné u 95% pacientů), mohou se objevit i na obličejí, předloktí, dlaních a ploskách nohou. Pigmentace začínají v dětství a mohou později ve starším věku blednout. Syndrom se projevuje tvorbou hamartomátózních polypů v žaludku, tenkém (nejčastěji v jejunu) i tlustém střevu, které mohou malignizovat. Polypy se mohou objevit i v nose, bronších, ledvině pánvičce, ureterech i močovém měchýři.

Nádorová onemocnění: nádory zažívacího traktu, nádory děložního čípku, ovarií (z buněk granulózy), testes, slinivky i nádory prsu.

Doporučení: Gastroduodenoskopie je nutno začít v dětství od 10 let, později kolonoskopie. Preventivní operace jsou možné u mnohočetných polypů. Vhodné je provádění ultrazvuku prsů od 20- 25 let, podrobné gynekologické vyšetření včetně transvaginálního ultrazvuku po půl roce, ultrazvuk břišních orgánů, u mužů kontroly testes.

4. Syndromy predispozice predilekčně k nádorům nervové tkáně

Neurofibromatóza typu 1 (NF1) (AD)

Gen (chromozomální lokalizace): *NF1* (17q11.2) kóduje „protein příbuzný s GAP“ neboli neurofibromin. Delece celého genu vede k dysmorfismu a mentální retardaci. Třetina až polovina případů je důsledkem mutací „de novo“.

Klinický obraz: Neurofibromatóza 1. typu se může manifestovat v jakémkoli věku v kterémkoli orgánu. Skvrny barvy bílé kávy jsou někdy přítomny při narození, ale častěji se objevují v pozdním kojeneckém věku nebo časném dětství a zvětšuje se jejich počet a velikost. Pihování v axilách a tříselech je vzácné před pubertou. Neurofibromy mohou být kožní, podkožní nebo hluboké plexiformní, mohou být jednotlivé nebo mnohočetné. Neurofibromy nejsou specifické pro neurofibromatózu 1. typu. Onemocnění se může projevovat křečemi, obtížemi při učení, mentální retardací, malým vzrůstem, skoliózou. Charakteristické jsou Lischovy noduly (hamartomy) na duhovce, ve věku pod 10 let jsou přítomny asi u 10% pacientů, ve 29 letech u 50% a v 60 letech u 100% pacientů. Molekulárně genetické vyšetření je klinicky dostupné a diagnostické. Avšak v negativním případě nelze diagnózu neurofibromatózy 1. typu vyloučit.

Nádorová onemocnění: Neurofibromy včetně plexiformního neurofibromu, bilaterální gliom optického nervu, neurofibrosarkom (maligní schwannom) u 3-15% osob; zvýšené riziko vzniku astrocytomy, karcinoidu (obvykle duodenálního), feochromocytomu, neuroblastomu, meningeomu, neurinomu optického nebo akustického nervu, ependymomu, primitivního neuroektodermálního nádoru, rhabdomyosarkomu (zejména urogenitálního traktu) a nediferencovaných sarkomů, Wilmsova nádoru a leukémie (juvenilní chronické myeloidní). Postižené osoby mohou mít mnohočetné primární nádory.

Doporučení: Monitorování krevního tlaku 2x ročně (hypertenze v důsledku renální vaskulární dysplázie nebo feochromocytomu); pacienti by měli být poučeni, aby hlásili každou rychle se zvětšující bolestivou či novou lézi. Nově vzniklá bolest hlavy, ztráta sluchu, porucha vizu nebo jiné neurologické deficity by měly být pečlivě vyšetřeny. Sledování neurologické a oční (včetně vyšetření šterbinovou lampou) (1, 2).

Neurofibromatóza typu 2 (NF2) (AD)

Gen (chromozomální lokalizace): *NF2* (22q12.2)

Klinický obraz: Klinický obraz je velmi variabilní. Průměrný věk onemocnění je přibližně 22 let (Evans et al, 1992). Manifestujícím příznakem může být ztráta sluchu, tinnitus, svalová slabost, skvrny barvy bílé kávy, které bývají v malém počtu, velké a světlé (pouze 1% pacientů má 6 a více skvrn). 80% pacientů má kataraktu. Retinální hamartomy bývají přítomny u 22 % pacientů s neurofibromatózou 2. typu. Mohou být přítomny intradermální neurofibromy (20% pacientů) a vyvýšené, hrubě pigmentované oblasti s nadbytkem vlasů (47%).

Neurileiomatóza je charakterizována mnohočetnými kož-

ními neurilemomy a spinálními schwannomy bez akustických neurinomů nebo jiných známek neurofibromatózy 1. nebo 2. typu. U některých pacientů byly nalezeny zárodečné mutace v genu *NF2*, proto se velmi pravděpodobně jedná o formu neurofibromatózy 2. typu.

Nádorová onemocnění: Gliom, neurofibromy, vestibulární schwannom (akustický neurinom), meningeom, schwannom míchy.

Doporučení: Pravidelné audiometrické a oftalmologické vyšetření pro osoby v riziku nebo postižené. Neurologické vyšetření 1x ročně s vyšetřením suspektních oblastí zobrazovacími metodami (1, 2).

Familiární chordom (AD)

Gen (chromozomální lokalizace): Neznámý (7q33).

Klinický obraz: Nádory mohou vzniknout kdekoli podél embryonálního notochordu, s příznaky u adolescentů nebo později v dospělosti.

Nádorová onemocnění: Chordom, testikulární teratom, pituitární adenom.

Doporučení: NMR hlavy a páteře, první vyšetření v dětství, frekvence vyšetření každých 3-5 let u asymptomatických osob (1, 2).

Familiární paragangliom (AD; pravděpodobně úloha genomického imprintingu, potomci žen - nosiček neonemocní, zatímco 50% potomků mužů - nosičů onemocní)

Gen (chromozomální lokalizace): *SDHD* (11q23), *SDHB* (1p36.1-p35), *SDHC* (1q21), lokus pro PGL2 (11q13)

Klinický obraz, nádorová onemocnění: Paragangliom glomus jugulare nebo glomus vagale, adrenální paragangliom (feochromocytom), nádor glomus caroticum, chemodectom, často mnohočetné nádory.

Doporučení: Ultrazvukové vyšetření oblasti karotid ročně od 18 let, skríníng močových metanefrinů ročně od 18 let, vyšetření nadledvin zobrazovacími metodami, je-li hladina metanefrinů vysoká, vysoký krevní tlak nebo je pozitivní rodinná anamnéza intraabdominálních nádorů.

Poznámka: Je nutno vyloučit diagnózy von Hippel-Lindauovy choroby, syndromů MEN, neurofibromatózu a Carneyho syndrom (1, 2).

5. Syndromy predispozice predilekčně k nádorům endokrinního systému

Mnohočetná endokrinní neoplázie 1. typu (MEN1) (AD)

Gen (chromozomální lokalizace): *MEN1* (11q13).

Klinický obraz: Vysoká frekvence peptických vředů a endokrinními abnormit, obzvláště hypofýzy, příštítných tělísek, pankreatu a nadledvin. Hyperparathyreoidismus je buď manifestujícím příznakem nebo je diagnostikován simultánně s jinými příznaky v 94% případů. Penetrance je vysoká, až 80% nosičů mutací je postiženo v 5. dekádě života.

Nádorová onemocnění: Duodenální, thymické a bronchiální karcinoidy, bronchiální karcinom, maligní schwannom, ovariální nádory, karcinom ostrůvků pankreatu, adrenokortikální karcinomy; adenomy ostrůvků pankreatu, hyperplázie příštítných tělísek nebo jednotlivé či mnohočetné adenomy, adenomy hypofýzy, nesecernující nebo secernující nejčastěji prolaktin, ale také růstový hormon, ACTH, LH; mnohočetné adrenokortikální adenomy, gastrinomy (obvykle duodena, ale také pankreatu); Cushingův syndrom, feochromocytom, prolaktinom, glukagonom, inzulinom, vazointestinální peptidické nádory, lipomy.

Doporučení: Každoroční vyšetření nosičů mutací nebo osob v riziku starších 15 let, včetně stanovení hladiny prolaktinu, kortizolu, glukózy, kalcia a fosforu. Dále fyzikální vyšetření s pečlivým zhodnocením endokrinního systému. Každé 1-2 roky vyšetření hladiny gastrinu, PTH, 5-hydroxyindolactové kyseliny, metanefrinu v moči, lidského pankreatického polypeptidu, inzulin-like růstového faktoru-I, inzulinu, proinzulinu

u a glukagonu. Pravidelné (každých 3-5 let) vyšetření hypofýzy a pankreatu magnetickou rezonancí. Není známo, v jakém věku by měl být skríníng ukončen.

Poznámka: Je popisována významná intrafamiliární konsistence klinické manifestace syndromu, která by mohla pomoci při stanovení harmonogramu klinického skríníngu v příslušné rodině (1, 6).

Mnohočetná endokrinní neoplázie typu 2A a 2B (MEN2A a MEN2B) a familiární medulární karcinom štítné žlázy (FMTC) (AD)

Gen (chromozomální lokalizace): Protoonkogen *RET* (10q11.2); 95% mutací se nachází v exonech 10 a 11 genu *RET*; 86% případů FMTC mají mutace ve stejných exonech. 90% případů MEN2B je způsobeno jednou mutací v kodonu 918 v exonu 16 genu *RET*.

Klinický obraz: 20% medulárních karcinomů štítné žlázy je důsledkem zárodečných mutací genu *RET*. Nádory na podkladě zárodečné mutace genu *RET* bývají na rozdíl od sporadických nádorů multifokální.

Nádorová onemocnění: Medulární karcinom štítné žlázy, diagnostikován před 40. rokem věku, u syndromu MEN2B se onemocnění manifestuje v mladším věku a je agresivnější. U FMTC je průběh mírnější s počátkem po 50. roce věku. Feochromocytom je přítomen u 10-50% osob s MEN2A a MEN2B. 10-20% osob s MEN2A má hyperparathyreoidismus, který se však vyskytuje u osob s MEN2B velmi vzácně a u FMTC nikdy. U téměř všech pacientů s MEN2B jsou přítomny ganglioneuromy gastrointestinálního traktu a slizniční neurinomy.

Doporučení: U nosičů mutací je indikována profylaktická thyreoidektomie a skríníng feochromocytomu a hyperparathyreoidismu. Poslední dvě komplikace se objevují téměř vždy později než MTC a profylaktické výkony zde nejsou indikovány. Biochemický skríníng se stanovením hladiny kalcitoninu po stimulaci pentagastrinem může být diagnostický v 80% případů MEN2A a 85% případů MEN2B, ale 80% osob diagnostikovaných tímto způsobem má invazivní karcinom a 10% již metastatické onemocnění (1, 6).

Familiární karcinoid (dědičnost nejistá, ale pravděpodobně AD)

Gen (chromozomální lokalizace): Neznámý.

Klinický obraz: Založen na rodinné anamnéze. Karcinoid je také součástí von Hippel-Lindauovy choroby, neurofibromatózy, syndromů mnohočetné endokrinní neoplázie 1 a 2, hereditárního nepolypózního kolorektálního karcinomu, důsledkem mutací genu *SDHD*; tyto diagnózy je nutno vyloučit.

Malignity: Multifokální karcinoid.

Doporučení: Pravidelný skríníng hladiny 5-hydroxyindolactové kyseliny v moči u příbuzných 1. stupně od 30 let věku nebo od věku o 10 let nižšího než byl výskyt nejčasnějšího nádoru v rodině (1).

6. Syndromy predispozice predilekčně k nádorům kostního systému

Mnohočetná osteochondromatóza (zahrnuje mnohočetné hereditární exostózy, enchondromatózu a Ollíerovu chorobu) (AD)

Gen (chromozomální lokalizace): *EXT1* (8q24.11-q24.13), *EXT2* (11p12-p11), *EXT3* (19q)

Klinický obraz: Osteochondromatóza je charakterizována mnohočetnými exostózami (osteochondromy), které jsou chrupavčitými výrůstky v blízkosti diafýz kostí končetin, žeber, lopatky (ale ne lebky), v nichž dojde k osifikaci a následně deformitě. Onemocnění je často spojeno s nižší postavou a penetrance je 100%. 80% onemocnění je diagnostikováno v 10 letech věku. Přibližně 40% pacientů nemá pozitivní rodinnou anamnézu. Při současném výskytu hemangiomů mluvíme o **Mafucciho syndromu**.

Nádorová onemocnění: Chondrosarkom nebo osteosarkom

může vzniknout v exostóze. Velmi vzácně se může vyskytnout ovariální juvenilní nádor z granulosa buněk.

Doporučení: Iničiálně rentgen pánve a ramenního pletence u mladých postižených dospělých pro možnost pozdějšího srovnání. Postižení jedinci by měli být poučeni o nutnosti hlásit jakékoli rychle se zvětšující exostózy nebo bolestivost již přítomné léze.

Poznámka: **Langer-Giedionův syndrom** je vzácný syndrom, charakterizovaný laxitou kůže v kojeneckém věku, dysmorfii obličeje, mentálním deficitem, řídkými vlasy a mnohočetnými mi exostózami, které jsou neodlišitelné od exostóz v rodinách s mutacemi genu *EXT1*. Onemocnění souvisí s velkou delecí oblasti 8q24, která obsahuje gen *EXT1* a další geny (1, 2).

7. Syndromy predispozice predilekčně k nádorům močopohlavního ústrojí

Familiární karcinom prostaty (AD)

Gen (chromozomální lokalizace): *PRCA1* (10q25), *HPC1* (1q24-25)

Klinický obraz: Tři a více příbuzných 1. stupně s karcinomem prostaty nebo 2. stupně (je-li v generaci žena). Odhadované kumulativní riziko vzniku karcinomu prostaty je 88% ve věku 85 let oproti 5%-nímu populačnímu riziku.

Nádorová onemocnění: Karcinom prostaty, zvýšené riziko nádorů CNS v rodinách s vazbou na alelu *HPC1*.

Doporučení: Pravidelný screening vyšetřením rektálně, hladina PSA v séru, transrektální ultrazvukové vyšetření od 40 let.

Poznámka: Riziko vzniku karcinomu prostaty je zvýšeno 3-4x u nosičů mutací v *BRCA* genech. Také androgenový receptor hraje roli v patogeneze vzniku karcinomu prostaty. Riziko karcinomu se zvyšuje se snížením délky mikrosatelitních sekvencí CAG a GCG v exonu 1 genu pro androgenový receptor (1, 2).

Von-Hippel Lindauova choroba

O onemocnění je pojednáno v kapitole tohoto suplementa týkající se nádorů ledvin.

Karcinom z renálních buněk (zahrnuje typ familiární papilární a familiární nepapilární, tj. adenokarcinom ledviny z jasných buněk) (AD)

Gen (chromozomální lokalizace): Protoonkogen *MET* (7q31.1-34) pro papilární typ; lokus 3p14.2 pro nepapilární typ (gen nebyl prozatím identifikován).

Klinický obraz: **Papilární typ:** bilaterální nebo multifokální nádory bez rodinné anamnézy nebo solitární nebo mnohočetné nádory a příbuzný 1. nebo 2. stupně s papilárním karcinomem z renálních buněk. **Nepapilární typ:** diagnóza je založena na rodinné anamnéze a vyloučení von Hippel-Lindauovy choroby a tuberózní sklerózy.

Nádorová onemocnění: Papilární renální karcinom, s určitou pravděpodobností také karcinom žaludku a tlustého střeva, prsu, spinocelulární karcinom plic, karcinom pankreatu a karcinom žlučových cest. Nepapilární karcinom vzniká asi o 10 let dříve než je průměrný věk sporadického onemocnění (které vzniká ve věku 50-70 let), nádory jsou často multifokální a oboustranné.

Doporučení: V případě nepapilárního karcinomu je nutno vyloučit VHL a tuberózní sklerózu. Vyšetření ledvin každé 1-2 roky od 35 let věku nebo od věku o 10 let nižšího než je věk nejmladšího nemocného v rodině (1).

Familiární karcinom varlete (pravděpodobně AD)

Gen (chromozomální lokalizace): Neznámý, susp. 12q22, 4q12.

Klinický obraz: Oboustranné karcinomy jsou 3 - 4x častější u familiárních než nefamiliárních případů. Familiární případy vznikají v mladším věku. Kumulativní riziko pro bratra pacienta je asi 2,2% ve věku 50 let a 4,1% ve věku 60 let.

Nádorová onemocnění: Seminomatózní a neseminomatózní

nádory ze zárodečných buněk, v některých rodinách jsou u žen popsány ovariální nádory ze zárodečných buněk.

Doporučení: 1x měsíčně samovyšetřování varlat, 1x ročně vyšetření klinikem od věku o 10 let nižšího než je věk nejmladšího pacienta v rodině. Účinnost stanovení nádorových markerů, alfa-fetoproteinu a HCG není ověřena (1, 2).

8. Syndromy predispozice predilekčně k nádorům oka

Retinoblastom (AD)

Gen (chromozomální lokalizace): *RBI* (13q14.1-q14.2). Produkt genu *RBI* je negativním regulátorem buněčného růstu.

Klinický obraz: Asi 60% retinoblastomů jsou unilaterální a nehereditární formy, 15% unilaterální hereditární a 25% bilaterální hereditární. Muži a ženy jsou postiženy rovnoměrně. Asi 20-30% osob se zárodečnou mutací mají mutace „*de novo*“. Onemocnění se manifestuje strabismem, leukokorií; 90% případů je diagnostikováno do 3 let, průměrný věk při diagnóze je 12 měsíců u bilaterálního a 18 měsíců u unilaterálního onemocnění.

Nádorová onemocnění: Retinoblastom, s 90% penetrancí. Incidence nekulárního nádoru může být kolem 25% 30 let po diagnóze. Nejčastějšími nekulárními nádory jsou osteosarkom, fibrosarkom, chondrosarkom, epitheliální maligní nádor, Ewingův sarkom, leukémie, lymfom, melanom, mozkový nádor, pinealoblastom, retinom, lipom.

Doporučení: Osoby v riziku by měly být vyšetřeny oftalmologicky po narození a poté každých 8-12 týdnů do 2 let věku. Od 2 let je vyšetření indikováno každých 6 měsíců do 12 let věku a poté 1x ročně. V rodinách s negativní rodinnou anamnézou by měli být rodiče a všichni sourozenci podrobeni základnímu vyšetření. Přes vysoké riziko dalších primárních nádorů není doporučován specifický screening (1).

9. Tuberózní skleróza (AD)

Gen (chromozomální lokalizace): *TSC1* (9q34) kódující protein hamartin; *TSC2* (16p13.3) kódující protein tuberin.

Klinický obraz: Onemocnění je charakterizované přítomností hamartomů ve více orgánových systémech. Klinická manifestace onemocnění zahrnuje epilepsii, obtíže s učením, výchovné problémy a kožní léze. Mnoho pacientů má ledvinné léze, obvykle angiomyolipomy, které bývají mnohočetné a bilaterálně lokalizované a mohou způsobovat klinické problémy sekundárně v důsledku krvácení, komprese nebo náhrady zdravé tkáně ledviny a v konečném důsledku může vést k renálnímu selhání. Mohou se také vyskytnout cysty v ledvinách. Při narození jsou ve většině případů přítomny diagnosticky důležité bílé makuly ve tvaru jasanového listu, někdy patrné jen při použití Woodovy lampy. Kožními projevy mohou být adenoma sebaceum (faciální angiofibromy) a šagrérové skvrny. Frekvence unguálních fibromů se zvyšuje s věkem. Bývá přítomna hypoplázie skloviny charakterizovaná jamkami ve sklovině

Nádorová onemocnění: Hamartomy srdce (histologicky rhabdomyomy) a číchového ústrojí jsou obzvláště charakteristické pro tuberózní sklerózu u kojenců, hamartomy sítnice, kortikální tuber. Incidence dětských nádorů mozku se pohybuje mezi 5-14%, více než 90% těchto nádorů jsou subependymální astrocytomy. Ojedinele byly popsány ependymomy a astrocytom 3. mozkové komory. Může se vyskytnout také renální karcinom a velmi vzácně byl popsán Wilmsův tumor, dále adrenální angiomyolipom, adrenální adenom, paragangliom, pankreatický adenom, adenom parathyreoidey.

Doporučení: Sledování neurologem, kardiologem, dermatologem, ultrazvukové vyšetření břicha v pravidelných intervalech (7).

10. Cowdenův syndrom (AD)

Gen (chromozomální lokalizace): *PTEN* (10q23.31).

Klinický obraz: Onemocnění je charakterizováno výskytem kožních a střečních hamartomatózních lézí, může být přítom-

na makrocefalie, mírný mentální deficit či manifestace formou **Lhermitte-Duclosovy choroby** (megalocéfalie, epilepsie, dysplastický gangliocytom mozečku). Penetrance onemocnění je 100% ve 20 letech věku.

Nádorová onemocnění: Karcinom prsu, nádory štítné žlázy (zejména papilární karcinom), hamartomatózní léze, včetně papilomů rtů a sliznic, akirální keratóza kůže, papuly v dutině ústní, trichilemomy, hamartomy prsou a střeva, lipom, fibrom, nádory urogenitálního systému a tlustého střeva.

Doporučení: Skríníng štítné žlázy, včetně vyšetření endokrinologem a ultrazvukového vyšetření, samovyšetřování prsou, ultrazvukové vyšetření prsou od 20 let věku, od 30-35 let vyšetření prsou magnetickou rezonancí event. mamograficky (6).

11. Wilmsův tumor a syndromy nadměrného růstu tkání

Syndromy nadměrného růstu tkání jsou charakterizovány hmotností, výškou nebo obvodem hlavy nad 97. percentilem nebo 2-3 standardními odchylkami oproti průměru pro věk a pohlaví (8).

Wilmsův tumor (nefroblastom) (AD)

Gen (chromozomální lokalizace): *WT1* (11p13), *WT2* (11p15.5); *WT3* je navrhován pro familiární případy bez vazby na první dva lokusy.

Klinický obraz: 10-30% postižených dětí má oboustranné nebo multifokální onemocnění. Wilmsův tumor vzniká obvykle u dětí ve věku pod 5 let, ale může se vyskytnout i v dospělosti. Je odhadováno, že méně než 1% všech případů Wilmsova tumoru je důsledkem zdědění mutace genu od rodiče. Většina mutací jsou zárodečné mutace vzniklé „*de novo*“. Oboustranný Wilmsův tumor je často spojen s vrozenými anomáliemi. **WAGR syndrom** zahrnuje kombinaci Wilmsova tumoru s aniridií, anomáliemi močopohlavního ústrojí a mentální retardací. Odlišná od tohoto syndromu je **asociace Wilmsova nádoru a sporadické aniridie**. Pacienti se sporadickou aniridií mají riziko vzniku Wilmsova nádoru 1:3. Wilmsův tumor je také součástí **Beckwith-Wiedemannova syndromu** (AD), extrémně vzácného syndromu charakterizovaného asymetrickou organomegálií, která často postihuje jazyk a břišní orgány, pupečnickovou hernii a novorozeneckou hypoglykémii (gen *KIP2 (CDKN1C)* (11p15.5), gen *NSD1* (5q35)). Wilmsův tumor je také součástí vzácného **Denys-Drashova syndromu**, kdy je nádor doprovázen pseudohermafroditismem a progresivní glomerulonefritidou s následným renálním selháním. Ještě vzácnějším syndromem je **Perlmanův syndrom**, recesivně dědičné onemocnění, charakterizované renálními hamartomy, makrosomií, visceromegálií a jinými kongenitálními abnormitami. **Familiární hemihypertrofie**, dědičná AD nebo multifaktoriálně, je charakterizovaná hemihypertrofií, ipsilaterálním zvětšením ledvin, cystami, hydronefrózou, skoliózou a myelomeningokélou.

Příčinou WAGR a Denys-Drashova syndromu jsou mutace genu *WT1*. Zatímco u WAGR syndromu se jedná často o delecce, které postihují také sousední gen aniridie, u Denys-Drashova syndromu se častěji jedná o bodové mutace. Dalším lokusem predispozice k WT je 11p15, který je spojen s Beckwith-Wiedemannovým syndromem.

Nádorová onemocnění: Wilmsův tumor; u Beckwith-Wiedemannova syndromu také další embryonální nádory - hepatoblastom, adrenokortikální karcinom, gonadoblastom. Zvýšené riziko nádorů močopohlavního ústrojí jiných než je Wilmsův tumor u příbuzných 1. a 2. stupně.

Doporučení: U Beckwith-Wiedemannova syndromu fyzikální vyšetření břicha, ultrazvukové vyšetření břicha, stanovení hladiny α -fetoproteinu co 6 měsíců do 6 let věku. U ostatních osob v riziku rozvoje Wilmsova nádoru ultrazvuk ledvin co 4-6 měsíců do 6 let věku (1, 6).

Syndrom Proteus

Gen (chromozomální lokalizace): Neznám; hypotéza

o somatickém mozaicismu, kdy v nemozaikovém stavu je onemocnění letální. U jednoho pacienta byla nalezena mutace v genu *PTEN* (10q23.31).

Klinický obraz: Syndrom je charakterizován zvýšeným růstem kostí a měkkých tkání pokračuje postnatálně. Hypolipoplázie, lokalizovaná depozita tukové tkáně, CNS manifestace, mentální deficit, oftalmologická manifestace, plicní cysty a renální a urologické abnormity.

Nádorová onemocnění: Ve věku kolem 20-30 let i později; epidermální névy, vaskulární malformace kapilárního, venózního nebo lymfatického typu, lipomy, hyperostózy, ovariální cystadenomy, meningeomy, testikulární nádory, monomorfní adenom glandula parotis, astrocytom, nádor optického nervu, pinealom, intraduktální papilom prsu, leiomyom, mezoteliom, endometriální karcinom.

Doporučení: sledování gynekologem a neurologem (2, 9).

Syndrom Costello

Gen (chromozomální lokalizace): Může být způsoben mutacemi v genu *HRAS* (11p15.5).

Klinický obraz: Jedná se o syndrom nadměrného růstu charakterizovaný relativně vysokou porodní hmotností a makrocefálií. Postnatální období je charakterizováno neprosíváním, abnormálním neurologickým nálezem s hypotonií, nystagmem a opožděním vývoje, srdečními anomáliemi včetně supraventrikulární tachykardie, hypertrofické kardiomyopatie a malým vzrůstem v důsledku částečného či kompletního deficitu růstového hormonu. U třetiny pacientů může být přítomna srdeční hypertrofie.

Nádorová onemocnění: Vestibulární schwannom, rhabdomyosarkom, neuroblastom, karcinom močového měchýře z přechodných buněk; frekvence výskytu nádorů je kolem 7-21%. Nejčastějšími nádory v dětství jsou papilomy v periorální a perianální oblasti, byl popsán kalcifikovaný epitelom a zánětlivý fibroidní polyp žaludku, osteofibrozí dysplázie, parathyreoidální adenom.

Doporučení: Gynekologický skríníng (10).

Bannayan Riley Ruvalcaba syndrom (AD)

Gen (chromozomální lokalizace): Delece a mutace genu *PTEN* (10q23.31).

Klinický obraz: Hamartomatózní stav s makrocefálií, střevní polypózou, opožděním vývoje, lipomy, pigmentovými skvrnami mužského genitálu.

Nádorová onemocnění: Karcinom štítné žlázy, prsu, ganglioneurom, lipomy, angiolipomy, hemangiomyolipomy, hamartomatózní polypy.

Doporučení: Mamologické sledování, pravidelné vyšetření štítné žlázy (8).

Syndrom makrocefalie - cutis marmorata (AD)

Gen (chromozomální lokalizace): Neznám.

Klinický obraz: Makrocefalie, cutis marmorata a jiné anomálie včetně nadměrného růstu, hemihyperplázie, vaskulárních malformací rtů a/nebo filtra, syndaktylie, abnormitami pojivové tkáně a opožděním vývoje.

Nádorová onemocnění: V 5-6% případů; akutní leukémie, meningeom, retinoblastom a Wilmsův tumor.

Doporučení: Oftalmologický skríníng, ultrazvukové vyšetření břicha (8).

11. Jiné syndromy

Familiární Morbus Hodgkin (není jasně definována, možná AR)

Gen (chromozomální lokalizace): Neznámý.

Klinický obraz, nádorová onemocnění: 2 a více příbuzných 1. nebo 2. stupně s M. Hodgkin.

Doporučení: Nezná konsenzus, snad pravidelné fyzikální vyšetření.

Poznámka: Ačkoli příčina M. Hodgkin je pravděpodobně infekční, pravděpodobně existuje geneticky určená predispozice k onemocnění. V postižených rodinách mají příbuzní ve věku pod 45 let 7x vyšší riziko onemocnění než je riziko populární (1).

Carneyho syndrom (Něvy, atriální myxom, myxoidní neurofibromy a efelides (syndrom NAME) nebo lentigines, atriální myxomy, mukokutánní myxom a modré névy (syndrom LAMB) (AD)

Gen (chromozomální lokalizace): typ I: *PRKARIA* (17q23-q24), typ II: lokus 2p16

Klinický obraz: Syndrom je suspekt při nález více než jedné charakteristické léze u probanda nebo jedné léze u probanda a charakteristické léze u příbuzného 1. stupně.

Nádorová onemocnění: Velkobuněčný kalcifikující nádor ze Sertoliho buněk a nádory z Leydigových buněk, karcinom štítné žlázy, kolorekta a pankreatu. Pigmentová nodulární adrenální kortikální dysplázie s Cushingovým syndromem, stopkaté myxomy kůže, adenomy hypofýzy, které mohou secernovat růstový hormon. Prolaktinom. Charakteristický je kalcifikující pigmentový neuroektodermální nádor (psamomatózní melanotický schwannom). Srdeční myxomy bývají

v polovině případů mnohočetné. Myxoidní leiomyomy dělohy, folikulární adenomy štítné žlázy. Skvrnitá pigmentace kůže, obzvláště obličej, očních víček, spojivky, sklér, vulvy, glans penis, dorzou rukou a nohou. Bukální sliznice je postižena zřídka na rozdíl od Peutz-Jeghersova syndromu. Pigmentové léze zahrnují například drobné černohnědé makuly, skvrny barvy bílé kávy či modré névy. Pigmentové léze mohou blednout s věkem. Mohou být přítomny myxomy na očních víčkách či pigmentové lentigines na karunkule.

Doporučení: Echokardiografické vyšetření každých 3-5 let, vyšetření kůže a sliznic s biopsií papulárních lézí, je-li zapotřebí potvrdit diagnózu, stanovení hladiny kortizolu po dexamethasonovém supresivním testu k vyloučení autonomní adrenální kortikální funkce, sledování hladiny IGF-I a prolaktinu, pravidelné vyšetření varlat a vyšetření štítné žlázy.

Poznámka: Tzv. Carneyho triáda, která zahrnuje multicentrické leiomyosarkomy žaludku, plicní chondromy a extraadrenální paragangliomy, postihuje primárně mladé ženy a nesouvisí s Carneyho syndromem. Genetická příčina triády není známa (1, 2).

Poděkování: Práce byla podpořena grantem MSM 6198959216 a MZO 00209805

Literatura:

1. Lindor NM, Greene MH a Mayo Familial Cancer Program. The concise handbook of family cancer syndromes. J Natl Cancer Inst 1998; 90:1039-71.
2. Databáze Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
3. Mángalo T, Sarasin A. Xeroderma pigmentosum: From symptoms and genetics to gene-based skin therapy. Cells Tissues Organs 2004;177:189-98.
4. Pascual-Castroviejo I. Neurocutaneous Melanosis. In: Gomez MR, ed. Neurocutaneous Diseases. A Practical Approach. Butterworth Publishers. USA, 1987: 329-334.
5. Goto M. Werner's Syndrome. In: Gomez MR, ed. Neurocutaneous Diseases. A Practical Approach. Butterworth Publishers. USA, 1987: 241-246.
6. Offit K. Clinical Cancer Genetics. Risk Counseling and management. Wiley-Liss, Inc., New York, 1998:125-48.
7. Gomez MR. Tuberous Sclerosis. In: Gomez MR, ed. Neurocutaneous Diseases. A Practical Approach. Butterworth Publishers. USA, 1987: 241-246.
8. Lapunzina P. Risk of tumorigenesis in overgrowth syndromes. A comprehensive review. Am J Med Genet 2005;137C:53-71.
9. Cohen MM Jr. Proteus syndrome: An update. Am J Med Genet 2005;137C:38-52.
10. Gripp KW. Tumor predisposition in Costello syndrome. Am J Med Genet 2005;137:72-77.

DIAGNOSTIKA LYNCHOVA SYNDROMU - NOVÉ GENY A METODY

DIAGNOSTICS IN LYNCH SYNDROME - NEW GENES AND METHODS

KŘEPELOVÁ A.¹⁾, PAVLÍKOVÁ K.¹⁾, PLEVOVÁ P.²⁾

¹⁾ÚSTAV BIOLOGIE A LÉKAŘSKÉ GENETIKY, FN V MOTOLE A 2. LF UK V PRAZE,

²⁾ODDĚLENÍ LÉKAŘSKÉ GENETIKY FNŠP OSTRAVA,

Souhrn

Lynchův syndrom - hereditární nepolypózní kolorektální karcinom (HNPCC) - je nejčastější známou hereditární predispozicí ke karcinomu tlustého střeva. Je zodpovědný přibližně za 2% všech karcinomů tlustého střeva v populaci. Pacienti s Lynchovým syndromem mají vysoké celoživotní riziko karcinomu tlustého střeva a některých dalších zhoubných nádorů. Hlavní příčinou Lynchova syndromu jsou zárodečné mutace některého z tzv. „DNA mismatch repair“ (MMR) genů. Klinické podezření na Lynchův syndrom se opírá zejména o současnou přítomnost kolorektálního karcinomu u pacienta bez familiární adenomatózní polypózy, výskyt karcinomu střeva u jeho nejbližších příbuzných a postižení před 50 rokem věku. Pro diagnózu Lynchova syndromu svědčí dále průkaz mikrosatelitové nestability v DNA nádoru a ztráta exprese MMR proteinu v nádorové tkáni při imunohistochemickém vyšetření. Diagnóza Lynchova syndromu je na molekulární úrovni potvrzena průkazem patogenní zárodečné mutace některého z MMR genů. Pro zvýšení efektivity diagnostického procesu, komplikovaného nutností odlišit případy sporadických a familiárních CRC v populaci, byly navrženy komplexní diagnostické postupy. Průkaz patogenní mutace u pacienta umožní prediktivní DNA testování u jeho příbuzných. Doporučené klinické sledování nemocných s Lynchovým syndromem a jejich pozitivně testovaných příbuzných zohledňuje vysoké riziko vzniku zhoubných nádorů a prokazatelně zlepšuje jejich prognózu. Hledání dalších kauzálních genů a optimalizace diagnostiky a klinického sledování jsou stále předmětem výzkumu.

Klíčová slova: HNPCC, Lynchův syndrom, kolorektální karcinom, mikrosatelitová nestabilita

Summary

Lynch syndrome - hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC) is the most frequent of known hereditary predispositions to colon cancer. It is responsible for approximately 2% of all colon cancers in the population. Patients with Lynch syndrome are at high lifelong risk of the colon cancer and some other malignancies. The main cause of Lynch syndrome is the germline mutation of one of the DNA mismatch repair (MMR) genes. Clinical suspicion of the Lynch syndrome is based mainly on concurrent colorectal cancer without familial adenomatous polyposis, colon cancer in relatives and manifestation before the age of 50 years. The diagnosis is supported by the presence of microsatellite instability in tumour DNA and by the loss of expression of MMR proteins in tumour tissue demonstrated by immunohistochemistry. The diagnosis of Lynch syndrome is confirmed at the molecular level by the detection of a pathogenic germline mutation in the MMR gene. Complex diagnostic procedures were suggested to improve the effectivity of diagnostic process. Detection of a pathogenic mutation in a patient enables a predictive testing in his/her relatives. Long term follow up of patients and their positively tested relatives improves their prognosis. Search for new candidate genes, optimisation of the diagnosis and follow up are the matter of current research.

Key words: HNPCC, Lynch syndrome, colorectal cancer, microsatellite instability

Obecné poznámky ke kolorektální kancerogenezi

Na vzniku a vývoji karcinomu tlustého střeva se významným způsobem podílejí genetické a epigenetické faktory. Genetické faktory představuje vrozená nebo získaná genetická informace v buňce - zpravidla mutace nebo varianty různých genů, které se účastní regulace proliferace, diferenciace, nebo smrti buňky, epigenetické faktory pak nedědičné změny genetické informace mající za následek změny exprese těchto genů. Některé mutace a genové varianty mohou být přítomny ve všech buňkách organismu (vrozené, tzv. zárodečné mutace) a jejich nosičství může představovat různě významné rizikové nebo predispoziční faktory, většina genových mutací významných v procesu kancerogeneze jsou mutace získané, somatické, vzniklé v některé tělní buňce a dále děděné jen dceřinými somatickými buňkami. Mutace v buňkách vznikají neustále v důsledku působení zevních chemických a fyzikálních vlivů nebo chyb vzniklých během replikace nebo rekombinace DNA. Prokaryotické a eukaryotické buňky používají

mnoho funkčních systémů k zachování integrity genetické informace, t.j. pro vyhledávání a opravu chyb v DNA. Tento přísný dohled zaručuje přenos prakticky konstantní genetické informace na dceřinné buňky. Nelze-li chyby v DNA opravit, existují mechanismy, které mohou a mají zabránit buňce v dalším dělení a navodit řízenou smrt - apoptosu takové buňky. Dále existují složité vzájemně provázané interakce při regulaci exprese genů a složité interakce v oblasti metabolismu buňky, jejichž cílem je zajistit nejen dostatek potřebného proteinu, ale i jeho případnou aktivaci, inaktivaci a likvidaci podle aktuální potřeby. Pokud dojde k poruše na kterékoliv z uvedených úrovní v buňce, která má, nebo znovu získá schopnost dělení, může dojít při splnění dalších podmínek až ke vzniku nádoru. Vznik zhoubného nádoru je mnohastupňový proces zahrnující dynamické změny genomu buněk. Jen některé mutace a genetické změny se však v kancerogenezi uplatní - nejvýznamnější jsou aktivující mutace onkogenů a inaktivující mutace tumor-supresorových genů. Vzniku a kumulaci muta-

cí napomáhá vrozená či získaná porucha reparace DNA, přežití a dalšímu dělení abnormálních buněk napomáhají poruchy regulace buněčného cyklu a porucha exekuce apoptózy. Dochází také k hrubším a komplexnějším změnám - chromosomové nestabilitě, t.j. změnám počtu a struktury chromosomů v důsledku chybné segregace chromosomů v mitose, nebo mikrosatelitové nestabilitě, t.j. změnám počtu opakování krátkých repetitivních sekvencí v genomu buňky v důsledku chyb při replikaci. Tyto hrubší změny jsou jak příčinou, tak i důsledkem zmíněných genových mutací. Typickou epigenetickou změnou doprovázející kancerogenezu jsou např. změny metylace promotorových oblastí některých genů, které mají za následek ztrátu exprese těchto genů. Poznatky o genetických změnách v buňce doprovázejících kancerogenezu zhodnotili v obsáhlé práci Hanahan a Weinberg (1). Poznatky o genetických změnách charakteristických pro vznik a vývoj kolorektálního karcinomu shrnuli v dnes již klasické publikaci Fearon a Vogelstein (2), později s důrazem na hereditární formy kolorektálního karcinomu Kinzler a Vogelstein (3).

Dědičnost u karcinomu tlustého střeva.

Podle rodinné anamnézy můžeme pacienty s kolorektálním karcinomem rozdělit na pacienty se sporadickým karcinomem, pokud nemocný nemá žádné příbuzné s CRC, pacienty s familiálním výskytem CRC, pokud má pacient příbuzné s CRC, výskyt však nesvědčí pro jasně dominantní typ dědičnosti, a pacienty s hereditární formou CRC, kdy jsou karcinomem střeva postiženi další blízcí příbuzní pacienta a genealogie svědčí pro dominantní typ dědičnosti. Sporadických karcinomů je asi 75%, familiálních 15-25%, hereditárních asi 5%. Kromě pozitivní rodinné anamnézy svědčí pro možný dědičný podklad karcinomu tyto okolnosti: výskyt mnohočetných (synchronních nebo metachronních) nádorů u pacienta, výskyt jiných nádorů v rodině, které patří do spektra nádorů typických pro některý syndrom (např. karcinom endometria u Lynchova syndromu), nízký věk pacienta v době diagnózy (méně než 50, významně pak méně než 35 let).

Dosud byly popsány dva hlavní syndromy s predispozicí ke karcinomu tlustého střeva - Lynchův syndrom a familiární adenomatózní polypóza - a několik dalších vzácných syndromů s hamartomatosní polypózou a rovněž zvýšeným rizikem kolorektálního karcinomu. U těchto syndromů známe molekulární podstatu onemocnění, t.j. geny, jejichž mutace jsou za příslušný syndrom odpovědné. Molekulárně genetické vyšetření se zde stalo součástí klinické praxe. Ve skupině familiálních karcinomů kolorekta nelze zpravidla z klinických projevů nebo histopatologického nálezu rozhodnout, zda jde o náhodné nezávislé postižení dvou nebo více příbuzných, nebo zda skutečně sdílí společnou vlnu. Pro tuto skupinu nemocných jsou vypracovávány diagnostické postupy kombinující hodnocení klinických údajů s jednoduššími laboratorními analýzami s cílem identifikovat jedince s vysokou pravděpodobností hereditární predispozice a jen tyto pak dále molekulárně geneticky testovat. Také u mladých a velmi mladých nemocných se sporadickým karcinomem střeva je nutno zvážit možnost vrozené predispozice. Následující text se bude zabývat pouze Lynchovým syndromem, neboť familiární adenomatózní polypóza a vzácným syndromům s hamartomatózní polypózou jsou věnovány jiné články tohoto čísla.

Hereditární nepolypózní karcinom tlustého střeva - Lynchův syndrom.

Klinický obraz.

HNPCC je nejčastějším hereditárním syndromem s predispozicí ke karcinomu tlustého střeva - nemocní s HNPCC představují asi 2% ze všech nemocných s CRC (4). Průměrný věk nemocných v době diagnózy CRC je 42-44 let, o dvacet let méně, než u populace s běžným rizikem. Karcinomu nepředchází mnohočetná polypóza, jako časná a málo diagnostická změna může být zachycen ojedinělý adenom s dysplázií nebo

několik (méně než 10) adenomatózních polypů střeva. Karcinom bývá častěji, ne však výlučně, pravostranný, častý je výskyt synchronních a metachronních nádorů kolorekta. Kromě karcinomu tlustého střeva se u nemocných s Lynchovým syndromem vyskytuje významně častěji, než odpovídá populačnímu riziku, také karcinom endometria, žaludku, tenkého střeva, hepatobiliárního traktu, pankreatu, ovaria, ureteru a ledvinné pánvičky a nádory mozku (5, 6). Syndrom Muir-Torre je variantou Lynchova syndromu, při níž je nádor typický pro HNPCC asociován s nádorem sebaceouských žláz, bez ohledu na rodinnou zátěž. Turcotův syndrom je charakterizován výskytem kolorektálních adenomů a karcinomů a primárními nádory CNS.

Etiologie. Genetika HNPCC.

Od roku 1993 dosud byly identifikovány čtyři geny, jejichž zárodečné mutace jsou zodpovědné za Lynchův syndrom. Jde o geny ze skupiny tzv. „DNA mismatch-repair“ genů (MMR genů), t.j. genů, které se účastní rozpoznání a opravy chyb v DNA, vznikajících při replikaci.

Gen MSH2 byl identifikován jako první v roce 1993. Metodou vazebné analýzy ve dvou velkých rodinách s HNPCC byla nejprve prokázána genetická vazba na chromosom 2, oblast 2p16-p15, později upřesněna na 2p21. Prakticky současně byly v nádorech pacientů s HNPCC zjištěny charakteristické změny mikrosatelitních repetitivních sekvencí DNA - tzv. mikrosatelitová nestabilita (7). Funkční a strukturální homologie s již dříve známými MMR geny u *E.coli* a *S.cerevisiae* pomohla identifikovat v kritické oblasti i lidský homolog, který byl u nemocných s HNPCC mutován (8, 9, 10). Gen MSH2 je 73 kb dlouhý, obsahuje 16 exonů, kódovaný polypeptid má 934 aminokyselin. Dosud bylo u nemocných s HNPCC identifikováno více než 200 různých patogenních zárodečných mutací tohoto genu. Mutace genu MSH2 jsou druhou nejčastější příčinou HNPCC - byly prokázány asi u 40% nemocných (11).

Gen MLH1 byl identifikován vazebnou analýzou v rodinách, které nemapovaly do oblasti genu MSH2. Gen byl lokalizován na krátké raménko chromosomu 3 do oblasti 3p23-21 a u nemocných s HNPCC byl mutován (12, 13, 14). Gen MLH1 je dlouhý asi 100 kb, obsahuje 19 exonů a kóduje polypeptid o 756 aminokyselinách. Dosud bylo u nemocných s HNPCC identifikováno více než 250 různých patogenních zárodečných mutací genu MLH1 (11). Mutace MLH1 jsou nejčastější příčinou HNPCC ve většině studovaných populací, také v České republice (Křepelová A, vlastní pozorování).

Gen MSH6 leží v oblasti 2p21, jen 1Mb vzdálen genu MSH2. Protein Msh6, původně označovaný GTBP, byl objeven jako součást funkčního heterodimeru tvořeného společně s proteinem MSH2 (15, 16). Teprve později byly v některých rodinách s HNPCC nalezeny zárodečné mutace tohoto genu (17, 18). Zárodečné mutace genu MSH6 jsou zodpovědné asi za 10% případů HNPCC.

Gen PMS2 je v oblasti 7q11.23 a kóduje polypeptid o 932 aminokyselinách. Mutace genu PMS2 byly zjišťovány jako příčina HNPCC jen vzácně, také proto, že tento gen není rutinně vyšetřován. Analýza genu PMS2 je navíc komplikována existencí několika vysoce homologních pseudogenů v lidském genomu. Až po zpřesnění detekční metody a kombinaci s imunohistochemickou analýzou PMS2 proteinu byly revidovány některé starší nálezy a nejnovější práce svědčí proto, že patogenní zárodečné mutace PMS2 genu jsou příčinou Lynchova syndromu častěji, než se dlouho myslelo (19).

Úloha zárodečných mutací **genu MLH3** při vzniku Lynchova syndromu se nepotvrdila (20, 21), zárodečné mutace dalších MMR genů nebyly u nemocných s Lynchovým syndromem popsány.

Zárodečné mutace MMR genů zjišťované u nemocných s HNPCC jsou různé: krátké inserce, delece vedoucí k posunu čtecího rámce, mutace tvořící předčasný terminační kodon, sestřihové mutace, mutace vedoucí k záměně aminokyseliny, nebo

dlouhé delece v některém z výše uvedených genů. Mutace jsou uvedeny např. v databázi InSiGHT. Souhrnně lze říci, že mutace genu MSH2 a MLH1 jsou zodpovědné za typický Lynchův syndrom, rodiny nesoucí tyto mutace často splňují Amsterdamská kritéria, nádory těchto nemocných mají MSI-H charakter. Nosiči mutace genu MSH6 onemocní spíše ve vyšším věku a ženy mají vyšší riziko karcinomu endometria, jejich nádory mají nízký stupeň mikrosatelitové nestability (MSI-L). Mutace genu PMS2 byly zjištěny u pacientů se sporadickým pravostranným karcinomem tlustého střeva. U vzácně popisovaných pacientů - homozygotů nebo složených heterozygotů pro mutace MLH1, MSH2, MSH6, nebo PMS2 - byly už v dětském věku pozorovány hematologické malignity, nádory mozku a neurofibromatóza (22, 23).

Patogenesa. Funkce MMR proteinů a jejich význam v kolo- rektální kancerogeneze.

Proteiny kódované MMR geny se účastní rozpoznání a opravy určitých typů chyb v DNA, které vznikají během replikace v nově syntetizovaném vlákně DNA. Jde zejména o chyby typu krátkých inserčně-delečních smyček v úseku krátkých mono- nebo dinukleotidových repetitivních sekvencí v genomu, které vznikají sklouznutím řetězce, nebo chyby v párování bází, zejména G-T neshody, které vznikají zařazením nesprávného nukleotidu. MMR proteiny pracují jako heterodimery (komplexy složené ze dvou různých proteinů) s částečnou substrátovou specificitou. Důsledkem ztráty funkce tohoto opravného systému se až o tři řády zvýší frekvence vzniku mutací tohoto typu v postižených dceřinných buňkách. Přímý důsledek závisí na lokalizaci mutace. Postihne-li nekódující oblast genomu, nemá funkční význam, ale můžeme ji prokázat molekulárně genetickým testem jako tzv. nestabilitu mikrosatelitů (MSI) v nádorové tkáni. MSI je charakteristickým znakem nádorů nemocných s Lynchovým syndromem, je prokazována u přibližně 90% jejich karcinomů střeva, ale také u cca 15% karcinomů sporadických, kde může mít jinou příčinu. Postihne-li mutace kódující oblast nějakého genu, kde se taková citlivá repetitivní sekvence vyskytuje, může to být jeden ze stupňů ke vzniku karcinomu. Mutace tohoto typu byly opakovaně prokázány např. v genu TGFβRII, MSH6, PTEN, nebo v genu APC.

Diagnostika.

Diagnostická kritéria. HNPCC se nemanifestuje specifickými projevy, proto je podezření na HNPCC vysloveno u nemocných s karcinomem tlustého střeva s pozitivní rodinnou anamnézou a/nebo s manifestací před 50. rokem věku. Jako diagnostická kritéria se často používají tzv. Amsterdamská kritéria I (Tabulka 1), původně použitá pro výběr rodin pro kolaborativní studii a identifikaci zodpovědných genů. Tato kritéria byla později s přihlédnutím k novým zkušenostem upravena na Amsterdamská kritéria II (Tabulka 2). Většina nemocných s kolo-
rektálním karcinomem Amsterdamská kritéria nesplňuje. Jako vodítko, zda a kteří z nich by měli také podstoupit genetické testování, byla na konferenci v Bethesda vypracována vodítka - Bethesda Guidelines, později také revidovaná a zjednodušená (Tabulka 3), pro indikaci k vyšetření mikrosatelitové nestability (MSI) v nádoru. Pro analýzu MSI postačuje splnění jediného z Bethesda vodítek (24). U nemocných s prokázanou MSI v nádoru je pak vhodné provést mutační analýzu MSH2 a MLH1 genu.

Diagnostický postup. Celý diagnostický postup shrnují doporučení, formulovaná v roce 2002 na konferenci v Bethesda (Tabulka 4) (24). Základem pro rozhodování je zde opět rodinná a osobní anamnéza. Je třeba zdůraznit, že podcenění nebo zanedbání pečlivé rodinné a osobní anamnézy může vážně poškodit právě pacienta s vysokým rizikem zhoubných nádorů a jeho příbuzné. Aktuální praxe v ČR je taková, že nemocní, splňující některé z revidovaných Bethesda vodítek, případně Amsterdamská kritéria II, jsou geneticky testováni na

přítomnost zárodečné mutace MSH2 a MLH1 genu přímo, bez předchozí analýzy nádorové tkáně (Tabulka 4, bod 3). Důvodem je, že prakticky nikdy není na onemocnění pomýšleno včas tak, aby byl k dispozici čerstvý nebo zamražený vzorek nádorové tkáně pro analýzu MSI. Dodatečné vyšetření tkáně z parafrinového bločku je sice také možné, u IHC dokonce standardní, ale pro obtížnou dostupnost a nejistý výsledek je prováděno v menšině případů, prakticky vždy dodatečně jako doplňující vyšetření např. pro objasnění možné patogenity zjištěné mutace, jen vzácně jako skutečné vodítko k rozhodnutí o následné mutační analýze. Ze 120 nemocných doporučených v roce 2005 z různých pracovišť ČR k testování zárodečných mutací MMR genů byla jen u jednoho předem potvrzena MSI a u asi 5% provedena IHC (vlastní pozorování).

Metody mutační DNA analýzy.

Analýza zárodečných mutací MMR genů v rámci diagnostického testu se provádí v genomové DNA pacienta, izolované z leukocytů periferní krve. Vhodná je vysokomolekulární DNA izolovaná z 5 ml žilní krve odebrané do K₃EDTA. Většinou nejsou vhodné různé „miniizolace“ z kolonek nebo magnetické separace, takto izolovaná DNA nemá potřebnou koncentraci a kvalitu. Jakkoli se to může zdát okrajová záležitost, je otázka správné izolace DNA v současnosti věnována velká pozornost v rámci akreditačních a standardizačních procesů v ČR i v EU. Diagnostická DNA laboratoř má právo odmítnout nevhodný vzorek, je proto lepší, v případě pochybností, zasílat přímo 5ml vzorek krve pacienta. Po extrakci může být DNA uchovávána řadu let v tzv. DNA bance. Mutační analýza MMR genů spočívá v amplifikaci jednotlivých exonů (16 v genu MSH2, 19 v genu MLH1) a jejich analýze některou ze screeningových molekulárně genetických metod, které s různou mírou spolehlivosti, cca od 70 do 95%, odliší přítomnost mutace ve vyšetřovaném úseku ve srovnání s kontrolním vzorkem (DHPLC, DGGE, TGGE, HA, SSCP). Úseky podezřelé z přítomnosti mutace jsou následně sekvenovány a přítomná varianta přesně určena. Je možno také všechny úseky přímo sekvenovat, ovšem za cenu vyšších nákladů. K detekci částečných genových delecí nebo duplikací lze použít analýzu Southernova blotu, v poslední době se standardně využívá metoda MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) (25). V naší laboratoři používáme kombinaci PCR, DGGE (26), MLPA a sekvenování. Vzhledem k tomu, že molekulárně genetické testování je dnes součástí péče o pacienty s HNPCC, je snaha tyto analýzy standardizovat a kontrolovat jejich kvalitu. Proto se pravidelně účastníme mezinárodní mezilaboratorní kontroly kvality pořádané EMQN (European Molecular Genetics Quality Network). Tato organizace vydává také doporučení správné laboratorní praxe. Při kontrole kvality je kladen důraz nejen na správné určení genotypu, ale zejména na správnou interpretaci výsledku. Molekulárně genetické vyšetření je v ČR hrazeno zdravotními pojišťovnami. Prediktivní testy jsou jednodušší, v genomové DNA pacienta je detegována cíleně pouze mutace, dříve zjištěná u postiženého příbuzného. Je standardem provádět prediktivní test dvakrát, ve dvou nezávisle odebraných vzorcích krve, aby byla vyloučena možnost záměny.

Výsledky a interpretace mutační DNA analýzy. Pokud pacient splňuje Amsterdamská kritéria II, je diagnóza HNPCC vysoce pravděpodobná a úspěšnost DNA analýzy a průkazu mutace MMR genu vysoká, 60 - 80% (78% v našem souboru 50 nepříbuzných nemocných). Zjištěné mutace jsou zpravidla jednoznačně patogenní. U nemocných, kteří kritéria nesplňují, je úspěšnost detekce výrazně nižší, 10-15%. Navíc často zjišťujeme mutace, jejichž etiopatogenetický význam není jasný - zpravidla dosud neidentifikované mutace vedoucí k záměně aminokyseliny. Při průkazu jasně patogenní zárodečné mutace je diagnóza Lynchova syndromu potvrzena na molekulární úrovni. Za jasně patogenní pokládáme mutace vedoucí ke vzniku předčasného terminačního kodonu, krátké inserce a delece

vedoucí k posunu čtecího rámce a zpravidla předčasněmu ukončení translace, mutace sestřihových míst, které vedou k chybnému sestřihu mRNA a syntéze abnormálního proteinu, a dlouhé částečné delece MMR genu. Obtížné, někdy nemožné, je zhodnocení významu mutace vedoucí k záměně aminokyselin. Zde lze použít některá pomocná kritéria. Pro patogenní charakter mutace svědčí, jde-li o nekonzervativní záměnu aminokyselin, jde-li o záměnu aminokyseliny vysoce konzervované mezi druhy nebo ve vysoce konzervované důležité funkční doméně proteinu, absence varianty u kontrolní populace, kosegregace s chorobou v rodině, asociace s MSI-H nebo ztrátou exprese proteinu v nádoru. Nutnost správné interpretace byla podnětem k řadě funkčních studií dosud popsanych variant nejasného významu. Tyto studie u mnoha mutací potvrdily, že mají za následek mutátorový fenotyp u modelového organismu, nebo brání správné funkční interakci MMR proteinů, u jiných mutací byla patogenita zpochybněna (27-30 a další). Co nejpresnější interpretace výsledku molekulárně genetické analýzy je úkolem laboratoře, která analýzu provádí. Pouze jednoznačně patogenní mutace lze použít pro následné prediktivní testování u příbuzných pacienta.

Analýza a interpretace mikrosatelitové nestability.

Vyšetření mikrosatelitové nestability se provádí v DNA izolované z nádorové tkáně. Je vhodné mít k dispozici také DNA z normální tkáně nebo periferní krve pacienta, aby mohla být vyšetřena nestabilita v dinukleotidových sekvencích. Je-li k dispozici jen nádorová tkáň, lze analyzovat zpravidla jen mononukleotidové repetice, vyšetření může mít omezenou výpovědní hodnotu. Standardně jsou podle doporučení z Bethesda analyzovány metodou fragmentační analýzy tři dinukleotidové a dvě mononukleotidové repetice, při nejjasnějším výsledku je postup modifikován (24). Je-li alespoň ve dvou repeticích z pěti přítomna mikrosatelitová nestabilita (přítomnost abnormální alely proti nenádorové DNA), je nádor hodnocen jako MSI-H, s vysokým stupněm MSI, je-li nestabilita v 1/5 repetice, je hodnocen jako MSI-L, s nízkým stupněm MSI, není-li MSI prokázána, mluvíme o MSS, stabilitě mikrosatelitů.

Metody imunohistochemické analýzy.

Ztrátu exprese proteinů lze vyšetřit pomocí metody imunohistochemie ve fixované nádorové tkáni zatavené do parafínu. V klinické praxi se běžně využívá vyšetření proteinů MLH1, MSH2 a MSH6. Lze vyšetřit také expresi proteinu PMS2, přičemž zárodečné mutace genu *PMS2* jsou vzácnější. Hodnotí se jaderná pozitivita exprese proteinů. Inaktivace obou alel příslušného genu se projeví kompletní ztrátou barvení jader nádorových buněk. Kontrolou správnosti barvení je pozitivita barvení jader normálních epitelálních buněk, stromálních buněk nebo lymfocytů v příslušném preparátu (31).

Ztráta exprese proteinů MLH1 nebo MSH2 je specifická pro nádory s vysokým stupněm nestability mikrosatelitů. Souhrnné zhodnocení výsledků publikovaných ve 49 člancích, které se týkaly imunohistochemické detekce proteinů MLH1 a MSH2 u pacientů s kolorektálním karcinomem, ukázalo, že pomocí imunohistochemie bylo správně detekováno 136 nádorů ze 154 od pacientů se zárodečnou mutací v genu *MLH1* [senzitivita 88,3% (95%CI, 85,8-90,8)] a 99 ze 109 nádorů od pacientů se zárodečnou mutací v genu *MSH2* [senzitivita 99,8% (95%CI, 88,5-93,1)]. Dále bylo pomocí imunohistochemické analýzy proteinů MLH1/MSH2 správně označeno 191 z 244 vysoce nestabilních nádorů od pacientů bez zárodečné mutace v genech *MLH1/MSH2* [senzitivita 78,3% (95%CI, 75,1-81,5)] a 1262 z 1382 nádorů s vysoce nestabilními mikrosatelity od pacientů bez provedené mutační analýzy [senzitivita 91,3% (95%CI, 90,4-92,2%)]. Specifita metody byla 99,4% (95%CI, 99,2-99,6) (31).

V dosud nejrozsáhlejší studii, která zahrnovala 1119 pacientů, mělo 58 (5,2%) nádorů normální imunohistochemický nálezh exprese proteinů MLH1 a MSH2, přestože vykazovaly vyso-

ký stupeň nestability mikrosatelitů. Asi 6% nosičů patogenních mutací (14 z 230) nebylo zachyceno pomocí imunohistochemie. Pozitivní prediktivní hodnota a specifita imunohistochemického vyšetření s ohledem na výsledek vyšetření nestability mikrosatelitů byly v této studii 99,1% a 99,6%. Nejvyšší pravděpodobnost nálezu patogenní mutace byla u pacientů, jejichž nádory byly vysoce nestabilní a ztrácely expresi některého z proteinů (32).

Specifita imunohistochemické detekce proteinu hMSH6 není tak vysoká jako u proteinů MLH1 a MSH2. Je popisována konkomitantní ztráta exprese proteinu MSH6 s proteinem MSH2 v nádorech pacientů se zárodečnou mutací genu *MSH2*. Toto pozorování je vysvětlováno skutečností, že tyto dva proteiny spolu vytváří funkční heterodimer v komplexu MutS α a porucha syntézy proteinu MSH2 vede k nestabilitě proteinu MSH6 (33, 34). Přes nízkou specifitu je doporučováno, aby protein MSH6 byl zařazen do spektra proteinů vyšetřovaných při podezření na deficit MMR, neboť vyšetření může odhalit nádory vzniklé na podkladě zárodečné mutace genu *MSH6*.

Pomocí metody imunohistochemické detekce exprese proteinů MLH1, MSH2, MSH6 a PMS2 je možné relativně snadno a levně vyhledávat jedince se zárodečnými mutacemi v příslušných genech. Metoda je v porovnání s vyšetřením nestability mikrosatelitů vysoce specifická, avšak o něco méně senzitivní. Ani jedna z obou metod však nedokáže rozlišit, zda vyřazení systému oprav chybného párování bází je podmíněno zárodečnou či somaticky. K tomuto rozlišení je nutná mutační analýza genu.

Genetická konzultace a prediktivní testování.

Každé genetické testování, tedy také genetické testování pro podezření na Lynchův syndrom, má být spojeno s řádnou genetickou konzultací a provedeno jen s písemným informovaným souhlasem pacienta. V České republice provádí genetickou konzultaci specialista v oboru lékařské genetiky. Genetik posoudí osobní a rodinnou anamnézu pacienta (genealogii) a dostupnou zdravotnickou dokumentaci, provede odhad genetického rizika u pacienta a jeho příbuzných, informuje pacienta o rizicích a vyšetřeních, jimiž je možno predikci rizika upřesnit - zpravidla potvrdit nebo vyloučit nosičství vloh prediktivním testem. Genetik zajistí molekulárně genetickou analýzu, pokud s ní pacient souhlasí, interpretuje výsledek a organizuje následnou péči o pacienta. Současná legislativa nedovoluje, aby příbuzné v riziku informoval lékař, musí to učinit pacient sám. Také u příbuzných, kteří na základě této informace mají zájem o prediktivní testování, organizuje genetik konzultaci, molekulárně genetické vyšetření, interpretaci výsledku a následnou klinickou péči, včetně případné pomoci klinického psychologa. Doporučuje se, aby se genetické testování pro Lynchův syndrom, zejména testování prediktivní, provádělo u dospělých, t.j. od 18 let věku. Ve vzácných případech manifestace karcinomu u adolescenta nebo při podezření na homozygotitu či složenou heterozygotitu u dítěte je žádoucí provést vyšetření dříve, samozřejmě jen s informovaným souhlasem zákonného zástupce.

Dlouhodobé sledování nemocných a osob v riziku.

Podrobný rozbor doporučení klinického sledování je nad rámec tohoto sdělení, pro úplnost je však třeba se o něm zmínit. Původní doporučení dlouhodobého klinického sledování nemocných s Lynchovým syndromem formulovala Mezinárodní kolaborativní skupina pro HNPCC (Tabulka 5). Dlouhodobé klinické sledování pacientů podle dále uvedených doporučení se vztahuje a) na nemocné s CRC a molekulárně potvrzeným Lynchovým syndromem, b) nemocné s CRC a významnou pozitivní rodinnou anamnézou, kteří dosud nebyli testováni, nebo testování odmítli, nebo u nich nebyla mutační analýza úspěšná, c) na pozitivně testované příbuzné, t.j. dosud asymptomatické nosiče patogenní mutace. Pravidelný kolonoskopický screening prokazatelně snížil mortalitu ve Finské studii (35). Různá pracoviště doporučují mezi

kolonoskopiemi 1-3letý interval. Přínos navrženého gynekologického sledování byl některými studiemi zpochybněn (36, 37). Uvažuje se, že gynekologický screening by mohl být méně častý a více zaměřený na rizikovější skupinu, jako jsou nosičky mutace genu MSH6.

U ostatních nemocných s CRC a u osob dosud zdravých s různou mírou rodinné zátěže je doporučeno sledování, jehož intenzita je odstupňována podle míry empirického rizika (38).

Další směry ve výzkumu a v diagnostice.

Lynchův syndrom je stále předmětem výzkumu. Jsou hledány molekulární příčiny onemocnění u negativně testovaných pacientů, jak zlepšením metod mutačního screeningu, tak snahou o identifikaci nových kauzálních genů pro HNPCC. Některé nádorové charakteristiky u dosud negativně testovaných osob, nejnapádnější absence MSI, svědčí pro jiný mechanismus kan-

cerogenese u těchto nemocných. Různými metodami je zkoumán etiopatogenetický význam mutací MMR genů, které vedou k záměně aminokyseliny, s cílem zpřesnit interpretaci výsledku vyšetření. Jsou hledány nádorové charakteristiky (metylace promotoru genu MLH1, somatické mutace genu BRAF) které by odlišily sporadický CRC od nádoru vzniklého v rámci HNP-CC, zejména u velmi mladých nemocných se sporadickým CRC. Odlišení je významné pro predikci rizika u příbuzných těchto pacientů. Pokračuje se v zlepšování zobrazovacích metod, zlepšení terapie - optimalizace času a rozsahu chirurgické terapie, včetně profylaktických výkonů, optimalizace dlouhodobého sledování. Vše je vedeno snahou zlepšit prognózu nemocných s Lynchovým syndromem.

Poděkování
Podpořeno grantem IGA MZ ČR NR/8294-3.

Tabulka 1:Amsterdamská kritéria I (39)

1. V rodině jsou alespoň tři pacienti s karcinomem tlustého střeva, jeden z nich je příbuzný prvního stupně ostatních dvou
2. Jsou postiženy alespoň dvě generace
3. Aspoň jeden nemocný byl mladší padesáti let v době diagnózy
4. Nádor byl verifikován patologem
5. Je vyloučena familiární adenomatózní polypóza

Tabulka 2: Amsterdamská kritéria II (39)

1. V rodině jsou alespoň tři příbuzní s karcinomem sdruženým s HNP-CC (kolorektální karcinom, karcinom endometria, tenkého střeva, ureteru a ledvinné pánvičky), jeden z nich je příbuzný prvního stupně ostatních dvou
2. Jsou postiženy alespoň dvě generace
3. Aspoň jeden nemocný byl mladší padesáti let v době diagnózy
4. Nádor byl verifikován patologem
5. Je vyloučena familiární adenomatózní polypóza

Tabulka 3: Revidovaná Bethesda vodítka pro testování MSI v nádorech (24)

1. Kolorektální karcinom diagnostikovaný u pacienta mladšího 50 let
2. Přítomnost synchronních nebo metachronních karcinomů střeva nebo jiných nádorů sdružených s HNPCC (karcinom kolorekta, endometria, žaludku, tenkého střeva, ovaria, pankreatu, ureteru a pánvičky, biliárního traktu, mozku – glioblastom, kůže – adenomy sebaceo- sních žláz a keratoakanthomy), bez ohledu na věk
3. Kolorektální karcinom s histologií odpovídající vysokému stupni MSI (MSI-H), diagnostikovaný u pacienta mladšího 60 let (přítom- nost tumor-infiltrujících lymfocytů, lymfocytární reakce podobná Crohnově chorobě, mucinósní charakter, medulární růst, prstencové (signet ring) buňky v nádoru)
4. Kolorektální karcinom diagnostikovaný u jednoho nebo více pří- buzných prvního stupně s nádorem charakteristickým pro HNPCC, jeden z nádorů byl diagnostikován před 50. rokem věku
5. Kolorektální karcinom diagnostikovaný u dvou nebo více příbuzných prvního nebo druhého stupně s nádory sdruženými s HNPCC, bez ohledu na věk.

Tabulka 4: Doporučení pro molekulární analýzy u pacientů v rizi-
ku, splňujících Bethesda vodítka (24)

1. Optimálním přístupem při vyšetření je analýza MSI v nádoru nebo imunohistochemická analýza nádoru, následovaná testováním záro- dečných mutací MSH2 a MLH1 genu u nemocných s prokázanou MSI-H v nádoru nebo se ztrátou exprese některého MMR genu
2. Po identifikaci mutace by měla být příbuzným v riziku doporučena genetická konzultace a pokud si přeje, mohou být testováni
3. Alternativní postup, není-li proveditelná analýza tkáně, je přikročit přímo k analýze zárodečných mutací MSH2 a MLH1 genů
4. Není-li zjištěna zárodečná mutace MMR genu u probanda s tumorem s MSI-H a/nebo klinickými projevy HNPCC, je výsledek genetické- ho testu neinformativní. Pacienti a příbuzní v riziku by měli být konz- ultováni, jako kdyby byla diagnóza HNPCC potvrzena, a dlouho- době sledováni jako při vysokém riziku.
5. Pacienti musí být ujištěni o důvěrnosti výsledků, aby byla zmírněna obava z možné diskriminace kvůli jejich genetické dispozici.

Tabulka 5: Doporučené klinické sledování u osob s HNPCC/rizi-
kem HNPCC. Doporučení ICG HNPCC (40)

vyšetření	počátek sledování	interval
kolonoskopie	od 20 – 25 let	2 roky
gynekologické vyšetření:		
transvaginální sonografie		
CA-125	od 30 – 35 let	1 – 2 roky
gastroskopie	od 30 – 35 let	1 – 2 roky
rozbor moči		
sonografie močového traktu	od 30 – 35 let	1 – 2 roky
genetické testování	po 18. roce	

Literatura

1. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell 2000, 100:57-70.
2. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell 1990, 61:759-767.
3. Kinzler KW, Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer. Cell 1996, 87:159-170.
4. Aaltonen LA, Salovaara R, Kristo, P. et al. Incidence of hereditary nonpoly-
posis colorectal cancer and the feasibility of molecular screening for the
disease. N Engl J Med 1998, 338:1481-1487.
5. Mecklin JP, Järvinen HJ. Tumor spectrum in cancer family syndrome (here-

ditary nonpolyposis colorectal cancer). Cancer 1991, 68:1109-1112.
6. Aarnio M, Sankila R, Pukkala E, et al. Cancer risk in mutation carriers of
DNA-mismatch repair genes. Int J Cancer 1999, 71:677-685.
7. Ionov Y, Peinado MA, Malkhosyan S, et al. Ubiquitous somatic mutations
in simple repeat sequences reveal a new mutator mechanism for oncoge-
nesis. Nature 1993, 363:558-561.
8. Peltomäki P, Aaltonen LA, Sistonen P, et al. Genetic mapping of a locus
predisposing to human colorectal cancer. Science 1993, 260:810-812.
9. Fishel R, Lescoe MK, Rao MRS et al, Cell 1993,75:1027-1038.
10. Leach FS, Nicolaides NC, Papadopoulos N, et al. Mutations of a MutS homo-
log in hereditary non-polyposis colorectal cancer. Cell 1993, 75:1215-1225.

11. Peltomäki P, Vasen H. Mutations associated with HNPCC predisposition - Update of ICG-HNPCC/InSiGHT mutation database. *Dis Markers* 2004, 20:269-276.
12. Lindblom A, Tannergrfd P, Werelius B, Nordenskjöld. Genetic mapping of a second locus predisposing to hereditary non- polyposis colon cancer. *Nat. Genet.*, 1993, 5:279-282.
13. Bronner CE, Baker SM, Morrison PT, et al. Mutation in the DNA mismatch repair gene homologue hMLH1 is associated with hereditary non-polypoid colon cancer. *Nature* 1994, 371:75-80.
14. Papadopoulos N, Nicolaides NC, Wei Y-F. Mutation of a mutL homolog is associated with hereditary colon cancer. *Science* 1994, 263:1625-1629.
15. Drummond JT, Li G-M, Longley MJ, Modrich P. Isolation of an hMSH2-p160 heterodimer that restores DNA mismatch repair to tumor cells. *Science* 1995, 268:1909-1912.
16. Palombo F, Gallinari P, Iaccharino I, et al. GTBP, a 160- kilodalton protein essential for mismatch-binding activity in human cells. *Science* 1995, 268:1912-1914.
17. Akiyama Y, Sato H, Yamada T, et al. Germ-line mutation of the hMSH6/GTBP gene in an atypical hereditary nonpolyposis colorectal cancer kindred. *Cancer Res* 1997;57:3920-3923.
18. Miyaki M, Konishi M, Tanaka K, et al. Germline mutation of MSH6 as the cause of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Nat Genet* 1997, 17:271-272.
19. Nakagawa H, Lockman JC, Frankel WL, et al. Mismatch repair gene PMS2: Disease-causing germline mutations are frequent in patients whose tumors stain negative for PMS2 protein, but paralogous genes obscure mutation detection and interpretation. *Cancer Res* 2004, 64:4721-4727.
20. Wu Y, Berends MJW, Sijmons RH, et al. A role for MLH3 in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Nat Genet*, 2001, 29:137-138.
21. Hienonen T, Laiho P, Salovaara R, et al. Little evidence for involvement of MLH3 in colorectal cancer predisposition. *Int J Cancer* 2003, 106:292-296.
22. Ricciardone MD, Ozcelik T, Cevher B, et al. Human MLH1 deficiency predisposes to hematological malignancy and neurofibromatosis type I. *Cancer Res* 1999, 59:290-293.
23. Raevaara TE, Gerdes AM, Lonnqvist KE et al. HNPCC mutation MLH1 P648S makes the functional protein unstable, and homozygosity predisposes to mild neurofibromatosis type I. *Genes Chromosomes Cancer* 2004, 40:261-265.
24. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, et al. Revised Bethesda guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst* 2004, 96:261-268.
25. Schouten JP, McElgun CJ, Waaijer R, et al. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiple ligation-dependent probe amplification. *Nucl Acids Res* 2002, 30:e57.
26. Wu Y, Nystrom-Lahti M, Osinga J, et al. MSH2 and MLH1 replication error-positive colorectal carcinoma as assessed by two-dimensional DNA electrophoresis. *Genes Chromosomes Cancer* 1997, 18:269-278.
27. Guerrette S, Wilson T, Gradia S, Fishel R. Interactions of human hMSH2 with hMSH3 and hMSH2 with hMSH6: examination of mutations found in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Mol Cell Biol* 1999, 18:6616-6623.
28. Ellison AR, Lofing J, Bitter GA. Functional analysis of human MLH1 and MSH2 missense variants and hybrid human-yeast MLH1 proteins in *Saccharomyces cerevisiae*. *Hum Mol Genet*, 2001, 10:1889-1900.
29. Trojan J, Zeuzem S, Randolph A, et al. Functional analysis of hMLH1 variants and HNPCC-related mutations using a human expression system. *Gastroenterology* 2002, 122:211-219.
30. Raevaara TE, Korhonen MK, Lohi H, et al. Functional significance and clinical phenotype of nontruncating mismatch repair variants of MLH1. *Gastroenterology* 2005, 129:537-549.
31. Plevová P, Křepelová A, Papežová M, et al. Immunohistochemical detection of the hMLH1 and hMSH2 proteins in hereditary non-polyposis colon cancer and sporadic colon cancer. *Neoplasma* 2004, 51:275-284.
32. Engel C, Forberg J, Holinski-Feder E, et al. Novel strategy for optimal sequential application of clinical criteria, immunohistochemistry and microsatellite analysis in the diagnosis of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Int J Cancer* 2006, 118:115-122.
33. Chang DK, Ricciardiello L, Goel A, et al. Steady-state regulation of the human DNA mismatch repair system. *J Biol Chem* 2000, 275:18424-18431.
34. Plaschke J, Kruger S, Pistorius S, et al. Involvement of hMSH6 in the development of hereditary and sporadic colorectal cancer revealed by immunostaining is based on germline mutations, but rarely on somatic inactivation. *Int J Cancer* 2002, 97:643-648.
35. Jarvinen HJ, Aarnio M, Mustonen H, et al. Controlled 15- year trial on screening for colorectal cancer in families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Arch Intern Med* 2000, 163:829-834.
36. Boks DES, Trujillo AP, Voogd AC, et al. Survival analysis of endometrial carcinoma associated with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Int J Cancer* 2002, 102:198-200.
37. Dove-Edwin I, Boks D, Goff S, et al. The outcome of endometrial carcinoma surveillance by ultrasound scan in women at risk of hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma and familial colorectal carcinoma. *Cancer* 2002, 94:1708-1712.
38. Winawer S, Fletcher R, Rex D, et al. Colorectal cancer screening and surveillance: clinical guidelines and rationale - update based on new evidence. *Gastroenterology*, 2003, 124:544- 660.
39. Vasen HFA, Mecklin JP, Khan PM, Lynch HT. The International Collaborative Group on hereditary nonpolyposis colorectal cancer (ICG-HNPCC). *Dis Colon Rectum* 1991, 34:424- 425.
40. Vasen HF, Watson P, Mecklin JP, Lynch HT. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative Group on HNPCC. *Gastroenterology* 1999, 116:1453-1456.

DĚDIČNÉ FORMY NÁDORŮ LEDVIN – SPEKTRUM PREDISPOZIČNÍCH GENŮ A JEJICH TESTOVÁNÍ

HEREDITARY RENAL CELL CANCER - PREDISPOSITION GENES AND THEIR TESTING

KŘEPELOVÁ A.

ÚSTAV BIOLOGIE A LÉKAŘSKÉ GENETIKY FN V MOTOLE A 2. LF UK V PRAZE

Souhrn

Nádory ledvin jsou podmíněny hereditární predispozicí mnohem vzácněji, než karcinom prsu nebo tlustého střeva. Je známo několik autosomálně dominantně dědičných onemocnění, kde nádor ledviny patří do klinického obrazu, ne však jako hlavní nebo dokonce diagnostický příznak. Mezi významné patří von Hippel-Lindauova choroba podmíněná mutací genu VHL a tuberózní skleróza podmíněná mutacemi genů TSC1 nebo TSC2. Mezi velmi vzácné syndromy patří hereditární papilární karcinom ledviny, jehož příčinou jsou mutace genu MET, hereditární leiomyomatóza/karcinom ledviny, onemocnění způsobené mutacemi genu FH a syndrom Birt-Hogg-Dubé, způsobený mutacemi genu BHD. Genetické testování se rutinně provádí jen u von Hippel-Lindauovy choroby a u tuberózní sklerózy. Některé další kandidátní lokusy byly identifikovány analýzou chromosomových translokací u nemocných s nádory ledvin.

Klíčová slova: karcinom ledviny, von Hippel-Lindauova choroba, tuberózní skleróza

Summary

Hereditary predisposition to renal cancer is less frequent than predisposition to breast or colon cancer. Few autosomal dominant disorders are known where renal cancer is a part of clinical manifestation, but not as a key diagnostic sign. The most important syndromes are von Hippel-Lindau disease caused by mutations in VHL gene and tuberous sclerosis caused by mutations in TSC1 or TSC2 genes. Rare syndromes include hereditary papillary renal cancer, caused by mutations in MET gene, hereditary leiomyomatosis/renal cell cancer, caused by mutations in FH gene, and Birt-Hogg-Dubé syndrome caused by mutations in BHD gene. Genetic testing is routinely performed only in von Hippel-Lindau disease and tuberous sclerosis. Some new candidate loci have been identified by the analysis of breakpoints of chromosomal translocations observed in renal cancer.

Key words: renal cell cancer, von Hippel-Lindau disease, tuberous sclerosis

Nádory ledvin jsou jen vzácně podmíněny hereditární predispozicí, v naprosté většině případů se jedná o sporadické případy v důsledku získaných genetických změn v nádorové tkáni. Podezření na hereditární predispozici u nádoru ledviny vznikne na základě stejných znaků, jako u nádorů jiných lokalizací: 1. nádor vznikl u jedince významně mladšího, než je průměrný věk nemocných v době postižení nádorem stejného typu, často ve věku mladším než 30 let,

2. nádor postihuje obě ledviny, je multifokální, aniž by šlo o metastázy,

3. u nemocného se vyskytly ještě zhoubné nebo nezhoubné nádory jiných orgánů (mnohočetné primární nádory),

4. stejný typ nádoru se vyskytl u příbuzných pacienta.

Dosud neznáme žádný „čistý“ hereditární karcinom ledviny, vždy se jedná o výskyt karcinomu nebo jiného nádoru ledviny v rámci syndromu, u něhož je převažující a diagnostická jiná symptomatologie. Přesto je vhodné na možnost hereditární predispozice u pacienta pomýšlet, aby nezůstala nepoznána zejména u oligosymptomatických pacientů. Příbuzní pacientů s hereditárními formami zhoubných nádorů mají totiž na rozdíl od příbuzných pacienta se sporadickým nádorem až 50% apriorní riziko, že vlohu také zdědili. Přehled dosud známých syndromů spojených s výskytem karcinomu nebo jiného nádoru ledviny uvádí Tabulka 1.

Von Hippel-Lindauova choroba (VHL)

VHL choroba je autosomálně dominantně dědičná predispozice k hemangioblastomům sítnice, mozečku, míchy, konvenčnímu karcinomu ledviny, feochromocytomu, cystám pan-

kreatu a některých dalších orgánů. Incidence onemocnění je asi 1/36000, penetrance téměř 100% do věku 65 let. V různých studiích se hemangioblastom mozečku manifestoval u 44-72% nemocných, angiom sítnice u 25-60%, karcinom ledviny u 24-45%, hemangioblastom míchy u 13-50% a feochromocytom u 10-20% nemocných. Podle klinických projevů v rodině lze rozlišit u VHL choroby typ I s hemangioblastomy, karcinomem ledviny, cystami a nádory pankreatu, bez feochromocytomu, typ IIA s hemangioblastomy a feochromocytomem, bez karcinomu ledviny, typ IIB, s hemangioblastomy, karcinomem ledviny, cystami a nádory pankreatu i feochromocytomem, a typ IIC - pouze feochromocytom (1).

Jedinou prokázanou příčinou VHL choroby jsou zárodečné mutace genu VHL. Gen VHL leží na chromosomu 3p25, má 3 exony, které kódují polypeptid o 213 aminokyselinách (2). VHL protein se jako součást E3-ubiquitin ligasového komplexu účastní regulace degradace HIF-alfa (Hypoxia inducible factor-alfa) při regulaci odpovědi na hypoxii v buňce a plní ještě další, na HIF-alfa nezávislé funkce (přehled viz (3)). U nemocných s VHL chorobou bylo dosud identifikováno asi 300 různých mutací: bodové mutace vedoucí k záměně aminokyseliny, tvořící nový terminační kodon, mutace sestřihového místa, krátké inserce a delece, u cca 10-15% nemocných také dlouhé částečné nebo úplné delece VHL genu. Mutační analýza VHL genu zahrnuje detekci bodových mutací, krátkých insercí a delecí metodou přímého sekvenování jednotlivých exonů VHL genu, doplněnou o detekci částečných nebo kompletních delecí genu dříve analýzou Southernova blotu, dnes metodou MLPA (Multiplex ligati-

on-dependent probe amplification (4). V ČR se DNA analýza VHL genu provádí v Ústavu biologie a lékařské genetiky FN Motol v Praze. Úspěšnost mutační analýzy se v případech rodinného výskytu choroby blíží 100%, u sporadických případů je nižší. V našem souboru nemocných z České a Slovenské republiky byla úspěšnost detekce mutace 19/21 (90%) u pacientů s VHL chorobou a pozitivní rodinnou anamnézou a 7/27 (26%) u sporadických případů VHL choroby nebo nemocných se sporadickým hemangioblastomem (Křepelová A., nepublikováno). Klinický typ VHL poměrně dobře koreluje s typem mutace VHL genu v rodině. Z pohledu rizika karcinomu ledviny je významné, že některé mutace VHL genu velmi pravděpodobně ke karcinomu ledviny nepredisponují.

VHL choroba patří ke skupině chorob s predispozicí k zhoubným nádorům, kde se DNA analýza stala součástí klinické praxe. U nemocných s VHL chorobou se provádí konfirmační DNA diagnostika a u příbuzných v riziku onemocnění se provádí prediktivní DNA testování. Všeobecně je akceptováno, že riziko VHL choroby může být i indikací k prenatalní diagnostice, pokud si ji žena přeje. Nedílnou součástí genetického testování je genetická konzultace, poskytnutá klinickým genetikem. DNA analýza se provádí pouze s písemným informovaným souhlasem pacienta, u dětí pak se souhlasem zákonného zástupce. Vysoké riziko manifestace hemangioblastomů, feochromocytomu a karcinomu ledviny je podkladem pro doporučené dlouhodobé klinické sledování nemocných a dosud asymptomatických nosičů mutace VHL genu již od dětství.

Tuberózní skleróza (TSC)

Tuberózní skleróza je autosomálně dominantně dědičné onemocnění charakterizované tvorbou hamartomů v mnoha orgánech – v kůži, srdci, ledvinách, mozku, tvorbou rhabdomyomů v srdci a angiomyolipomů v ledvinách. Často je asociována s autismem nebo epilepsií. Většina nádorů u tuberózní sklerózy je benigních, vyskytují se však i obrovskobuněčné astrocytomy a karcinom ledviny. Incidence je asi 1/11 000 narozených. Penetrance TSC je asi 95%, přičemž 65-85% případů je projevem mutace *de novo*. TSC je lokusově heterogenní, molekulární příčinou TSC jsou mutace v genech TSC1 nebo TSC2. Gen TSC1 leží na chromosomu 9q34, má 23 exonů a kóduje protein hamartin. Gen TSC2 leží na chromosomu 16p13.3, má 41 exonů a kóduje protein tuberin. Většina mutací TSC1 a TSC2 genu vede k syntéze abnormálního zkráceného proteinu. Podle současné představy tvoří proteiny TSC1 a TSC2 (hamartin a tuberin) komplex, který integruje podněty z buněčného cyklu (prostřednictvím CDK1), informace o energetickém stavu buňky (prostřednictvím AMPK) a signály růstových faktorů (prostřednictvím RSK1, Akt a MK2) a rozhoduje o následné proliferaci a diferenciaci (prostřednictvím mTOR a B-Raf kinasy). Renální symptomatologie u TSC je velmi pestrá a manifestuje se už u malých dětí (Přehled viz (5)). Nejčastěji (asi v 75%) se tvoří bilaterální a mnohočetné benigní angiomyolipomy, které mohou být příčinou život ohrožujícího krvácení. Méně časté (u 17% nemocných) jsou cysty ledvin, které mohou být mnohočetné, podobně jako u autosomálně dominantní polycystické choroby ledvin, ADPKD. Karcinomy ledviny u TSC jsou velmi heterogenní, mohou být konvenční, papilární i chromofobní, byly pozorovány i onkocyto- my (6, 7). Karcinomy ledvin se u pacientů s TSC manifestují průměrně v 28 letech a postihují méně než 5% nemocných. TSC patří ke skupině chorob s predispozicí k zhoubným nádorům, kde je DNA analýza možná, vzhledem k poměrně složitosti však není běžná. V ČR se provádí v Ústavu lékařské genetiky a fetální medicíny ve FN v Olomouci (RNDr. Vrtěl). U nemocných s TSC lze provést konfirmační, prediktivní i prenatalní DNA diagnostiku. Stejně jako u jiných geneticky podmíněných chorob je nedílnou součástí genetického testování genetická konzultace, poskytnutá klinickým genetikem. DNA analýza se provádí pouze s písemným informovaným souhlasem pacienta, resp. se souhlasem zákonného zástupce v případě vyšetření dítěte.

Hereditární papilární karcinom ledviny (HPRC)

Hereditární papilární karcinom ledviny je vzácná autosomálně dominantně dědičná predispozice k bilaterálním a multifokálním papilárním karcinomům ledviny u nosičů zárodečné mutace genu MET. Gen MET leží na chromosomu 7q31, kóduje transmembránový receptor s tyrosinkinasovou aktivitou, HGFR (hepatocyte growth factor receptor). Funkčně patří mezi protoonkogeny, v patogenese karcinomu ledviny se uplatňují aktivační (gain-of-function) mutace MET genu, nebo zvýšení počtu jeho kopií při trisomii chromosomu 7 nebo duplikaci MET genu v nádoru (8-10). Rutinní analýza MET genu pro diagnostické účely není zavedena.

Syndrom hereditární leiomyomatózy a karcinomu ledviny (HLRCC)

Syndrom hereditární leiomyomatózy a karcinomu ledviny je vzácná autosomálně dominantně dědičná predispozice k tvorbě mnohočetných kožních a děložních leiomyomů, leiomyosarkomu dělohy a papilárního karcinomu ledviny (11, 12). Příčinou onemocnění jsou mutace genu FH, který kóduje fumarát hydratasy; gen leží na chromosomu 1q42.3-q43, má 10 exonů. Některé mutace genu FH způsobují také vzácný autosomálně recesivní deficit fumarát hydratasy, přičemž spektrum mutací detegovaných u deficitu fumarát hydratasy se liší od mutací nalézáných u HLRCC. U nemocných s HLRCC se děložní myomy manifestovaly ve věku 25-48 let, karcinom ledviny ve věku 26-48let. Rutinní DNA analýza se u HLRCC neprovádí, výzkumně je zavedena analýza genu FH u vzácného autosomálně recesivního deficitu fumarát hydratasy v Ústavu dědičných metabolických poruch v Praze.

Syndrom Birt-Hogg-Dubé (BHD)

BHD syndrom je vzácná autosomálně dominantně dědičná genodermatóza charakterizovaná mnohočetnými hamartomy vlasového folikulu - fibrofolikulomy, predispozicí k spontánnímu pneumothoraxu a zvýšeným rizikem zhoubných nádorů ledviny různých histopatologických typů. U nemocných se vyskytly konvenční, papilární, chromofobní karcinomy ledviny i onkocytom ledviny. Muži byli 2,5x častěji postiženi než ženy, průměrný věk v době diagnózy byl 48 let (31-71 let). Nádory byly unilaterální i bilaterální. Nádor ledviny byl diagnostikován u 45% nosičů mutace BHD genu ve studovaném souboru (13). Molekulární příčinou onemocnění jsou mutace v BHD genu (dříve FLCN gen). Gen je lokalizován na chromosomu 17p11.2, má 14 exonů, kóduje protein folikulin o 579 aminokyselinových zbytcích. Funkce folikulinu není známa. (14, 15). DNA analýza z genu BHD pro diagnostické účely není zavedena.

Další kandidátní geny pro karcinom ledviny

Některé další lokusy a geny, které by mohly být zodpovědné za nové hereditární formy karcinomu ledviny nebo by se mohly uplatňovat v patogenese sporadického karcinomu ledviny, byly identifikovány při zkoumání chromosomových translokací v nádorech ledvin. V současnosti se za takové kandidáty považují:

gen **PRCC** na chromosomu 1q21, jehož translokace a fúze s genem TFE3 na Xp11 byla v karcinomech ledviny opakovaně pozorována (16),
gen **PTC/PRN**, gen pro papilární karcinom štítné žlázy/papilární karcinom ledviny na chromosomu 1q21 (17),
gen **DIRC2** (disrupted in renal carcinoma 2) (18),
gen **TRC8** (translocation in renal carcinoma on chromosome 8) na chromosomu 8q24.1 (19),
gen **RCCP3** (renal cell carcinoma, papillary, 3) na chromosomu 17q21.32 (20).

Úloha zmíněných genů v patogenese karcinomu ledviny je předmětem výzkumu.

Poděkování.

Podporováno Výzkumným záměrem MŠMT č. 0021620808.

Tabulka 1: Hereditární predispozice k nádorům ledviny
Syndrom

	Gen	Lokalizace	Nádory	Název a funkce proteinu
von Hippel-Lindauova choroba	VHL	3p25	hemangioblastomy	VHL protein,
			sítnice, mozečku, míchy,	složka E3 ubiquitin ligasového
			konvenční karcinom ledviny	komplexu, reguluje degradaci
Tuberózní skleróza	TSC1	9q34	feochromocytom, cysty	HIFα
			mnohočetné hamartomy	hamartin (TSC1), tuberin
	TSC2	16p13	angiomyolipomy,	(TSC2). TSC1/TSC2 komplex
			rhabdomyomy	integruje intracelulární
			karcinom ledviny	signály ovlivňující proliferaci
			astrocytom	a diferenciaci
Hereditární papilární karcinom ledviny	MET	7q31	papilární karcinom	HGFR (hepatocyte growth
			ledviny	factor receptor)
				transmembránový receptor
				s tyrosinkinásovou aktivitou
HLRCC syndrom (syndrom hereditární leiomyomatózy a karcinomu ledviny)	FH	1q43	leiomyomy kůže, dělohy,	fumarát hydratasa, enzym
			leiomyosarkom dělohy,	
			papilární karcinom ledviny	
Birt-Hogg-Dubé syndrom	BHD	17p11.2	fibrofolikulomy kůže	foliculin, neznámá funkce
			konvenční, chromofobní	
			papilární karcinom ledviny	
			onkocytom ledviny (spontánní pneumothorax)	

Literatura:

1. Lonser RR, Glenn GM, McClellan W, et al. Von Hippel Lindau disease. Lancet 2003, 361:2059-2067.

2. Latif F, Tory K, Gnarr J, et al. Identification of the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene. Science 1993, 260:1317-1320.

3. Maynard MA, Ohh M. Von Hippel-Lindau tumor suppressor protein and hypoxia-inducible factor in kidney cancer. Am J Nephrol 2004;24:1-13.

4. Schouten JP, McElgun CJ, Waaijer R, et al. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiple ligation-dependent probe amplification. Nucl. Acids Res. 30, e57, 2002.

5. Henske EP. Tuberous sclerosis and the kidney: from mesenchyme to epithelium, and beyond. Review, Pediatr Nephrol 2005, 20:854-857.

6. Bjornson J, Short MP, Kwiatkowski DJ, Henske EP. Tuberous sclerosis-associated renal cell carcinoma. Clinical, pathological, and genetic features. Am J Pathol 1996, 149:1201-1208.

7. Al-Saleem T, Wessner LL, Scheithauer BW et al. Malignant tumors of the kidney, brain, and soft tissues in children and young adults with the tuberous sclerosis complex. Cancer 1998, 83:2208-2216.

8. Schmidt L, Duh FM, Chen F, et al. Germline and somatic mutations in the tyrosine kinase domain of the MET proto-oncogene in papillary renal carcinomas. Nat Genet 1997, 16, 68-73.

9. Fischer J, Palmedo G, von Knobloch R, et al. Duplication and overexpression of the mutant allele of the MET proto-oncogene in multiple hereditary papillary renal cell tumours. Oncogene 1998, 17:733-739.

10. Giordano S, Maffe A, Williams TA, et al. Different point mutations in the met oncogene elicit distinct biological properties. FASEB J 2000, 14:399-406.

11. Launonen V, Vierimaa O, Kiuru M, et al. Inherited susceptibility to uterine leiomyomas and renal cell cancer. Proc Natl Acad Sci 2001, 98:3387-3392.

12. The Multiple Leiomyoma Consortium. Germline mutations in FH predispose to dominantly inherited uterine fibroids, skin leiomyomata and papillary renal cancer. Nature Genetics 2002, 30:406-410.

13. Schmidt LS, Nickerson ML, Warren MB, et al. Germline BHD-mutation spectrum and phenotype analysis of a large cohort of families with Birt-Hogg-Dubé syndrome. Am J Hum Genet 2005, 76:1023-1033.

14. Khoo SK, Bradley M, Wong FK, et al. Birt-Hogg-Dubé syndrome: mapping of a novel hereditary neoplasia gene to chromosome 17p12-q11.2. Oncogene 2001, 20:5239-5242.

15. Schmidt LS, Warren MB, Nickerson ML, et al. Birt-Hogg-Dubé syndrome, a genodermatosis associated with spontaneous pneumothorax and kidney neoplasia, maps to chromosome 17p11.2. Am J Hum Genet 2001, 69:876-882.

16. Weterman MAJ, Wilbrink M, Eleveld M, et al. Genomic structure, chromosomal localization, and embryonic expression of the mouse homolog of PRCC, a gene associated with papillary renal cell carcinoma. Cytogenet Cell Genet 2001, 92:326-332.

17. Malchoff CD, Sarfarazi M, Tendler B, et al. Papillary thyroid carcinoma associated with papillary renal neoplasia: genetic linkage of a distinct heritable tumor syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2000, 85:1758-1764.

18. Bodmer D, Eleveld M, Kater-Baats E, et al. Disruption of a novel MFS transporter gene, DIRC2, by a familial renal cell carcinoma-associated t(2;3)(q35;q21). Hum Molec Genet 2002, 11:641-649.

19. Gemill RM, West JD, Boldog F, et al. The hereditary renal cell carcinoma 3;8 translocation fuses FHIT to a patched-related gene, TRC8. Proc Natl Acad Sci 1998, 95:9572-9577.

20. Balint I, Fischer J, Ljungberg B, et al. Mapping the papillary renal cell carcinoma gene between loci D17S787 and D17S1799 on chromosome 17q21.32. Lab Invest 1999, 79:1713-1718.

KASUISTIKY LI-FRAUMENI SYNDROMU: DIAGNOSTICKÉ A PREVENTIVNÍ MOŽNOSTI

CASES OF LI-FRAUMENI SYNDROME: DIAGNOSTIC AND PREVENTIVE POSSIBILITIES

FORETOVÁ L.¹, NAVRÁTILOVÁ M.¹, PETRÁKOVÁ K.¹, PALÁCOVÁ M.¹, KALÁBOVÁ R.¹, PUCHMAJEROVÁ A.², NOVOTNÁ K.², SEDLÁČEK Z.²

¹MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

²ÚSTAV BIOLOGIE A LÉKAŘSKÉ GENETIKY 2 LF UK A FN MOTOL, PRAHA

Souhrn

Jedním z nejzávažnějších syndromů s hereditární dispozicí k nádorovým onemocněním je Li-Fraumeni syndrom. Asi 75 % pacientů mají detekovatelnou mutaci v genu *TP53*. Tento gen je důležitý pro regulaci buněčného cyklu a apoptózy a jeho mutace způsobují vysoké riziko leukémií, nádorů CNS, sarkomů, adrenokortikálních nádorů i časných nádorů prsu. Mohou se však objevit jakékoliv typy nádorů. Riziko nádorového onemocnění je 50% do věku 30 let, 90% do věku 70 let.

V našem souboru pacientů s potvrzeným syndromem jsou tři probandky, kde většina nádorových onemocnění se vyskytla v dospělém věku, bez podrobně odebrané rodinné anamnézy mohly připomínat jiné dědičné syndromy s výskytem nádorů prsu nebo kolorekta. Kasuistiky upozorňují na nutnost zhodnocení anamnestických údajů při řešení individuálních případů.

Klíčová slova: Li-Fraumeni syndrom, zárodečná mutace v genu *TP53*, hereditární predispozice k nádorům, genetické testování

Abstract

Li-Fraumeni syndrome is one of the most severe hereditary cancer syndromes. In about 75 % of patients a germline mutation in the *TP53* gene can be detected. This gene is important for the regulation of cell cycle and apoptosis. The germline mutation causes a high risk of leukaemia, brain tumours, sarcomas, adrenocortical tumours and also early-onset breast cancer. Any type of cancer may occur in this syndrome. The risk of neoplastic disease is 50% until 30 years, 90% until 70 years of age.

In our series of patients with this syndrome there are three women with the occurrence of a tumour in adult age. Their cases may resemble other cancer predisposing syndromes of breast and colorectal cancer. The evaluation of family history is very important for the diagnosis of individual cases.

Key words: Li-Fraumeni syndrome, germline mutation in *TP53* gene, hereditary predisposition to cancer, genetic testing of Li-Fraumeni syndrome

Úvod:

Li-Fraumeniho syndrom (LFS) byl klinicky popsán již v šedesátých letech (1). Jeho molekulární podstata, zárodečná mutace v genu *TP53* (17p13.1), byla popsána mnohem později. Tento gen je důležitým regulátorem buněčného cyklu a apoptózy. Protein p53 je transkripčním faktorem, který kontroluje přechod z G1 do S fáze cyklu. Gen *TP53* je somaticky mutován také ve velkém procentu sporadických nádorů. Dalším genem s možnou etiologickou souvislostí s LFS je *CHEK2* (22q12.1), kódující protein kinázu regulující buněčný cyklus. LFS je onemocněním geneticky heterogenní (2). Dosud bylo popsáno více jak dvě stě rodin s LFS a u asi dvou třetin byla nalezena zárodečná mutace v *TP53* genu (3).

Riziko nádorových onemocnění je vysoké, 50% nosičů mutace v genu *TP53* onemocní do 30 let věku, 90% do 70 let (4,5). Nádorová onemocnění se objevují často i u dětí. Nejčastějšími typy nádorů jsou sarkomy, leukémie, nádory CNS, adrenokortikální nádory a nádory prsu. Nosičství mutace v genu *TP53* však může znamenat riziko jakéhokoliv nádoru. Vzhledem ke spektru nádorů je preventivní sledování u LFS nesmírně komplikované.

Diagnostika nádoru LFS by měla být opřena o podrobnou rodinnou anamnézu. Při kombinaci typických nádorových onemocnění je evidentní syndrom při prvním zhodnocení. Ke genetickému vyšetření by měly být odeslány všechny rodiny, kde jsou splněna následující **klasická kritéria pro diagnostiku LFS** (6):

- V rodině se vyskytl proband se sarkomem diagnostikovaným do 45 let a
- Příbuzný 1. nebo 2. stupně s nádorovým onemocněním ve věku pod 45 let a
- Další příbuzný 1. nebo 2. stupně s jakýmkoliv nádorovým onemocněním před 45 rokem věku nebo sarkomem v jakémkoliv věku.

Indikační kritéria podle Chompretové (7) jsou volnější, v jednotlivých kategoriích se snižuje pravděpodobnost zachytu mutace *TP53*:

1. Proband s typickým nádorem pro LFS do věku 36 let (kromě leukémie) a nejméně jeden příbuzný 1. nebo 2. stupně s nádorem typickým do věku 46 let (kromě leukémie a kromě ca prsu, pokud proband měl ca prsu) nebo

2. Proband s několika primárními nádory z nichž alespoň dva jsou typické pro LFS (kromě leukémie) a s diagnózou prvního nádoru pod 36 let nebo

3. Proband s adrenokortikálním nádorem

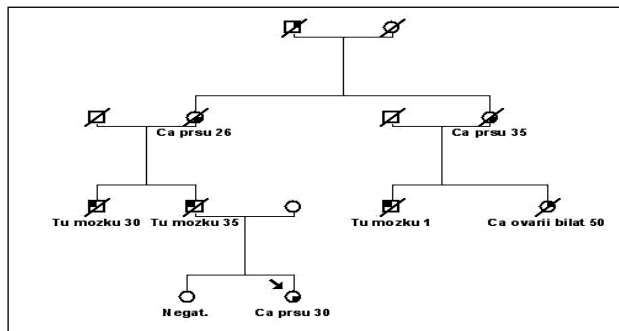
Genetické testování se u pacientů provádí v jakémkoliv věku a patří mezi rutinní vyšetření. Prediktivní testování zdravých příbuzných se provádí až od 18 let v plnoletosti. Jedná se o odborný konsensus z toho důvodu, že přestože se nádorová onemocnění mohou objevovat již v dětském věku, je velmi problematické zajistit dětem adekvátní prevenci a včasnou diagnostiku. Dále by testování mohlo vést i ke změnám postojů rodičů k potomkům ať již v pozitivním nebo negativním smyslu na základě znalosti výsledků prediktivního testování. V případě, že však rodiče vehementně a opakovaně vyžadují testování dětí, je možné se pro něj individuálně rozhodnout po podrobných konzultacích.

Představujeme tři pacientky, dvě s nádorem prsu a jednu s nádorem kolorekta v mladém věku, které dle rodinné anamnézy splňovaly kritéria k testování *TP53* genu, a u kterých bylo genetické testování provedeno.

Kasuistika 1.

Pacientka A.B. narozená v roce 1971 si v 29 letech nahmatala bulku v pravé axile, půl roku byla sledována mamologem, potom byla provedena extirpace v místě bydliště a zjištěna malignita. Již při telefonickém objednání ke genetickému vyšetření nám sdělila údaje rodinné anamnézy, které jednoznačně ukazovaly na možnost LFS. Otec probandky onemocněl ve věku 36 let nádorem CNS, glioblastoma multiforme, zemřel v 36 letech, jeho bratr zemřel ve 30 letech na astrocytom. Jejich matka zemřela v 26 letech na nádor prsu a její sestra zemřela v 35 letech také na nádor prsu. Syn této sestry zemřel na nádor mozku. Probandka byla objednána na genetické vyšetření a zároveň na podrobné klinické vyšetření, které odhalilo karcinom prsu vpravo, multicentrický. Byla nasazena neoadjuvantní chemoterapie, dále provedena mastektomie a pokračováno v adjuvantní chemoterapii. Histologickým vyšetřením byla potvrzena diagnóza multicentrického invazivního ductálního karcinomu, grade 3, SR negativní, T2, N1, M0. Byla testována na zárodečné mutace v genu *TP53* a Li-Fraumeni syndrom byl potvrzen. Byla zjištěna mutace v exonu 8, kodon 275 substituce TGT→TTT, měnící aminokyselinu cystein za fenylalanin. Sestra probandky byla prediktivně testována a není nosičkou mutace v *TP53* genu. Její riziko nádorů je stejné jako má ostatní populace a nemusí podstupovat speciální prevenci. U dcery probandky bylo doporučeno preventivní sledování na specializovaném pracovišti, přesto došlo k úmrtí v 7 letech na malignitu. V tomto případě byla evidentní rodinná anamnéza pro Li-Fraumeni syndrom a diagnóza i léčba nádoru mohla být úspěšena. Přínosem genetického testování byla skutečnost, že je klinikum známa genetická etiologie. Pacientka je dále sledována všemi dostupnými metodami, které by umožnily včasnější diagnostiku možných následných malignit. Další výhodou je zjištění, že sestra probandky nemá LFS a vysoké riziko nádorů, ani její děti jej nemohou zdědit.

Pacientka je nyní po profylaktické mastektomii druhého prsu a rekonstrukci obou prsů.



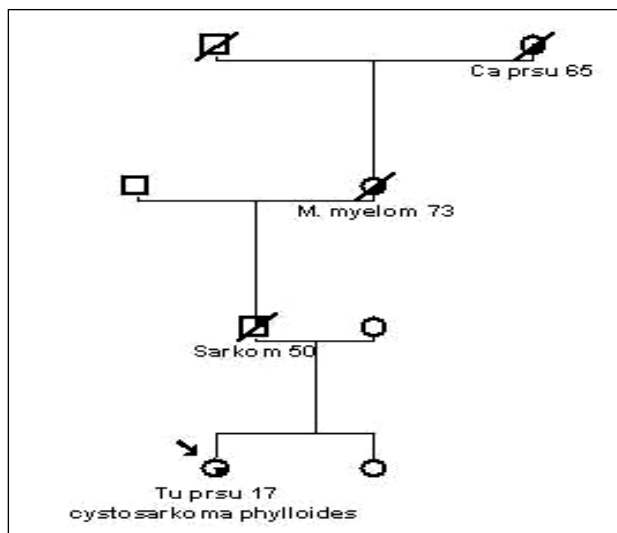
Obrázek 1.: Kasuistika 1. Rodokmen pacientky A.B. (1971) diagnostikované nádorem prsu ve 30 letech.

Kasuistika 2:

Probandka C.D. narozená 1977 byla diagnostikována nádorem prsu v 17 letech, histologicky se jednalo o objemný cys-tosarkoma phylloides malignum. Byla odeslána ke genetickému vyšetření, neboť její otec zemřel na sarkom pobřišnice v 51 letech, otec otce zemřel na maligní myelom v 73 letech a jeho matka zemřela na nádor prsu v 55 letech. Pro podezření na LFS proběhlo testování a byla prokázána mutace v genu *TP53*, exon 7, kodon 248, substituce CGG→TGG, která vede k záměně aminokyseliny argininu za tryptofan.

Její sestra dosud nebyla prediktivně testována, nyní je jí 18 let. Pacientka je v pořádku a je preventivně sledována v rizikové ambulanci. Byla informována o prediktivním testování od 18 let, u dětí o možnosti prenatalní diagnostiky, pokud by chtěla volit zdravý plod. V graviditě byla probandka odeslána svým gynekologem k prenatalní diagnostice. Probandka nás informovala o tomto úmyslu vzhledem k tomu, že potřebovala všechny informace o pracovišti, kde bude testování plodu probíhat. V každém případě však dítě chtěla a neuvažovala o přerušení gravidity. Proto jsme celou situaci opakovaně konzultovali a probandce bylo navrženo, že bude dítě testováno po narození a nikoliv během gravidity, kdy by mohlo dojít k ohrožení těhotenství. Zdravě narozený syn je v nynější době testován.

U této probandky bychom chtěli upozornit na onemocnění cys-tosarkoma phylloides, které bylo v tomto případě jedním z příznaků Li-Fraumeni syndromu, a kde rodinná anamnéza byla pro diagnostiku velice důležitá. Probandka je nyní sledována s ohledem na další možná rizika. Další testování v rodině bude probíhat.



Obrázek 2.: Kasuistika 2. Rodokmen pacientky C.D. (1977) v 17 letech diagnostikované nádorem prsu, cys-tosarkoma phylloides malignum.

Kasuistika 3:

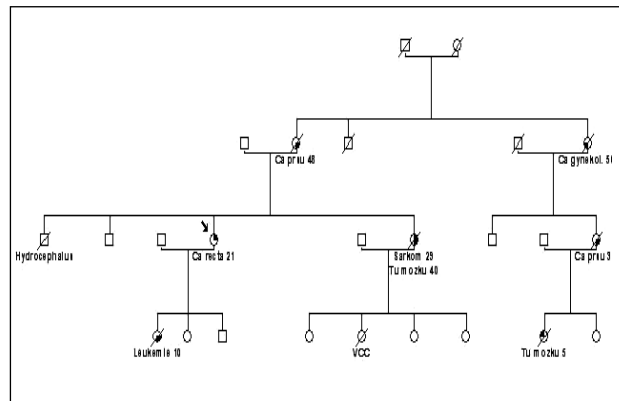
Pacientka E.F. narozená v roce 1959 byla v 21 letech operována pro karcinom konečníku. Podle rodinné anamnézy se však spíše mohlo jednat o Li-Fraumeni syndrom než o Lynchův syndrom. Dcera probandky zemřela v 11 letech na leukémii. Sestra probandky se v 29 letech léčila pro smíšený liposarkom. Matka probandky zemřela v 50 letech na nádor prsu, její sestra se léčila s gynekologickou malignitou, dcera této matčiny sestry se léčila v 33 letech na nádor prsu a zemřela na leukémii a její dcera zemřela na nádor mozku v 5 letech.

U probandky bylo provedeno genetické testování a byla zjištěna mutace v *TP53* genu, exon 7, 245GGC→AGC. Tato mutace byla také diagnostikována u její sestry léčené s liposarkomem a dále i u nevlastní sestry (společná matka), která je ročník 1951, je dosud zdravá a je po provedené hysterektomii s adne-xectomií s benigním nálezem.

Dětem probandky bylo doporučeno preventivní sledování na specializovaném pracovišti. Sestra léčená s liposarkomem zemřela ve věku 41 na pilocytický astrocytom. Testování některých zdravých dospělých příbuzných v riziku nebylo zatím provedeno pro jejich nezájem (bratr probandky, děti zdravé nevlastní sestry).

U této rodiny je jedna nosička mutace ve věku 52 let bez prokázané malignity. Její děti testování zatím odmítají.

Díky odhalení LFS v rodině bylo možno zaměřit preventivní sledování u probandky i jejích příbuzných jiným způsobem než při podezření na Lynchův syndrom. Přesto se však nepodařilo zabránit úmrtí sestry na nádor mozku.



Obrázek 3.: Kasuistika 3. Rodokmen pacientky E.F. (1959) v 21 letech diagnostikované nádorem konečníku.

Diskuse

Diagnóza Li-Fraumeni syndromu je závažným zjištěním, které ovlivňuje život mnoha příbuzných v rodině. Jelikož nádorová onemocnění ohrožují již v dětském věku a jelikož prevence některých typů nádorů je velmi problematická, je i přes diagnostiku tohoto syndromu a preventivní sledování na odborných pracovištích takřka nemožné některé typy nádorů odhalit včas.

Genetické poradenství probíhá i po ukončení testování a genetik vysvětluje rizika onemocnění testovaným osobám, předává jim i podrobnou zprávu s doporučením preventivních opatření.

U dětí je doporučováno sledování výšky a váhy, krevního tlaku, krevního obrazu s diferenciálem, biochemické a cytologické vyšetření moče, sledování hrudníku, plic, UZ břicha a kompletní neurologické vyšetření ročně.

U dospělých je vhodné doplnění i kožních kontrol, vyšetření per rektum, vyšetření stolice na okultní krvácení ročně. U žen je nutné preventivní sledování prsů od 20 let po půl ročních intervalech, vhodné je použití ultrazvuku a magnetické rezonance, gynekologické kontroly včetně transvaginálního ultra-

zvuku, u mužů vyšetřování varlat urologem jednou ročně. Každou rodinu a každého jedince je však nutné posuzovat individuálně s ohledem na onemocnění v rodině.

Je také důležité vysvětlit nosičům mutace, na jaké příznaky se zaměřit a v případě jejich objevení upozornit svého odborného lékaře, který je o syndromu plně informován. Je potřebné, aby si všímali bolestí hlavy, břicha i jiných bolestí, informovat o zvracení, poruchách vidění, objevení krve ve stolici nebo v moči, teploty bez přítomné infekce, dlouhotrvajícího kašle, nevolnosti a nechutenství, únavy, objevení bulek i nebolestivých. Je důležité upozornit na nutnost primární prevence, kterou mohou riziko malignity snížit, zakázat kouření, alkohol v omezeném množství, snížit obsah uzenin a tučných jídel ve stravě, omezit spotřebu tmavého masa, zvýšit obsah ovoce a zeleniny ve stravě na více jak 4 dávky denně, prevence nadměrného slunění. Je vhodné fyzicky nepřetěžovat, dostatek spánku a vitamínů. Adekvátní fyzická aktivita je však vhodná.

U dětí v riziku je vhodné zabezpečit preventivní péči na dětské onkologii nebo pediatrem plně informovaným o syndromu. Prediktivní testování dětí se nyní rutinně neprovádí, nicméně za určitých okolností je možná individuální domluva, pokud na tom rodiče velmi trvají. U dospělých je potřebné sledování v rizikových ambulancích onkologických center. Vzhledem k velké psychické zátěži je potřebné konzultovat při pravidelných kontrolách všechny problémy jak zdravotní tak sociální a pomoci rodinám je řešit, jak pomocí psychologů tak dalších odborníků.

Na uvedených příkladech rodin chceme upozornit na to, že analýza rodinné anamnézy může včas upozornit na možnost malignity u mladých jedinců a vést k urychlení diagnostiky nádoru a včasnéjší léčbě. U cystosarkoma phylloides je hodnocení rodinné anamnézy důležité, neboť tento nádor byl u naší 17 leté pacientky součástí Li-Fraumeni syndromu. Kolorektální karcinom, který není typickou malignitou pro LFS, může být mylně diagnostikován a testován pro suspektní Lynchův syndrom, pokud nebude brán ohled na podrobnou anamnézu nádorů v rodině.

Závěr

Jestliže přichází mladý pacient s nádorovým onemocněním, je důležité vždy myslet i na vzácný Li-Fraumeni syndrom. Předpokládáme, že jeho existence je v naší republice podhodnocena. I když je prevence leukémií, sarkomů i nádorů CNS problematická, myslíme si, že zavedení komplexní prevence s využitím nejnovějších metod (magnetická rezonance, PET) by mohlo přispět k včasnéjšímu nálezu nádorů a lepší možnosti léčby u nosičů mutace v genu *TP53*.

Práce podporována grantem MZ ČR MZO 00209805 a MZO 00064203.

Literatura:

1. Li FP, Fraumeni JF Jr. Soft tissue sarcomas, breast cancer, and other neoplasms: a familial syndrome? *Ann Intern Med* 1969; 71: 747-752
2. Krutílková V, Trková M, Kodet R et al. Syndrom Li-Fraumeni. *Čes.-slov. Pediat*. 2003;58:552-555
3. Sedláček Z, Kodet R, Poustka A, Goetz P. A database of germline p53 mutations in cancer-prone families. *Nucleic Acid Res*. 1998; 26:214-215

4. Varley JM, Evans DRG, Birch JM. Li-Fraumeni syndrome-a molecular and clinical review. *Br J Cancer*. 1977; 76: 1-14
5. Chompret A. The Li-Fraumeni syndrome. *Biochimie*. 2002; 84: 75-82
6. Li FP, Fraumeni JF, Mulvihill JJ et al. A cancer family syndrome in twenty-four kindreds. *Cancer Res*. 1988; 48: 5358-5362
7. Chompret A, Abel A, Stoppa-Lyonnet D et al. Sensitivity and predictive value of criteria for p53 germline mutation screening. *J Med Genet*. 2001; 38:43-47

ALGORITMUS PREVENTIVNÍCH VYŠETŘENÍ U GENETICKY PODMÍNĚNÝCH MALIGNIT

ALGORITHM OF PREVENTIVE CARE IN GENETICALLY DETERMINED MALIGNANCIES

PETRÁKOVÁ K, PALÁCOVÁ M, FORETOVÁ L, KALÁBOVÁ R.

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO

Souhrn

Algoritmus screeningových vyšetření pacientů s geneticky podmíněným vyšším rizikem malignit se liší od algoritmu vyšetření běžné populace. Největší skupinu takto sledovaných pacientů tvoří pacienti s hereditárním syndromem nádorů prsu a ovária. Profylaktická mastektomie a adnexektomie za účelem minimalizace rizika je řešením pouze pro část pacientek. Zbytku lze nabídnout pravidelné vyšetření v krátkých časových intervalech pomocí mamografie, ultrazvuku, magnetické rezonance a klinického vyšetření. Podobně je tomu u pacientů s dalšími hereditárními syndromy s vyšším rizikem karcinomu prsu jako Cowdenův syndrom a Li-Fraumeni syndrom. U pacientů s hereditárními syndromy s vyšším rizikem kolorektálního karcinomu (Familiární adenomatózní polypóza, Lynchův syndrom) jsou doporučovány v rámci screeningu pravidelná vyšetření zažívacího traktu zpravidla už od mladého věku. V některých případech by mohla být řešením primární prevence, tedy profylaktické operace: profylaktická subkutánní mastektomie, adnexektomie nebo subtotální kolektomie. Ačkoliv profylaktické operace významně redukuje riziko malignit, jsou do určité míry mutilující.

Klíčová slova: Nosičky genetické mutace, screening, profylaktický chirurgický zákrok

Summary

Surveillance recommendations to high risk patients with inherited malignancy syndrome are different from generally recommended screening algorithm.

Among these high risk patients, the largest number are women with breast and ovarian cancer hereditary syndrome (*BRCA1*, 2 mutation carriers). To minimize the risk of developing cancer, a number of these patients undergo prophylactic mastectomy and bilateral salpingo-oophorectomy. The women who do not desire prophylactic surgery are offered more intensive surveillance programme – clinical examination, mammography, ultrasound, magnetic resonance imaging at regular intervals.

A similar surveillance regimen is recommended to patients with other hereditary syndromes, who are also at higher risk of developing breast cancer – Cowden syndrome and Li-Fraumeni syndrome.

The surveillance of patients at high risk of colorectal cancer within a recognized inherited cancer syndrome (familial adenomatous polyposis, Lynch syndrome) includes regular GIT examinations, beginning often at early ages. Prophylactic surgery (prophylactic bilateral subcutaneous mastectomy, adnexectomy or subtotal colectomy) appears to be the only primary prevention approach available to date. The lifetime risk of cancer development is significantly reduced in patients undergoing prophylactic surgery. However, there are disadvantages to this solution including serious physical and psychological impairment.

Key words: Genetic mutation carriers, surveillance programme, prophylactic surgery

I. Hereditární syndromy s vyšším rizikem karcinomu prsu

Hereditární syndrom nádorů prsu a ovária

Odhadem 5-10% nádorů prsu nebo ovária může být dědičného původu. Asi 80% případů je způsobeno zárodečnou mutací v genech *BRCA1* (17q21) nebo *BRCA2* (13q12-13). V ostatních případech evidentní hereditární dispozice se může jednat o mutace v jiných genech (*TP53*, *PTEN*, *LKB1*, *MLH1*, *MSH2*, *ATM* aj.). Klinicky se mohou mutace v genech *BRCA1* nebo *BRCA2* projevit jako hereditární syndrom nádorů prsu, nádorů prsu i ovária a pouze nádorů ovária.

Ideální pro ženy s mutací v genu *BRCA1*, 2 je dosáhnout ekvivalentní doby života ve srovnání s běžnou populací. Bohužel v současné době neexistuje léčebná strategie, kterou by bylo riziko onemocnění maligním nádorem prsu či vaječníku anu-

lováno. Ačkoliv provedení profylaktické mastektomie je vysoce efektivní v redukci vzniku karcinomu prsu, přesto není i přes dobré kosmetické efekty akceptovatelná pro každou ženu. Profylaktická oboustranná adnexektomie je výkon s menším počtem komplikací, pro ženy méně traumatizující a lépe akceptovaný. Ženy s mutací v genu *BRCA1* a *BRCA2* mají 85 % celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu. Největší riziko je pro ženy s mutací v genu *BRCA1* v 5. dekádě, pro ženy s mutací v genu *BRCA2* o něco později – v 6. dekádě. Jejich riziko zůstává signifikantně vyšší ve srovnání s běžnou ženskou populací minimálně do 60 let u žen s mutací *BRCA1*, do 70 let u žen s mutací *BRCA2*. Vzhledem k vysoké incidenci karcinomu prsu je nutné sledování žen jako alternativa k profylaktické mastektomii s cílem diagnostikovat karcinom prsu v časném stadiu, kdy je mortalita těchto pacientek menší jak 10% (tj.

u pacientek s velikostí tumoru menší jak 1 cm, s negativními axilárními uzlinami – pT1a,bN0M0(1)-2).

Údaje týkající se sledování žen s hereditárním syndromem nádorů prsu a ovária se v literatuře liší. Většina evropských pracovišť stejně jako NCCN se shoduje v samovyšetřování prsou, které by měla žena realizovat 1x měsíčně od 18–20 let. Dále panuje taktéž shoda v klinickém vyšetření (vyšetření lékařem, odbornou sestrou), které by měla žena absolvovat v šestiměsíčních intervalech od 20 let. Není shoda v doporučení zahájení mamografického screeningu. Věk se různí podle pracovišť od 25 do 35 let (3-4). Některá indikují mamografii 5 nebo 10 let před vznikem karcinomu prsu u nejmladší ženy v rodině.

Neexistuje algoritmus pro sledování mužů s prokázanou mutací v těchto genech. Popisované celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu u mužů je uváděno kolem 6% u mutace v genu *BRCA 2*, pro mutaci v genu *BRCA 1* je ještě menší, dostatečné by mělo být samovyšetřování a klinické vyšetření lékařem, popř. doplnění mamografie při palpačním nálezu. Role mamografie u mužů s vysokým rizikem není zatím známá.

Metaanalýza 8 randomizovaných studií týkajících se mamografického screeningu prokázala snížení mortality o 15-20% u žen ve věkové skupině 40-49 let a redukci o 20-25% pro ženy starší 50 let. V několika retrospektivních studiích byla prokázána nižší senzitivita mamografie u žen s mutací v genu *BRCA 1* a *BRCA 2*. Ve studiích asijských žen byl hmatný karcinom prsu diagnostikován pomocí mamografie u 46% žen s mutací v genu *BRCA 1* ve srovnání s 95% pacientkami se sporadickým karcinomem. Podobně u skupiny Ashkenazi žen mladších 50 let s karcinomem prsu menším jak 2 cm bylo pouze 25% karcinomů diagnostikováno na mamografii u žen s mutací ve srovnání se 77% žen se sporadickým výskytem karcinomu prsu. Existuje pravděpodobnost, že opakovaná expozice radiaci v důsledku opakovaných mamografií u mladých žen může zvýšit riziko vzniku karcinomu prsu u žen nosiček. U pacientek s lymfomy bylo prokázáno zvýšené riziko pro vznik karcinomu prsu u těch, kde byla prsní žláza vystavena radiaci (radioterapii) ve věku do 30 let (5). Lze předpokládat, že nosičky mutace v genech *BRCA 1* a *BRCA 2* mají větší riziko vzniku radiací indukované karcinogeneze v jakémkoliv věku vzhledem k roli, kterou hrají oba geny v reparaci DNA zlomů vzniklých radiací (6). Není ale prokázána větší toxicita radioterapie u žen nosiček ve srovnání se ženami se sporadickým karcinomem prsu. Není taktéž prokázáno vyšší riziko vzniku kontralaterálního karcinomu u nosiček v důsledku možnosti rozptýlení radiačního záření ve srovnání se skupinou nosiček, kde byla provedena radikální mastektomie bez následné radioterapie.

Brekemans a spol. informuje o skupině 128 nosiček mutace *BRCA 1* a *BRCA 2*, kde bylo diagnostikováno při mediánu sledování 3 let 9 karcinomů prsu: 5 s postižením axilárních uzlin (56%), 7 tumorů bylo větších jak 1 cm (78%) a 4 (44%) byly zachyceny mimo pravidelné plánované mamografické kontroly (7). Další práce Scheuera a kol. sledovala 164 žen nosiček 2 roky, část žen absolvovala pouze standardní sledování, u části z nich byla provedena i sonografie (UZ) nebo magnetická rezonance (MR); z 10 karcinomů byly 2 (20%) již s postižením axilárních uzlin, 4 (40%) byly větší jak 1 cm a 5 (50%) bylo diagnostikováno mezi pravidelnými mamografickými kontrolami, 4 byly zachyceny při pravidelném samovyšetřování (8).

Uvedené výsledky nejsou zcela povzbudivé, proto je potřeba buď zvýšit frekvenci klinického vyšetření po 3 měsících a mamografii 1x za 6 měsíců. Bohužel obě navrhované varianty mají své limity – limitovanou senzitivitu klinického vyšetření u tumorů menších jak 1 cm a zvýšené riziko radiace při provádění MG. Další možností je zvolit alternativní modalitu – ultrazvuk nebo MR. Ultrazvuk je často využívanou metodou k určení abnormalit nalezenných na MG nebo v rámci klinického vyšetření. Výhodou je jeho bezpečnost, nevýhodou menší senzitivita.

Magnetická rezonance (MR) je další možnou modalitou s vysokou senzitivitou (94%) v diagnostice karcinomu prsu (9). Kvalita MR není závislá na denzitě žlázy, jeví se být bezpečnou. Byly publikovány práce, které informují o výsledcích sledo-

vání při jeho rozšíření o MR a UZ. Karcinomy byly detekovány převážně do velikosti 1,5 cm a většinou nebyly postiženy axilární uzliny. Všechny nádory byly detekovány na MR. Ženy s mutací *BRCA 1* mají celoživotní riziko 40% pro vznik karcinomu ovaria narůstající od 30 let věku (10). Pro ženy s mutací *BRCA 2* se celoživotní riziko pro vznik karcinomu ovaria pohybuje kolem 20%, vzácný je výskyt karcinomu ovaria u žen mladších 40 let a nejčastější výskyt je u žen nad 50 let věku. Stejně jako pro karcinom prsu tak i tady je doporučeno sledování žen na základě transvaginální sonografie a odběru Ca 125 2x ročně, zahájení je většinou doporučováno kolem 30-35 let.

Algoritmus sledování žen s hereditárním syndromem nádorů prsu a ovária v MOU.

Vyšetření	Od věku	Frekvence
Samovyšetřování prsů	21	1 × měsíčně
Klinické vyšetření prsů	21	1 × 6 měsíců
Ultrazvuk prsů	21	1 × 6 měsíců
Mamografie	30	1 × rok
MRI prsů	21	1 × rok
UZ břicha + TVUZ	21	1 × 6-12 měsíců (1)
Nádorové markery CA 125, CEA, CA 15.3	21	1 × rok (1)
Hemokult	45	1 × rok
Kolonoskopie	45	1 × 3 roky
Kožní vyšetření	21	1 × rok

1) u žen do 35 let věku a po adnexektomii 1 × ročně, u žen po 35 letech věku bez adnexektomie 1 × 6 měsíců

Další aspekty prevence u pacientek s *BRCA 1* a *BRCA 2* mutací.

Profylaktická adnexektomie redukuje riziko vzniku ovariálního karcinomu u nosiček mutace *BRCA 1* a *BRCA 2* až o 85%. Dalším jejím přínosem je redukce rizika vzniku karcinomu prsu o 68% v důsledku poklesu hladin estradiolu. Následná hormonální substituční léčba nesnižuje benefit adnexektomie. Tamoxifen je jediný lék, který je schválen k chemoprevenci karcinomu prsu. Podle studie NSABP-P-1 redukuje riziko vzniku karcinomu prsu s pozitivními steroidními receptory u pacientek s mutací *BRCA 2* o 62%, ale bez redukce rizika u pacientek s mutací *BRCA 1*. Předpokládaným důvodem je vyšší výskyt karcinomů prsu s negativními steroidními receptory u pacientek s mutací *BRCA 2*. Podle práce publikované v Lancetu 2000 prokázal tamoxifen redukci rizika vzniku karcinomu prsu o 50% u pacientek s mutací *BRCA 1* i mutací *BRCA 2* (1).

Vliv kontraceptiv zůstává nejasný. Některé studie prokázaly jejich protektivní vliv - redukci rizika vzniku ovariálního karcinomu o 50%, jiné prokázaly vyšší riziko vzniku karcinomu prsu u nosiček, které začaly užívat kontraceptiva před rokem 1975 a před 30 rokem života (RR = 1,3) (12,13).

Na základě těchto nejednoznačných informací pacientkám s mutací *BRCA 1* a *BRCA 2* standardně nenabízíme preventivní užívání Tamoxifenu. Užívání antikoncepce ponecháváme na rozhodnutí pacientky. V zásadě nevidíme kontraindikace k jejímu užívání.

II. Další hereditární syndromy s vyšším rizikem karcinomu prsu

Li-Fraumeni syndrom.

Asi u 50–70% rodin se syndromem Li-Fraumeniho mají detekovatelnou mutaci v genu *TP53* (17p13.1). Nejčastěji pozorovanými malignitami jsou sarkomy měkkých tkání, osteosarkomy, leukémie, mozkové nádory, adrenokortikální nádory a karcinom prsu v mladším věku (až 73% před 45 rokem života, z toho 25% žen má bilaterální karcinom). V korelaci s těmito fakty doporučujeme u nosičů mutace pravidelné klinické vyšetření, neurologické vyšetření, krevní obraz, diferenciální krevní obraz jednou ročně od 21 let a došetření všech symptomů. U nosiček mutace navíc pravidelné

vyšetření prsou pomocí ultrazvuku, mamografie a magnetické rezonance. Algoritmus vyšetření individualizujeme v souladu s výskytem malignit v rodině.

Cowdenův syndrom

Zárodečná mutace v genu *PTEN* (10q23.31) způsobuje vzácné autosomálně dominantní dědičné riziko vzniku karcinomu štítné žlázy především folikulárního typu a karcinomu prsu v mladém věku. Současně je u nosičů vyšší výskyt hamartomů oblasti sliznic a kůže, kožních změn jako jsou faciální trichilemomy, papilomatosní papuly a akirální keratózy. Asi u 50% může být přítomna makrocefalie a mentální subnormalita. Vyšší je i riziko nádorů kolorekta, ledvin, ovária, endometria a melanomu. U žen jsou často pozorovány benigní anomálie v prsu charakteru duktální hyperplazie, intraduktálních papilomatoz, adenoz, fibroadenomu a fibrocystických změn. U nosiček mutace proto doporučujeme sebevyšetřování prsou jednou měsíčně od 20 let. Navíc vyšetření pomocí zobrazovacích metod (mamografie, ultrazvuk nebo magnetická rezonance), klinické vyšetření, včetně cytologického vyšetření moče a ultrazvuku štítné žlázy a kožního vyšetření jednou ročně. Od věku 30 let hemokult, gynekologické vyšetření včetně endometriální biopsie u premenopauzálních žen, vaginální ultrazvuk u postmenopauzálních žen a ultrazvuk břicha jednou ročně. Kolonoskopické vyšetření jednou za dva roky.

III. Další syndromy s rizikem vzniku kolorektálního karcinomu

Familiární adenomatózní polypóza

Autosomálně dominantně dědičná dispozice ke střevní mnohočetné polypóze je způsobena ve většině případů mutací v tumor supresorovém genu *APC* (5q21-q22). Zodpovídá asi za 1% kolorektálních karcinomů. Mnohočetné polypy se mohou objevovat již od dětství v distální oblasti tlustého střeva, mohou se však objevit i v žaludku a tenkém střevu. Existují rodiny s velice těžkou formou polypózy, ale i rodiny s atenuovanou formou. Zvýšené riziko je uváděno i pro výskyt nádorů štítnice, sarkomů a nádorů mozku.

U nosičů doporučujeme pravidelné vyšetření zažívacího traktu pomocí sigmoidoskopie v ročních intervalech od 10 let, pokud se objeví první polypy pomocí kolonoskopie, dále je potřebné pravidelné vyšetření žaludku a dvanáctníku, kontroly štítnice a kožní kontroly. Preventivní subtotální kolektomie s ileorektální anastomózou je někdy nezbytným operačním zákrokem.

Hereditární nepolypózní kolorektální karcinom, Lynchův syndrom

Dalším častým dědičným syndromem s monogenní dědičností je vrozená dispozice ke kolorektálnímu karcinomu. Hlavní příčinou jsou zárodečné mutace v DNA reparačních genech, pře-

devším v *MLH1* (3p21) a *MSH2* (2p16) genu. Klinicky se projevuje až 75% rizikem nádorů kolorekta, mnohdy metachronních nebo synchronních, 40% rizikem nádorů dělohy, vyšším rizikem i dalších nádorů, jako například nádorů ovária, žaludku, tenkého střeva, močového a hepatobiliárního ústrojí. S primární a sekundární prevencí je nutné začít již kolem 20 let věku.

Zásady sekundární prevence:

Kolonoskopické vyšetření po 1-2 letých intervalech od 20-25 let a odstranění všech polypů nebo adenomů
Každoročně Hemokult test
Gastroduodenoskopie od 30 let v 1-2 letých intervalech
Gynekologické vyšetření včetně vaginálního ultrazvuku nebo endometriální biopsie každoročně od 25 let
Další vhodná vyšetření: mamologické včetně UZ, později mamogramu, UZ vyšetření břišních orgánů, kožní kontroly, kontroly moče, neurologické kontroly

V primární prevenci je vhodné zdůraznit zákaz kouření, alkoholu, strava s omezením tuků, kořeněných jídel, omezení spotřeby masa, vyřadit tmavé maso a uzeniny, dostatek vlákniny ve stravě, 4-5 dávek ovoce a zeleniny denně. Je nutné upravit životosprávu a omezit stres, zvýšit fyzickou aktivitu, omezit expozici slunečnímu záření.

Peutz-Jeghersův syndrom

Je charakterizován mnohočetným výskytem hamartozních polypů v zažívacím traktu a mukokutánních melaninových depozitů buklální sliznici, rtech a prstech. Celoživotní riziko gastrointestinálních a extraintestinálních malignit ve věku 65 let je 93%. K nejčastěji pozorovaným gastrointestinálním malignitám patří kolorektální karcinom (celoživotní riziko 40%), karcinom pankreatu (celoživotní riziko 35%) a karcinom žaludku (celoživotní riziko 30%). K nejčastějším extraintestinálním malignitám patří karcinom prsu (celoživotní riziko 40%) a ovariální karcinom (celoživotní riziko 20%).

U nosičů doporučujeme pravidelné vyšetření gastrointestinálního traktu (gastrofibroskopie, hemokult, kolonoskopie, ultrazvuk epigastria), klinické vyšetření, screenigové vyšetření prsou pomocí mamografie, ultrazvuku a magnetické rezonance, ultrazvukové vyšetření břicha a gynekologické vyšetření včetně vaginálního ultrazvuku (14).

Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR NR 8270-3/2005, NR 8022-3 a MZO 00209805

Literatura:

- Rosen PP, Groshen S, Kinne DW, et al: Factors influencing prognosis in node-negative carcinomas: Analysis of 767 T1N0M0/T2N0M0 patients with long-term follow up. J Clin Oncol 11: 2090-2100,1993
- Leitner SP, Swern AS, Weingerber D, et al: Predictors of recurrence for patients with small(one centimeter or less) localized breast cancer(T1a,bN0M0). Cancer 26:2266-2274,1995
- Burke W, Daly M, Garber J, et al: Recommendations for follow-up care of individuals with an inherited predisposition to cancer: II. BRCA1 and BRCA2. J Am Med Assoc 277: 997-1003,1997
- Eisinger F, Alby N, Bremond A, et al: Recommendations for medical management of hereditary breast and ovarian cancer Ann Oncol 9:939-950,1998
- Goss G, Sierra S: Current perspectives on radiation-induced breast cancer. J Clin Oncol 16:338-347,1998
- Chen J-J, Silver D, Cantor S, et al: BRCA1, BRCA 2 and Rad 51 operate in a common DNA damage response pathway. Cancer Res 59:1756s,1999(supl)
- Brekelnans CT, Seynaeve C, Bartels CC, et al: Effectiveness of breast cancer surveillance in BRCA1/2 gene mutation carriers and women with high familial risk. J Clin Oncol 19:924-930,2001
- Scheuer L, Kauff N, Robson M, et al: Outcome of preventive surgery and screening for breast and ovarian cancer in BRCA mutation carriers. J Clin Oncol 20:1260-1268,2002
- Stoutjeskijk MJ, Boetes C, Jager GJ, et al: magnetic resonance imaging and mammography in women with a hereditary risk of breast cancer. J Natl Cancer Inst 93:1095-1102,2001
- Narod SA, Boyd J, et al: Current understanding of the epidemiology and clinical implications of BRCA1 and BRCA2 mutations for ovarian cancer. Curr Opin Obstet Gynecol 14:19-65,2002
- Pichert G, Bolliger B, Buser K. Evidence-based management options for women at increased breast/ovarian cancer risk. Annals of Oncology 14: 9-19, 2003.
- Rosenberg I, Palmer JR, Zauber A, et al. A case-control study of oral contraceptive use and invasive epithelial ovarian cancer Am J Epidemiol 1994;139: 654-661.
- Narod SA, Dube MP, Klijn J, et al. Oral contraceptives and the risk of breast cancer in BRCA 1and BRCA 2 mutation carriers.
- Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne K. Diseases of the breast

ÚLOHA MAGNETICKÉ REZONANCE V MAMOLOGICKÉ PREVENCII U ŽEN S DĚDIČNÝM RIZIKEM NÁDORU PRSU.

BREAST MAGNETIC RESONANCE IMAGING IN SURVEILLANCE OF WOMEN AT HIGH RISK FOR BREAST CANCER.

M. SCHNEIDEROVÁ, H. BARTOŇKOVÁ

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO, ODDĚLENÍ RADIOLOGIE
MASARYK MEMORIAL CANCER INSTITUTE BRNO, RADIOLOGY DEPARTMENT

Souhrn

Genetické testování umožňuje vyhledávat ženy s vysokým rizikem karcinomu prsu. Pro tyto ženy je nutný speciální preventivní program. Ženy je nutné sledovat od mladého věku, kdy však výpovědní hodnota (sensitivita) mamografie výrazně klesá s vyšší denzitou žlázy mladých premenopauzálních žen (40-50% žen mladších 50 let). Studie ukazují, že jen mamografický (nebo mamografický a sonografický) program není dostatečně účinný. Účinnost se však zvyšuje se zařazením magnetické rezonance (MR) do programu, která je schopna detekovat léze mamograficky a sonograficky němé (okultní). MR se stává vedoucí metodou preventivních programů.

Klíčová slova: dědičné vysoké riziko karcinomu prsu, preventivní program, magnetická rezonance

Summary

The recent isolation of breast cancer predisposing genes allows the identification of women at high risk for breast cancer. Careful and intensive surveillance for this women is recommended. Although it is recommended to start at a younger age, the sensitivity of the mammography decreases when breast tissue is dense (40-50% women under 50 years). The current studies made conclusion that mammography screening is not sufficient to ensure an early diagnosis of hereditary breast cancer. If MRI is integrated in surveillance program, early diagnosis seems to be possible. Breast MRI is superior to mammography and sonography for screening of women at high risk for breast cancer, as it can advance the detection of cancer still occult at mammography and sonography.

Key words: high risk for hereditary breast cancer, surveillance, breast magnetic resonance imaging

Úvod.

S novými poznatky o možné dědičné povaze zhoubných nádorů a zavedením genetického testování do rutinní praxe se rozrůstá skupina žen s prokázaným dědičným rizikem karcinomu prsu. Spolu se závažnou informací o existenci vysokého rizika vzniku maligního onemocnění a případném nosičství genetické mutace je nutné ženě nabídnout i možnost účinného preventivního (dispenzárního) sledování.

Celoplošný mamografický (MG) screening, který v ČR úspěšně probíhá od září 2002, je velkým přínosem ve vyhledávání časných stádií karcinomu prsu. Jeho cílovou skupinou jsou však ženy s běžným rizikem (asi 6–7%). Pro skupinu vysoce rizikových žen není optimální – tak jak je nastaven z něj tyto ženy neprofitují – jak stanovením věkové hranice, tak intervaly kontrol i výběrem diagnostických metod. Je nutný speciální program prevence, který respektuje všechna specifika vysoce rizikových žen – věk ve vztahu k celkové době sledování i ve vztahu k charakteru žlázy a charakteru tumorů.

Hereditární nádory představují asi 5–10% všech nádorových onemocnění. V souvislosti s karcinomem mléčné žlázy jsou spojovány hlavně mutace genů BRCA 1 a BRCA 2. Předpokládá se, že podmiňují asi 60% všech hereditárních nádorů prsu, zbytek tvoří jiné mutace, známé i zatím neznámé. Nosičství mutace genu BRCA 1 je spojeno s 60-85% rizikem vzniku karcinomu prsu a 20–40% rizikem vzniku karcinomu ovaria. Mutace genu BRCA 2 pak s rizikem 45–60% vzniku karcinomu prsu a 10–20% vzniku karcinomu ovaria. (Riziko běžné ženské populace pro vznik

karcinomu prsu je asi 6–7 %.) Riziko je celoživotní, od 25 do 75 let. Asi 50 % žen onemocní před 50. rokem věku, tedy jako premenopauzální. U žen s již diagnostikovaným karcinomem prsu je riziko druhostranného nádoru 30-50 %, do 5 let.

Do skupiny vysoce rizikových žen se neřadí jen ženy s prokázanou mutací genu. Některé ženy nelze testovat (nemocná příbuzná zemřela), některé testování odmítnou (ale chtějí být sledované!), ženy negativně testované (možná mutace jiného genu – netestovaného, neznámého). Ženy jsou proto posuzovány podle rodinné a osobní anamnézy a míra rizika stanovena dle speciálních tabulek (Clausovy tabulky).

Retrospektivní analýza.

S cílem blíže poznat charakteristiky nádorů rizikových žen a pro optimální nastavení preventivního programu byla provedena retrospektivní analýza 2 souborů vysoce rizikových žen s diagnózou karcinomu prsu (C50):

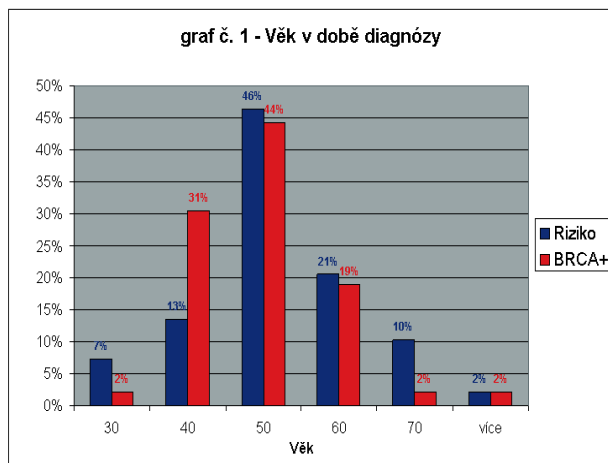
(A) soubor: 95 žen s dg C50, nosiček mutace BRCA 1 a 2, (60 žen BRCA 1, 35 žen BRCA 2).

(B) soubor: 97 žen s dg C50, negativně testovaných, z vysoce rizikových rodin

43 žen kriterium I. - 3 a více příbuzných s Ca prsu / ovaria v jakémkoli věku nebo alespoň 2 příbuzní, jeden z nich s dg C50 bilat. nebo Ca prsu i Ca ovaria.

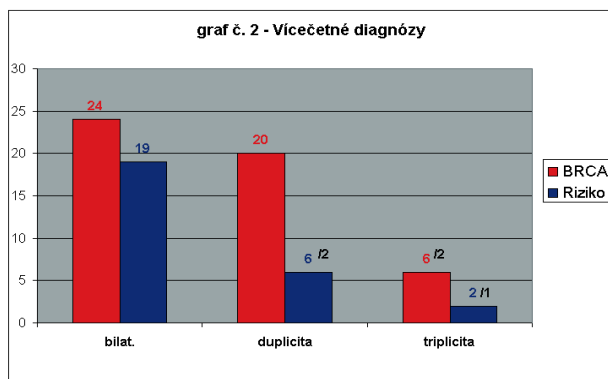
54 žen kriterium II. - 2 příbuzní s Ca prsu / ovaria, alespoň jeden diagnostikovaný před 50. rokem věku.

(C) soubor: 105 žen s dg C50, nerizikových, screeningových – pro srovnání, kde vhodné.

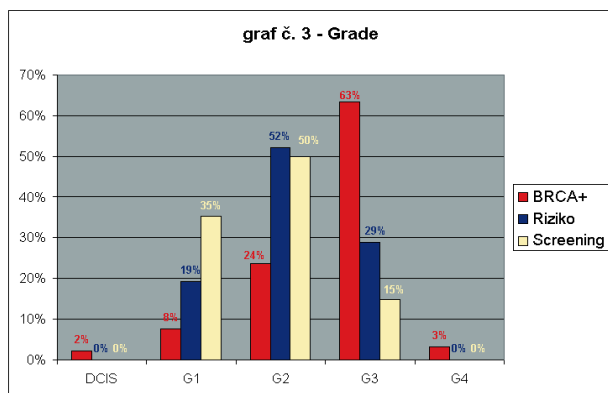


Výsledky.

Věk (graf č.1). Věk pacientek v době diagnózy byl zřetelně nižší než u běžné populace. Před 40. rokem věku onemocnělo 33% ve skupině nosiček BRCA mutace a 20% ve skupině rizikových žen. Celkově před 50. rokem věku onemocnělo 77% nosiček mutace a 66% rizikových žen. Z běžného screeningového programu cíleného pro věkovou skupinu 45-69 let tyto ženy neprofitují. Mnohé onemocní dříve, než by přišly k prvnímu screeningovému vyšetření. Vzhledem k mladšímu věku v době diagnózy a celoživotnímu riziku (25-75 let) musí být program dlouhodobý, v extrémních případech od 20-25 let. Obecně je přijímáno pravidlo, že minimálně 5 let před věkem diagnózy nejmladší příbuzné.

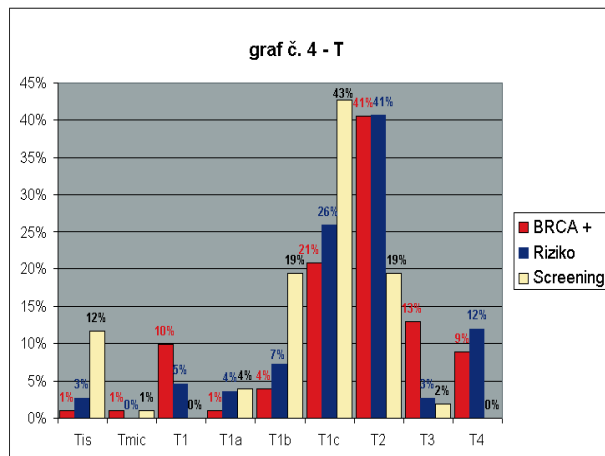


Vícečetnost maligních diagnóz (graf č. 2) je nápadná, často bilateralita karcinomu prsu a duplicita i triplicita maligních diagnóz. Vyšší ve skupině nosiček BRCA mutace (39%) proti 24% ve skupině rizikových žen.

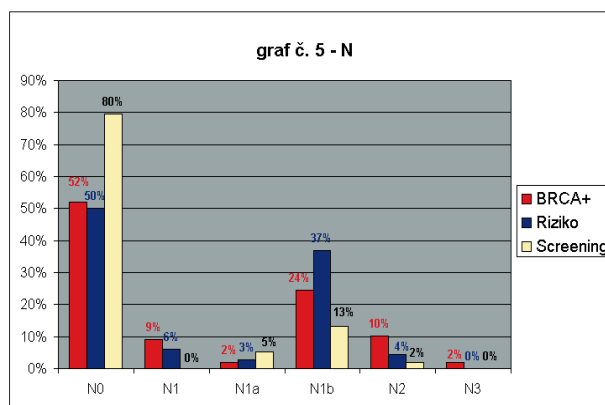


Grade (graf č. 3). Převažuje vysoký grade, G3 v 63% u BRCA souboru. Grade vyšší než G1 byl celkově u nosiček mutace v 90%, u rizikové skupiny v 81% proti 65% u screeningu (kde

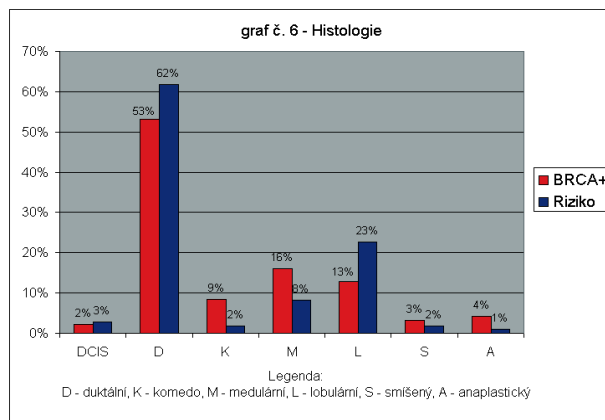
50% tvořil G2). G1 ve screening. souboru tvořil 35% proti 8% u BRCA a 19% u rizikových žen.



Velikost Tu (graf č. 4). 41% u obou souborů tvořilo T2, proti 19% u screeningu. Celkově velikost T2 a větší (T2+T3+T4) činila 63% u BRCA a 56% u rizika, proti 21% ve screeningu. Čísla odrážejí nejen rychle rostoucí tumory vysokého gradu, ale samozřejmě i fakt, že jde o retrospektivní hodnocení žen, které při absenci preventivního programu přichází často jako symptomatické. Srovnáním se screening. skupinou, kde T1 tvořilo 79% proti 38% u BRCA a 45% u rizikové skupiny jasně vyplývá účinnost preventivních programů a nutnost jeho vytvoření i pro skupinu vysoce rizikových žen.

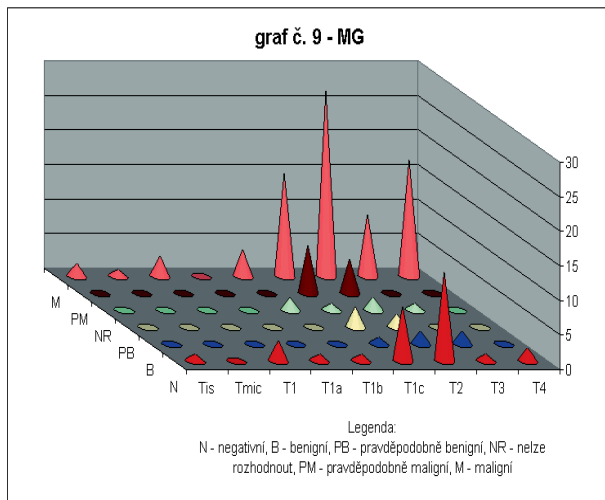
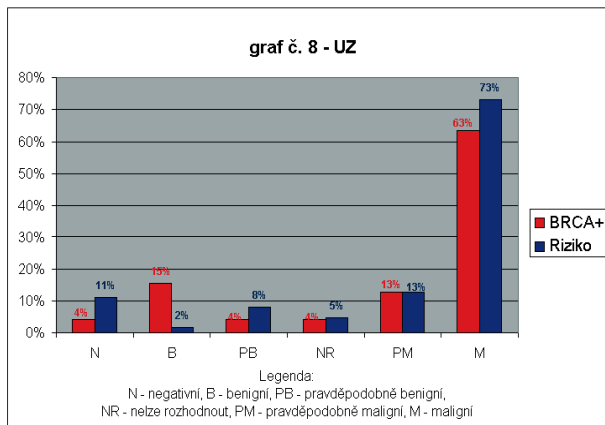
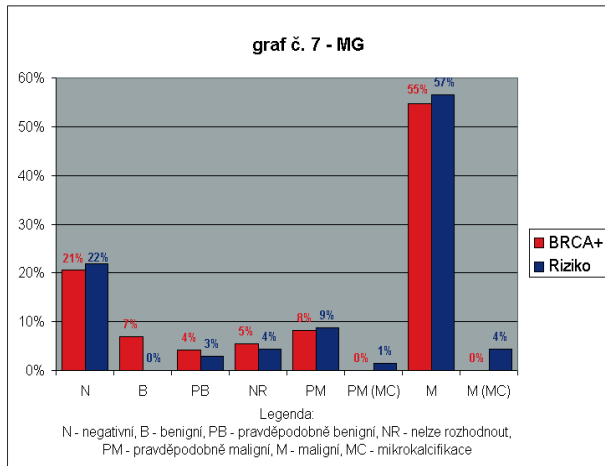


Positivita uzlin (graf č. 5). Snad ještě závažnější než velikost primárního tumoru je stav axilárních uzlin – s jejich pozitivitou se mění klinické stadium a je ovlivněna celková prognóza onemocnění. N+ bylo ve 48% u BRCA nosiček a 50% u rizikové skupiny, ale jen ve 20% ve screeningu.



Histologie (graf č. 6). Není překvapením, že převažoval invazivní duktální karcinom. Poměrně často se však vyskytoval invazivní lobulární karcinom (13% BRCA, 23% riziko). Nápadně často jinak poměrně vzácný medulární karcinom (16% BRCA, 8% riziko). Jeho výskyt se udává od 2-10%, dle nastavení kritérií, obecná shoda je na 3-5% výskytu v normální populaci.

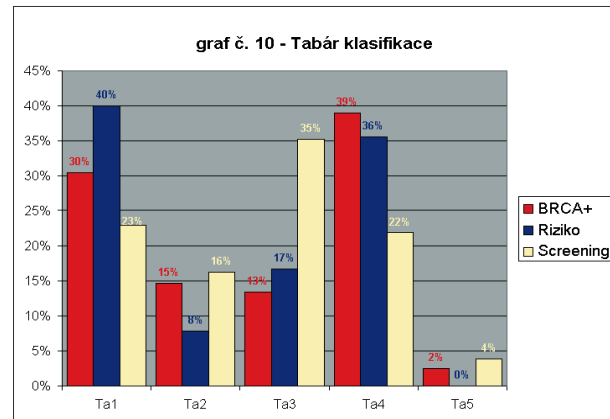
Pro optimální nastavení diagnostického algoritmu je nejzákladnější informací jak si s těmito převážně velkými, rychle rostoucími a mnohdy i atypickými tumory poradily vyšetřovací metody – MG a UZ (MR nebyla ani v jednom případě užita). **Grafy č. 7, 8, a 9.**



Mamografie (MG) (graf č. 7). Výsledek maligní a pravděpodobně maligní byl v 63 % u BRCA a v 71 % u rizikové skupiny.

ny. Ve 20 % (21% BRCA, 22% riziko) však byl výsledek negativní – žádné známky malignity. Jako negativní nebyly označeny tumory nejmenší, jak by se nejspíše předpokládalo, ale většinu tvořily stadia T1c a T2, v několika případech i T3 a T4! (Graf č. 9.)

Ultrasonografie (UZ) (graf č. 8) jako negativní (tedy bez známek malignity) označila jen 4 % případů u BRCA a 11 % u rizikové skupiny (zde vyšší výsledek pro 5 % případů DCIS s čistě mamografickým obrazem mikrokalcifikací, bez ložiska invaze, tedy v UZ němé). Nápadný však byl počet případů s výsledkem benigní a pravděpodobně benigní – 19 % u BRCA a 10 % u rizikové skupiny – vyjadřuje problém specifity, diferenciální diagnózy zachyceného ložiska.

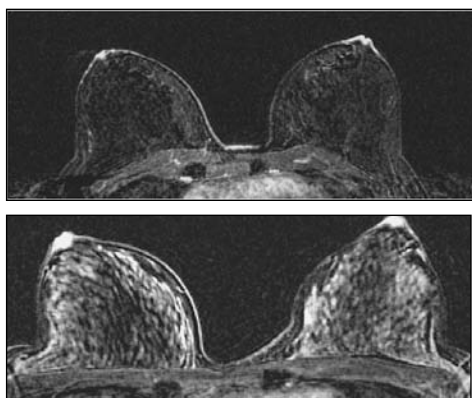


Vyšetřovací metody.

Mamografie (MG) je nejstarší metoda s více než 40letou tradicí. Za dobu svého užití prokázala, že je metodou účinnou, levnou a dobře dostupnou. Zůstává proto vedoucí metodou národních screeningových programů pro časnou detekci karcinomu prsu. Zde svou účinnost prokázala snížením mortality u Ca prsu o 30% u žen nad 50 let věku, ale už „jen“ o 18 % ve věkové skupině 40–50 let. Ve skupině menopauzálních žen, kam jsou cíleny běžné MG screeningové programy, vykazuje MG svou vysokou sensitivitu i specifitu (80–95%). U těchto žen vlivem nástupu tukové involuce převažuje obraz středně a nízkedenzní žlázy (Tabár 2 a 3, případně Tabár 1) – ve screeningovém souboru tvořily 74%, jen nízkedenzní Tabár 2 a 3 pak 51% (proti 28% u BRCA a 25% u rizikové skupiny, graf č.10). Se stoupající denzitou žlázy senzitivita MG výrazně klesá, někteří autoři uvádí až extrémních 30%. Denzní, plně zachovaná, fertilní mléčná žláza mladších (premenopauzálních) žen je pro MG velmi obtížným terénem. Její výpočetní hodnota se mnohdy snižuje jen na průkaz či vyloučení mikrokalcifikací. I velké tumory nemusí být detekovatelné, především lobulární karcinom. Extrémně denzní typ žlázy Tabár 4 a 5 se v obou rizikových souborech vyskytl ve 41%, proti 26% ve screeningu. Dalším omezujícím faktem je, že MG je metoda rentgenová a objevují se údaje o pozorování vyšší citlivosti BRCA parenchymu k ionizujícímu záření (především BRCA 1). Uvědomíme-li si nutnost dlouhodobého a intenzivního sledování žen (celoživotní riziko 25–75 let, kontroly minimálně 1x ročně) je právem diskutována otázka nebezpečí vyššího výskytu indukovaných nádorů. Mamografie tak ve skupině mladých rizikových žen ztrácí svou vedoucí pozici a ustupuje do pozadí dalším metodám, ultrasonografii (UZ) a magnetické rezonanci (MR).

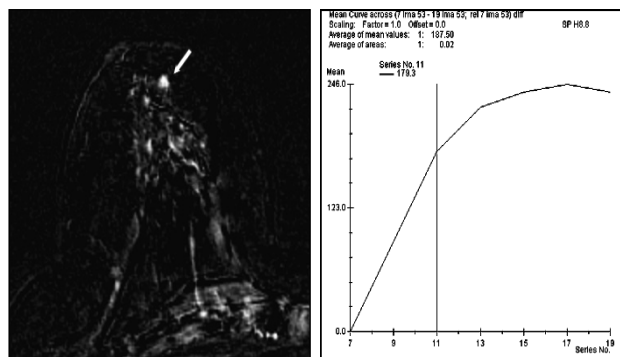
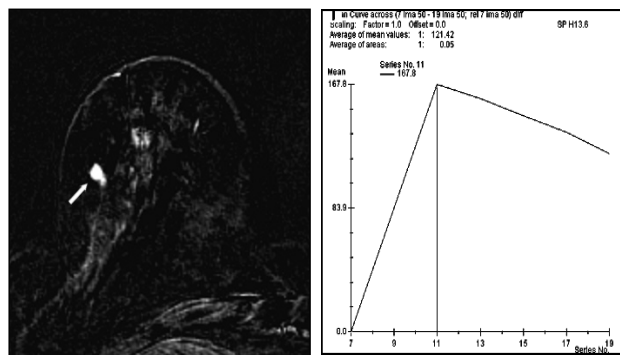
Ultrasonografie (UZ). Její senzitivita je pro detekci ložiska proti MG zřetelně vyšší i v terénu denzní žlázy. Nižší však může být specifita – diferenciální diagnóza zachyceného ložiska může být obtížná, především u mladých premenopauzálních žen (19% náleží u BRCA nosiček označeno jako benigní a pravděpodobně benigní). První úskalí s nebezpe-

čím nadhodnocení i podhodnocení nálezu je fertlní mléčná žláza s cyklickými hormonálními změnami, kdy hormonálně aktivovaný mastopatický uzel může imitovat nádor a naopak zhoubný nádor může být označen za benigní hormonálně podmíněnou změnu. Byl již zmíněn vyšší výskyt vzácnějších atypických forem karcinomu prsu, především medulárního karcinomu – silný lymfocytární lem (jeden z klasifikačních znaků) vytváří v UZ (i MG) téměř dokonale hladkou konturu („pushing margins“), pravidelné buněčné uspořádání tumoru s hojným lymfocytárním stromatem podmiňuje homogenní echostrukturu, výrazně hypoechogenní až cystoidní vzhled a absenci echostínu. Jednoznačné odlišení od benigní léze (fibroadenom, cysta) může být obtížné. Problematický může být i obraz lobulárního karcinomu – svým infiltrativním růstem vytváří nepravidelné prstovité infiltráty napodobující okolní žlázu, lišící se jen echogenitou. A dokonce i tento znak hypoechogenity nemusí být přítomen, lobulární karcinom může vytvářet smíšeně echogenní či dokonce hyperechogenní infiltrace. (V UZ je tumor typicky hypoechogenní, ve většině případů je hyperechogenita jako znak benigní povahy).



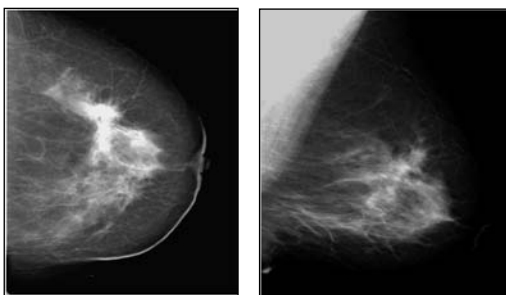
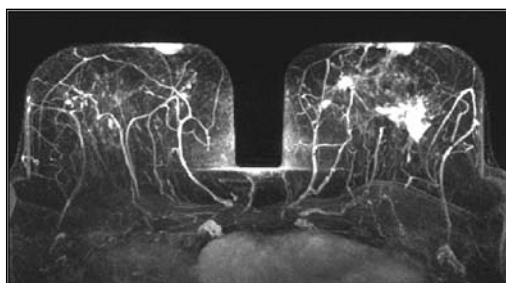
Obr. 1A, B.

Ukázka rozdílu fyziologického enhancement bohaté, plně zachované fertlní žlázy ve 2. týdnu (obr. 1A) a 4. týdnu cyklu (obr. 1B).



Magnetická rezonance (MR).

S rozvojem nových MR technik v posledních 15 letech se MR prsu stala výkonnou, robustní technikou, jejímž základem jsou 3D gradientní, ultra-rychlé sekvence. MR prsu je dnes v 99% kontrastní dynamikou vyšetření s aplikací paramagnetické kontrastní látky. Poskytuje tak informaci nejen morfoloickou (nativní MR obraz), ale i funkční. Tato funkční informace, hodnocení postkontrastního enhancement tkáně se opírá o fenomén neoangiogeneze - i minimální karcinom má proti okolí výrazně vyšší vaskularizaci tvořenou sítí patologických novotvořených cév, větší počet a velikost cév, vyšší permeabilitu, větší intersticiální prostor. To dává předpoklad zobrazit mamograficky, sonograficky a klinicky němé (okultní) léze - tedy ve stadiu, kdy pro malou velikost, charakter růstu nebo růst v denzní tkáni nevyvolají změny v morfoloickém obraze mléčné žlázy (MG, UZ, nektrastní MR obraz). Sensitivita MR v zobrazení invazivního karcinomu prsu je uváděna až 99%. Vysoká sensivita je však zatížena zřetelně nižší specificitou, je uváděna v širokém rozmezí 40-80%. Nižší specificita vychází z vlastní kontrastní povahy metody - zdrojem falešné pozitivit může být enhancement benigních neproli-



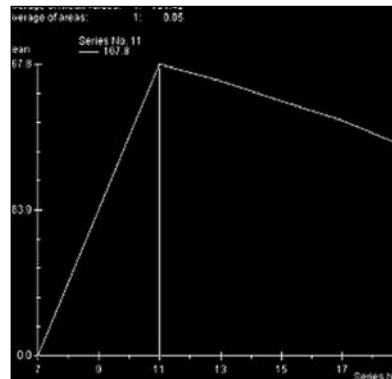
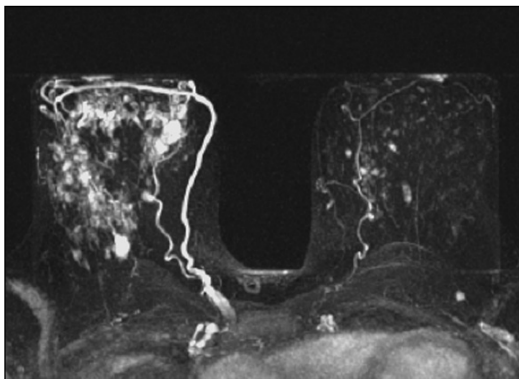
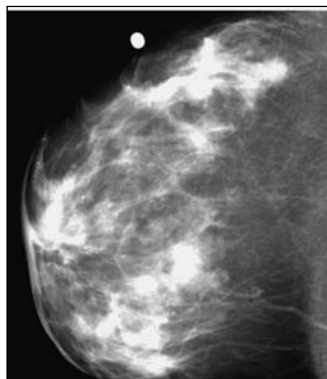
Obr. 2A, B, C.

Z MG a UZ diagnostikováno a histologicky potvrzeno (core biopsie pod UZ) ložisko lobulárního karcinomu v zevním horním kvadrantu (ZHK). Z MG (obr. 2B, C) vysloveno podezření na multicentricitu - jemné breast distortion na ploše 7mm v mediálním horním kvadrantu (MHK) na MLO projekci, nepřesvědčivý korelát na CC projekci, UZ v této oblasti bez jasných známek malignity. MR (obr. 2A) prokazuje v MDK dvě ložiska 15 a 9mm maligního vzhledu (časné vysoké enhancement, maligní typ křivky). Původní ložisko se navíc jeví v MR obraze výrazně větší - 41x31mm proti 22x17mm v MG obraze a 21x17mm v UZ obraze. V případě, že by nešlo o multicentricitu a byl indikován konzervativní operační výkon (parciální ME), je tato informace stěžejní pro správný rozsah operačního výkonu a zajištění „čistých“ operačních okrajů. Větší velikost léze v MR obraze je nejčastěji výrazem zobrazené neinvazivní in situ složky v okolí nádoru (EIC - extenzivní intra-dukální komponenta).

Obr. 3A, B, C, D.

MG bez ložiskových změn či jiných známek malignity. V UZ obraze dvě ložiska benigního vzhledu dlouhodobě stacionární, v zevním dolním kvadrantu (ZDK) 7mm a centrálně retroareolárně 6,5mm, zde pro nejasný UZ obraz před 2 roky provedena core biopsie s výsledkem benigního papilomu.

MR obraz - obě ložiska s časným homogenním enhancement. Ložisko retroareolárně (obr. 3C, D) vysoké enhancement s křivkou benigního typu (kontinuální nárůst), obraz kompatibilní s benigním ložiskem (papilom). Ložisko v ZDK (obr. 3A, B) má střední enhancement, křivka však vykazuje maligní tvar (wash-out), vysloveno podezření na malignitu a indikována core biopsie, potvrzen papilární karcinom.



Obr. 4A, B, C.

MG (obr. 4A) - vpravo rozsev maligních mikrokalcifikací komedo typu centrálně retroareolárně na ploše 42x35mm a v zevním horním kvadrantu (ZHK) 45x30mm. Verifikován high-grade DCIS (core biopsie pod STX kontrolou).

MR obraz (obr. 4B) - zřetelná stranová asymetrie enhancement, vpravo celkově nápadně vyšší. Patrné rozsáhlé okrsky vysokého segmentálního enhancement, které i v obou mediálních kvadrantech, tedy mimo rozsev mikrokalcifikací. V mediálním dolním kvadrantu a v rozhraní horních kvadrantů hluboko basálně nápadně až ložiskové léze 10 a 14mm s vysokým časným enhancement a maligním tvarem křivky (wash-out, obr. 4C) - z MR obrazu suspekce na ložiska invazivního karcinomu (v MG a UZ obraze „němé“ - bez mikrokalcifikací, bez ložiskových změn). Finální histologie potvrdila extenzivní DCIS, převážně high- grade, prakticky v celé žláze a drobný invazivní karcinom 5mm v rozhraní horních kvadrantů. I z původního MG obrazu byla vzhledem k výsevu maligních mikrokalcifikací retroareolárně indikována radikální mastektomie. Pokud si však představíme situaci, že by mikrokalcifikace byly jen v ZHK, pak průkaz extenzivního DCIS i mimo mikrokalcifikace (tedy MG „němého“ DCIS) je pro rozsah operačního výkonu zcela zásadní.

ferativních lézí a především nespecifické fyziologické enhancement mléčné žlázy, kolísající během menstruačního cyklu a závislé na individuální hormonální hladině. Tyto spontánně enhancující léze (UBOs - Unidentified Bright Objects) se objevují nejvíce během 1. a 4. týdne cyklu a u mladých žen pod 35 let věku. Proto prvním a zcela zásadním předpokladem je provedení kontrastní MR prsu ve 2. týdnu cyklu (6. - 17. den). MR je nezávislá na denzitě žlázy, nejsou pozorovány rozdíly v sensitivitě MR v terénu nízké či extrémně denzní žlázy. Tuto schopnost zlepšují i nové subtrakční techniky. Další výhodou je absence ionizujícího záření, nehrozí tedy riziko indukovaných tumorů u fragilního BRCA parenchymu, je možné dlouhodobé sledování. Obě tyto výhody tak MR předurčují jako metodu vhodnou pro dlouhodobé sledování mladých žen s vysokým rizikem karcinomu prsu. Ke zvýšení specifity výrazně přispěla technika hodnocení enhancement - kvantitativní i kvalitativní. Nehodnotí se jen absolutní výška časného enhancement (benigní léze jako fibroadenom může mít vyšší enhancement než karcinom), ale prioritní se jeví hodnocení chování enhancement v čase pomocí time-to-intensity křivek. Rozlišují se 3 základní tvary křivky : (1) kontinuální nárůst jako znak benigní léze, (2) plateau (kolísá +/- 10%) jako znak možné malignity a (3) wash-out fenomén (rychlý pokles) jako prioritní znak malignity. Léze, která má morfologicky benigní vzhled v nativním MR, MG i UZ obraze (hladká kontura, homogenní, struktura, homogenní enhancement) může vykazovat maligní charakter křivky (obr. 3 A.-D.).

Výše již několikrát zmíněný lobulární karcinom je pro MR mamografii velkou výzvou, jeho obrazu je věnována velká pozornost. Proti duktálnímu karcinomu má lobulární karcinom větší tendenci k multicentricitě, multifokalitě a bilateralitě. Je známa jeho horší viditelnost v mamografickém obraze, která je podmíněna charakterem růstu lobulárního karcinomu. Fibroproliferativní, desmoplastická reakce typická pro duktální karcinom zde může být velmi málo vyjádřena. Fibrózní stroma je však hlavním morfologickým podkladem dobré „viditelnosti“ tumoru v mamografickém obraze (jako sytého jádrového stínu tumoru s vyšší denzitou proti okolní žláze). Buňky lobulárního karcinomu se infiltrativně periduktálně a perilobulárně šíří žlázou, kterou využívají pro svůj růst jako jakousi „podpůrnou kostru“. Charakter růstu je přirovnáván k leukemickým infiltrátům. Tumor tak napodobuje strukturu žlázy a při malém podílu nebo absenci fibrózního stromatu je málo denzní a může tak, především v terénu denzní žlázy dlouho

unikat pozornosti. MR nezávislá na denzitě žlázy má předpoklad vyšší schopnosti zachytu, i zde jsou však určité limitace - enhancement lobulárního karcinomu je variabilnější než u duktálního karcinomu, může se vyskytnout jak netypický (benigní) charakter křivky nebo při zachovaném maligním charakteru křivky jen střední či dokonce nízké enhancement.

Často diskutovanou otázkou zůstává detekce CIS, především DCIS. Pro primární detekci se MRM nejeví vysoce sensitivní, především pro low grade DCIS - neexistuje specifické kritérium, tvar křivky. High grade DCIS však ve většině vykazuje zřetelné enhancement (až 100%, Facius ECR 2005), low grade (G1) už jen kolem 70%.

Diskuse.

Ve většině indikací je MR prsu doplňkovou a nadřazenou metodou k MG a UZ. Jedinou výjimku tvoří právě sledování žen s vysokým rizikem Ca prsu. Zde je dnes považována za metodu rovnocennou s MG a UZ, u žen mladších 40 let pak za metodu jednoznačně vedoucí. Dnes už poměrně obsáhlé studie dokazují její vyšší účinnost v detekci karcinomu prsu proti MG a UZ. Němečtí autoři (Kuhl et al, 2004) uvádí soubor 529 rizikových asymptomatických žen se zachytem 43 karcinomů prsu: použití jen MG sensitivita 63%, 35% N+, 26% intervalový Ca, kombinace MR+MG+UZ sensitivita 93%, 16% N+, 2% intervalový Ca, 58% T<10mm, N0.

Britská multicentrická studie MARIBS (Leach et al, 2005) uvádí 649 rizikových asymptomatických žen ve věku 35-49 let se zachytem 35 karcinomů prsu : sensitivita všechny ženy MG 40%, MR 77%, MR+MG 94%, nosičky mutace BRCA1 MG 23% , MR 92%, MR+MG 92%, specifita všechny ženy MG 93%, MR 81%, MR+MG 77%, BRCA1 mutace MG 89%, MR 79%, MR+MG 72%, N+ 20%.

Z uvedených dat zřetelně vyplývá vyšší účinnost programů se zařazenou MR prsu. MG si sice udržuje vysokou specifitu, sensitivita však výrazně klesá (až uváděných extrémních 23% u BRCA1 nosiček). Jinak řečeno, co MG „vidí“ s vysokou přesností rozliší na benigní a maligní, vidí ale jen 23% lézí!. MR byt s nižší specifitou „vidí“ 92% - ne vždy jednoznačně rozliší etiologii, ale změnu „vidí“ a může ji tedy sledovat, biopskovat ...

Význam preventivního sledování částečně vyplývá i z retrospektivní analýzy uvedené v úvodu – podařilo se vytipovat 20 žen, které byly již nějakou dobu sledovány v MOU před diagnózou karcinomu prsu (nejčastěji pro již předchozí Ca prsu

či jinou předchozí malignitu), sledování v té době bylo pouze MG a UZ. I když nebyla zařazena MR a nešlo o pevně nastavený program prevence, bylo 80% těchto tumorů ve stadiu T1 a z toho 40% T<10mm (v původní BRCA skupině jen 38% T1 a T<10mm 17%). N+ 35% (proti 50% ve studii).

Nabízí se otázka proč preventivní, a tedy sekundární sledování, které byt relativně účinné, vždy slouží jen k časné diagnóze již vzniklého karcinomu prsu, když existují jiné, relativně účinnější forma prevence – profylaktická mastektomie. Profylaktická mastektomie představuje v podstatě primární prevenci, účinnost se udává 95-100%. Otázka i odpověď je však složitější. Ne všechny ženy budou ochotny k ní přistoupit, pokud vůbec pak nejspíše po proběhlém mateřství (nutno si uvědomit, že často jde o ženy zcela zdravé, jen s prokázaným nosičstvím genetické mutace!). Jde o náročný operační výkon se všemi riziky vyplývajícími z operace samotné i rizikem nepříznivého kosmetického efektu. Britské a holandské studie uvádí jak zvýšení pocitu bezpečí (v UK 45% nosiček BRCA mutace má profylaktickou mastektomii), tak snížení kvality života vlivem bolesti, snížení sebevědomí i problémy v sexuální oblasti. Nutno si také uvědomit, že udávaná účinnost snížení rizika o téměř 100% je izolovaný fakt.

Jde-li o ženu s již diagnostikovaným Ca prsu, pak minimálně první tři roky je více ohrožena diseminací tohoto karcinomu, než druhostranným nádorem prsu. U zdravé nosičky pak vstupuje fakt rizika ovariálního karcinomu, který byt s nižším rizikem a vznikem v pozdějším věku je provázen vysokou mortalitou. Studie tak uvádí modelové life-expectancy pro profylaktickou

mastektomii 3-5 roků u zdravé nosičky mutace a asi jen 0,5-2 roky u nosičky mutace s diagnózou karcinomu prsu. Jako nejúčinnější (a nejméně) se proto jeví kombinace profylaktické adnexektomie s intenzivním mamologickým sledováním. Profylaktické mastektomie zatím není považována za metodu první volby.

Závěr.

Jaký má tedy program být? Účinný, cílem je maximum nálezů ve stadiu T1N0. Musí respektovat charakter žlázy sledovaných žen (pre i postmenopauza), charakter tumorů. U mladé denzní žlázy mamografie ustupuje do pozadí, vedoucí je magnetická rezonance, případně sonografie. Ani jedna metoda není dokonalá, výhodou je kombinace metod – MR+UZ u mladých žen, MR+MG+UZ u žen nad 40 let. Jde o tumory vysokého gradu, s předpokladem rychlého růstu, je proto nutný krátký interval vyšetření, maximálně 1 rok, optimální se ukazuje MR+UZ (MR+MG+UZ) 1x ročně a každých 6 měsíců UZ. Takto nastavený protokol s pravidelným každoročním zařazením MR prsu byl pro ženy s vysokým rizikem karcinomu prsu zaveden i v Masarykově onkologickém ústavu. Stejně tak je důležité respektovat i přání a ochotu ženy do programu vstoupit. Má poskytovat pocit bezpečí, ne zvyšovat pocit stigmatizace vysokým rizikem malignity. Přeje-li si žena být sledována méně často, je nutné to respektovat.

Práce byla podpořena grantem MZČR MZO 00209805

Literatura:

1. Baum F., Fischer U. et al, Classification of hypervascularized lesions in CE MR images of the breast. *Eur Radiol* 2002, 12:1087-1092.
2. Brown J. et al, Incidental Enhancing Lesions Found on MR Imaging of the Breast. *AJR*, 176(5): 1249.
3. Hartmann L. C., Sellers T. A. et al, Efficacy of Bilateral Prophylactic Mastectomy in BRCA1 and BRCA2 Gene Mutation carriers. *JNCI*, 2001, 93: 1633-7.
4. Heywang-Kobrunner S.H., Bick U. et al, International investigation of breast MRI: results of a multicentre study (11 sites) concerning diagnostic parameters for contrast-enhanced MRI on 519 histopathologically correlated lesions. *Eur Radiol* 2001, 11:531-546.
5. Heywang-Kobrunner S.H., Viehweg P. et al, Contrast-enhanced MRI of the breast: accuracy, value, controversies, solutions. *EJR* 1997, 24(2):94-108.
6. Jacobs M.A., Barker P.B. et al, Benign and Malignant Breast Lesions: Diagnosis with Multiparametric MR Imaging. *Radiology* 2003, 229:225-232.
7. Kriege M., Brekelmans T.M. et al, Efficacy of MRI and Mammography for Breast-Cancer Screening in Women with a Familial or Genetic Predisposition. *NEJM* 2004, 351:427-437.
8. Kuhl C., Schrading S. et al, Mammography, Breast Ultrasound, and Magnetic Resonance Imaging for Surveillance of Women at High Familial Risk for Breast Cancer. *JCO*, 2005, 23(33): 8469-8476.
9. Kuhl C., Schrading S. et al, The „EVA“ Trial : Evaluation of the Efficacy of Diagnostic Methods (Mammography, Ultrasound, MRI) in the secondary and tertiary prevention of familial breast cancer. Preliminary results after the first half of the study period. *Rofo*, 2005, 177(6): 818-827.
10. Kuhl C. et al, Breast MR Imaging Screening in 192 Women Proved or Suspected to Be Carriers of a Breast Cancer Susceptibility Gene: Preliminary Results. *Radiology* 2000, 215: 267-279.
11. Kuhl C., Kuhn W., Management of women at high risk for breast cancer : New imaging beyond mammography. *The Breast*, 2005, 14(6): 480-486.
12. Kuhl C., et al, Healthy premenopausal breast parenchyma in dynamic contrast-enhanced MR imaging of the breast : normal contrast medium enhancement and cyclical phase dependency. *Radiology*, 2004, 203(1): 137.
13. Kuhl C., Mielcarek P. et al, Dynamic Breast MR Imaging: Are Signal Intensity Time Course Data Useful for Differential Diagnosis of Enhancing Lesions? *Radiology* 1999, 211:101-110.
14. Leach M.O., Sreening in women et genetic risk of breast cancer: Results of the UK multicentre study of magnetic resonance imaging (MRI) and X-ray mammography (XRM). *ASCO* 2005, www.ASCO.org
15. Liberman L., Morris E. A. et al, Probably benign lesions at magnetic resonance imaging. Preliminary experience in high-risk women. *Cancer*, 2003, 98(2): 377-388.
16. Orel S., Schnall M., MR Imaging of the Breast for the Detection, Diagnosis, and Staging of the Breast. *Radiology* 2001, 220:13-30.
17. Sardanelli F., MultiHance for dynamic MR imaging of the breast. *Eur Radiol Suppl* 2004, 14(7):65-70.
18. Sardanelli F., Giuseppetti G.M. et al, Sensitivity of MR versus mammography for detecting foci of multifocal/multicentric breast cancer in fatty and dense breasts using the whole breast pathologic examination as a standard of truth. *AJR* 2004
19. Schrag D., Kuntz K. et al, Life Expectancy Gains from Cancer Prevention Strategies for Women With Breast Cancer and BRCA1 or BRCA2 Mutations. *JAMA*, 2000, 283: 617-624.
20. Stoutjesdijk, M.J., Boetes C. et al, Magnetic Resonance Imaging and Mammography in Women With a hereditary Risk of Breast Cancer, *JNCI*, 2001, 93:1095-1102.
21. Vasen H.F.A. et al, Early detection of breast and ovarian cancer in families with BRCA mutations. *Eu J of cancer*, 2005, 41: 549-554.
22. Vasen H.F.A., Haites N.E. et al, Current Policies for Surveillance and Management in Women at Risk of Breast and Ovarian Cancer: a Survey Among 16 European Family Cancer Clinics. *Eur J Cancer*, 1998, 38(12): 1922-1926.
23. Warner E. et al, Surveillance of BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers With Magnetic Resonance Imaging, Ultrasound, Mammography, and Clinical Breast Examination. *JAMA*, 2004, 292:1317-25.
24. Warner E. et al, Comparison of Breast Magnetic Resonance Imaging, Mammography and Ultrasound for Surveillance of Women at High Risk for Hereditary Breast cancer. *JclinOn*, 2001, 19:3524-3531.

PROFYLAKTICKÁ MASTEKTOMIE A JEJÍ INDIKACE U RIZIKOVÝCH ŽEN

PROPHYLACTIC MASTECTOMY AND ITS INDICATIONS IN HIGH-RISK WOMEN

DRAŽAN L

KLINIKA PLASTICKÉ A REKONSTRUKTIVNÍ CHIRURGIE, FN U SV. ANNY BRNO

Souhrn

I když se karcinom prsu v současné době léčí především konzervativně, stoupají požadavky na provádění profylaktické mastektomie. Je to především kvůli pochopení genetiky nádorů a rutinnímu zavedení vyšetřování mutací BRCA1,2 genů. V kapitole se vysvětlují 3 principy profylaktické mastektomie: vytipování vysokého rizika, účinnost profylaktické mastektomie v prevenci vzniku nádoru prsu a vzhledově uspokojivá rekonstrukce s minimem komplikací. Následuje výčet 17 nejčastějších indikací k profylaktické mastektomii.

Klíčová slova: profylaktická mastektomie, indikace, rekonstrukce prsu

Summary

In spite of the fact that breast carcinoma is nowadays treated conservatively in majority cases, there is also increasing demand for performing of prophylactic mastectomy. It is because of our improved understanding of breast carcinoma genetics and routine examination of mutations in BRCA1/2 genes. Author clarifies 3 principles of performing prophylactic mastectomy: definition of high-risk patients, efficiency of prophylactic mastectomy to prevent breast carcinoma and aesthetically acceptable results. Author define 17 most common indications for prophylactic mastectomy.

Key word: prophylactic mastectomy, indication, breast reconstruction

Účelem profylaktické mastektomie je odstranění vysoce rizikového parenchymu prsní žlázy a tím výrazně snížit pravděpodobnost rozvoje karcinomu prsu v dalším životě pacientky. Zákrok je mnohými považován za kontroverzní, protože se prs odstraňuje v době, kdy není přítomen invazivní tumor, zatímco v situaci prokázané invaze se většinou provádí prs šetřící postup.

Profylaktická mastektomie představuje zpravidla jen jednu alternativu z několika možných a v tomto smyslu nemá nikdy absolutní indikaci.

I když je profylaktická mastektomie zpravidla prováděna okamžitou rekonstrukcí, je třeba mít vždy na mysli, že jde o odstranění podstatné části prsu (přínejmenším celé žlázy), a tím představuje jednoznačně operaci s mutujícími následky. Rekonstrukce, i když zdařilá, nemůže obnovit celistvost hrudníku ad integrum, jedná se vždy pouze o zmírnění následků mastektomie. Navíc bývají rekonstrukce provázeny i komplikacemi, které mohou navodit psychické či tělesné strádání pacientky, prodloužení léčení a případně i výrazně znehodnotit konečný estetický výsledek. Indikace k této operaci by se měla stanovit uvážlivě a samozřejmě až po dokonalém onkologickém vyšetření prsů, tak aby se profylaktická mastektomie neprováděla ani u již invazivního tumoru, ale také ne u nízkých rizik nebo neprokázaných rizik.

Oprávněnost profylaktické mastektomie je založena na 3 podmínkách:

1. Pacientka má **dostatečně velké riziko** budoucího rozvoje karcinomu prsu. Na pravděpodobnost rozvoje karcinomu můžeme usuzovat na základě:

a) prokázaného genetického defektu odpovědného za kontro-

lu nádorového bujení v prsu DNA analýzou a nálezem BRCA1,2 genové mutace (1,2,3,4)

b) neprokázaného, ale předpokládaného genetického defektu u pacientek s velmi pozitivní rodinou anamnézou a posílenou již vlastním onemocněním pacientky na jedné straně (uvažuje se o profylaktické mastektomii na straně opačné)

c) histologickým nálezem, o kterém se soudí, že se časem změní na invazivní karcinom (DCIS, LCIS, atypické duktální hyperplazie, fibroadenomatoidní dysplazie a jiné)

d) velmi ranného věku, ve kterém pacientka poprvé dostává karcinom prsu.

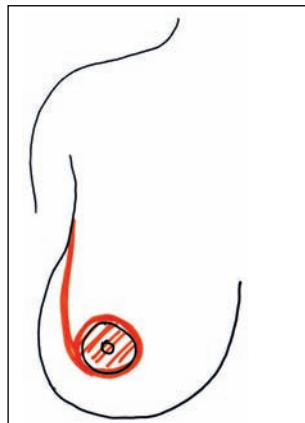
2. Mastektomie výrazně sníží riziko budoucího rozvoje karcinomu

Existuje řada prací dokazujících, že mastektomie je velmi efektivní přístup k zabránění vzniku rakoviny prsu u rizikových pacientek (5,6,7,8). Riziko vzniku karcinomu po profylaktické mastektomii však nelze vyloučit na 100 %, protože se předpokládají přetrvávající rezidua mléčné žlázy v objemu 1-3 % a to v podkoží, axile nebo dokonce mimo vlastní původní žlázu. Chirurgická radikalita profylaktické mastektomie roste s preparací žlázy povrchněji do podkoží za vzniku tenkých kožních laloků. S tenkými kožními laloky však roste počet komplikací vyplývajících z poruchy cirkulace a tím vzniku kožních nekrot. Zhoršuje se též, zejména u rekonstrukcí pomocí implantátů, estetický výsledek.

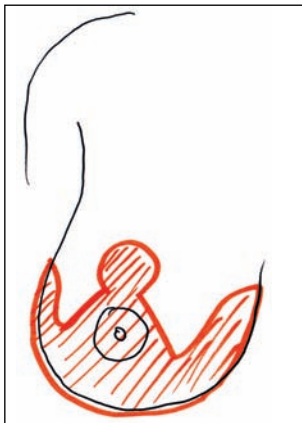
Radikalita profylaktické mastektomie vzrůstá při odstranění dvorce, tedy při provedení prosté, kůži šetřící mastektomie místo subkutánní mastektomie. Zachování dvorce u subkutánní mastektomie je vždy spojeno s ponecháním části mléčné žlázy pod dvorcem a v jeho okolí a to z důvodů zachování

krvni cirkulace do dvorce z jeho okolí. Typy profylaktických mastektomií jsou na obr. 1-5.

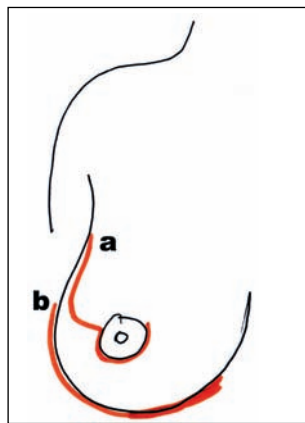
1. prostá (totální), kůži šetřící mastektomie
2. prostá (totální), kůži šetřící mastektomie s pexí (modelací)
3. subkutánní mastektomie a) z dolního periareolárního řezu prodlouženého směrem do axily b) subkutánní mastektomie z inframamárního řezu prodlouženého směrem do axily
4. subkutánní mastektomie s pexí (modelací) na a) horní, b) dolní či c) obou subdermálních výživných stopkách
5. glandulární excise (odstraňuje žlázu s vývody a bradavkou, zatímco šetří dvorec)



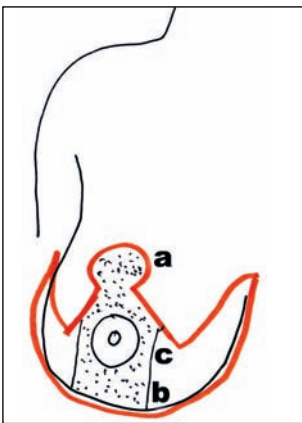
Obrázek 1.: Prostá (totální), kůži šetřící mastektomie



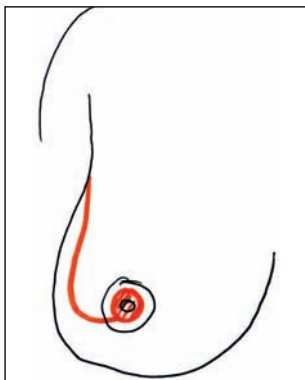
Obrázek 2.: Prostá (totální), kůži šetřící mastektomie s pexí (modelací)



Obrázek 3.: Subkutánní mastektomie, 3 a) z dolního periareolárního řezu prodlouženého k axile, 3 b) z inframamárního řezu prodlouženého k axile



Obrázek 4.: Subkutánní mastektomie s modelací, kde se dvorec posouvá nahoru, 4 a) na horní výživné stopce, 4 b) na dolní výživné stopce, 4 c) horní i dolní výživné stopce



Obrázek 5.: Glandulární excise

3. Esteticky přijatelná rekonstrukce

Provedení oboustranné profylaktické mastektomie bez rekonstrukce je v dnešní době pro většinu pacientek obtížně přijatelnou alternativou. Rekonstrukce prsu se z tohoto pohledu stává podmínkou celého principu profylaktické mastektomie a měla by jí být věnována náležitá pozornost. Úspěšnost rekonstrukce a dosažené estetické výsledky závisí na zkušenosti plastického chirurga i na finanční dostupnosti nejnovějších typů implantátů. Vzhledem k tomu, že se profylaktická mastektomie provádí pro neinvazivní patologické stavy, kde se nepředpokládá pooperační radioterapie či chemoterapie, lze rekonstrukci provést v jedné operaci s mastektomií, tj. **okamžitou rekonstrukcí**. Tato je výhodná pro pacientku nejen z hlediska psychologického, protože nemusí prožít stresující období bez prsů, ale též z hlediska budoucího estetického výsledku. Při odložené rekonstrukci dochází při hojení v době mezi mastektomií a rekonstrukcí k projevům kožních mastektomických laloků a jejich kontrakturám a tím ke tvarovým a velikostním změnám kůže. Tyto změny komplikují tvarování prsu a mohou mít nepříznivý vliv na konečný estetický výsledek rekonstrukce. Způsob vedení řezů při mastektomii je též důležitý pro konečný výsledek rekonstrukce, a proto by se měla profylaktická mastektomie plánovat ve spolupráci s plastickým chirurgem, zvláště u velkých ptotických prsů, kde je předpoklad zmenšení a modelování kůže budoucího prsu.

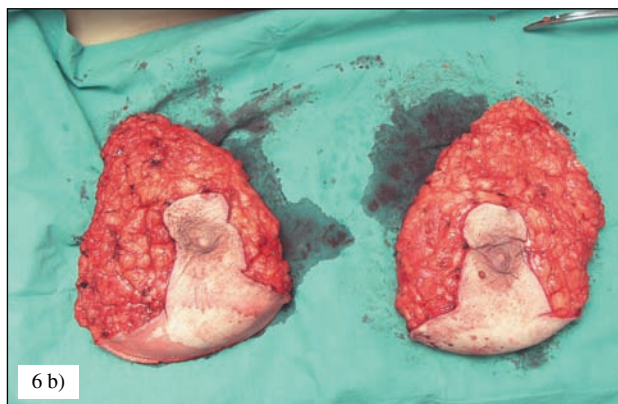
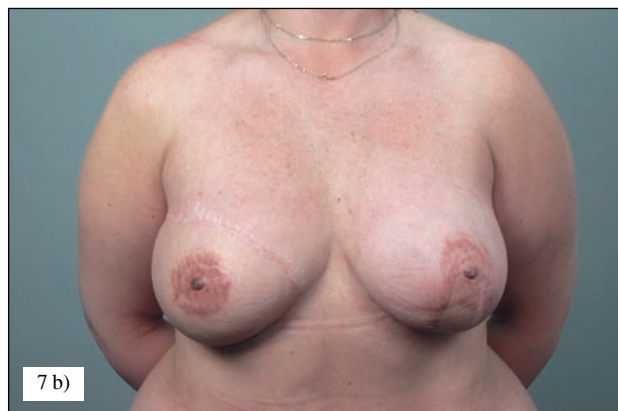
Podle somatického nálezu a do určité míry i podle přání pacientky se rekonstrukce provádí pomocí:

- a) implantátů (s nebo bez přípravy tkáňovým expanderem)
- b) místního laloku (kožně svalový lalok latissimus dorsi nebo fasciokutánní laterální torakodorzální lalok) v kombinaci s implantátem
- c) vlastní tkáň, nejčastěji lalokem z podbřišku ve formě stopkovaného nebo volného TRAM laloku (Transverzální Rectus Abdominis Myocutánní lalok) případně perforátorového laloku DIEP (Deep Inferior Epigastric artery Perforator flap)

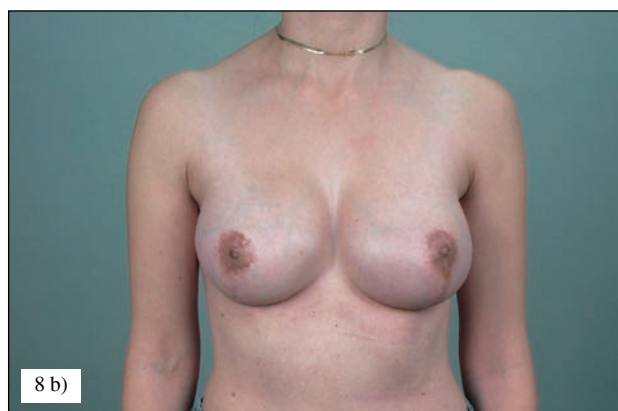
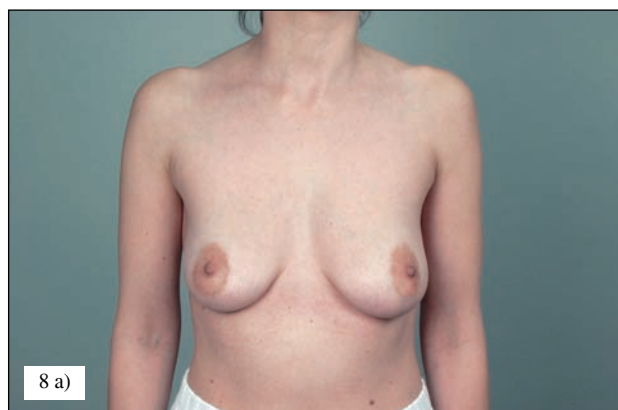
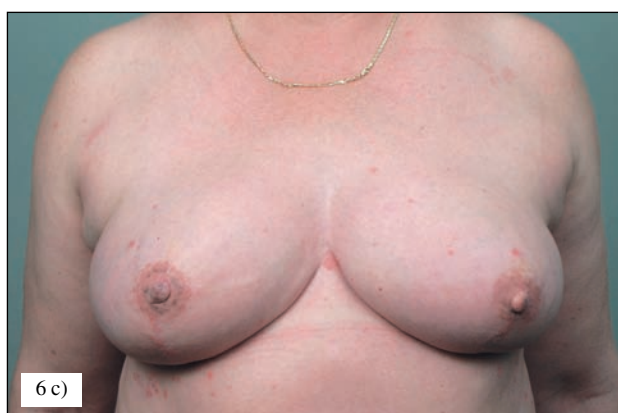
Implantáty mají výhodu v jednodušší a kratší operaci (oboustranná mastektomie s rekonstrukcí implantáty trvá 3-4 hodiny) nevýhodné jsou pro možnost postupně vznikající vazivového pouzdra kolem implantátu, které nakonec deformuje prs. **Laloky z břicha** jsou vhodné především pro pacientky s nadbytkem kůže a tuku v podbřišku a jsou výhodné pro možnost vytvoření přirozeně tvarovaného prsu včetně mírného poklesu. Laloky z břicha se přenášejí jako živá tkáň s vlastní krví cirkulací a po vhojení se stávají trvalou integrální částí pacientčina těla. Nevýhodou je nutnost vysoké erudovaného týmu, případně mikrocirurgického specialisty, délka operace (oboustranná mastektomie s rekonstrukcí DIEP laloky trvá 8 hodin) a možnost peroperačních nebo časné pooperačních komplikací s potřebou nové operace. Příklady rekonstrukcí jsou na obr. 6-8.

Z hlediska **indikace k jednostranné či oboustranné mastektomii** je potřeba si uvědomit, že zatímco u rekonstrukce implantáty se pravá a levá strana dá časově oddělit, u laloku z břicha tak nelze. Rozhodnutí se musí provést předem, protože celá tkáň břicha se odebrá jen jedenkrát a buď se použije jako jeden lalok na jednu stranu, anebo se rozdělí na dva poloviční laloky, kterými se rekonstruují oba prsy.

Indikace k profylaktické mastektomii a způsob rekonstrukce se stanovuje na základě kompletního onkologického vyšetření pacientky, studia rodinné anamnézy, případně genetického vyšetření a předoperačního pohovoru s pacientkou. Zvažují se různé rizikové faktory, jejich souběhy, schopnost a ochota pacientky rizika tolerovat. Na druhé straně se však také zvažuje, jak složitá bude rekonstrukce a jaký výsledek lze očekávat. Lze konstatovat, že jak z hlediska onkologického, tak i rekonstrukčního máme pro profylaktickou mastektomii různé vhodné pacientky. Od těch, co mají jasnou a dobře podloženou indikaci (tj. velké riziko), až po méně přesvědčivou, kde váháme, zda operovat či prs pouze sledovat. Z hlediska rekonstrukčního pak máme spektrum kandidátek od ideální pacientky, u které lze očekávat velmi pěkný výsledek (někdy i zlepšení vzhledu prsů po operaci) až po pacientky se svízelnou



Obrázek 7.:
7 a) Pacientka po pravostranné modifikované radikální mastektomii, v levém prsu je rizikový parenchym, pro který se indikuje prostá, kůži šetřící mastektomie s pexí.
7 b) Po levostranné mastektomii a oboustranné okamžité rekonstrukci dvěma DIEP laloky. Rekonstrukce bradavek místními otočnými lalůčkami a dvorců tetovází.



Obrázek 6.:
6 a) Zdravá pacientka, nosička mutace BRCA 1
6 b) Mastektomické resekáty
6 c) Pacientka po oboustranné, prosté, kůži šetřící mastektomii a okamžité rekonstrukci dvěma perforátorovými laloky z břicha (DIEP). Rekonstrukce bradavek místními otočnými lalůčkami a dvorců tetovází.

Obrázek 8.:
8 a) Zdravá nosička mutace BRCA 1.
8 b) Pacientka po oboustranné prosté mastektomii s pexí a okamžitou rekonstrukcí implantáty. Odložená rekonstrukce bradavek otočnými lalůčkami a dvorce tetovází



rekonstrukci a předpokládáním ne příliš pěkně vypadajícím výsledkem. Velmi obecně platí, že čím mladší a štíhlejší pacientka, tím obtížnější rekonstrukce, naopak pacientky se silnější podkožní tukovou vrstvou, povislými prsy a větším břichem (nemyslí se obezita) jsou kandidátkami na lepší estetický výsledek.

Sílu indikace k zákroku vyjadřujeme v pomyslné stupnici od neprovádět (-) až po určitě provést (+++)

Pacientky můžeme rozdělit podle onkologického stavu na dvě skupiny:

A. Pacientky, které již prodělaly léčbu karcinomu prsu na jedné straně. Zde se zvažuje profylaktická mastektomie na straně opačné následovaná oboustrannou rekonstrukcí. Pokud by pacientka byla léčena konzervativně (prs zachovávající operace) s výslednou deformitou indikovanou k rekonstrukci, pak se doporučuje dokončit profylaktickou mastektomií a rekonstruovat celý prs znovu.

Mezi nejčastější situace patří:

Pacientka je po ukončené léčbě na jedné straně, kde se provedla modifikovaná radikální mastektomie (MRM) pro:

1. - duktální karcinom, jinak bez dalších rizikových faktorů -
2. - lobulární karcinom, jinak bez dalších rizikových faktorů + -
3. - pozitivní rodinná anamnéza (jedna přímá příbuzná, mladá pacientky zvyšuje indikaci) ++
4. - pozitivní rodinná anamnéza (dvě a více přímých příbuzných) +++
5. - nosička BRCA mutace +++
6. - věk pacientky pod 30 let - (testuje se na BRCA) +
7. - histologický nálezn ve zbylém prsu-atypie, fibroadenomatoidní dysplazie, DCIS, LCIS ++
8. - mamograficky denzní tkáň-vysoký st. Tabár (IV,V) -

9. - mamograficky riziková tkáň-kalcifikace a jiné známky -

u obou výše uvedených případů je nutná histologická verifikace rizikového parenchymu

10. - bolestivost prsu -
11. - fobie neopodstatnělá -
12. - fobie opodstatnělá +

B. Pacientky, které invazivní karcinom zatím neměly a zvažuje se oboustranná profylaktická mastektomie

13. - BRCA pozitivní pac. ++ (kdy?) oboustranná
14. - DCIS na jedné straně ++ jednostranná
15. - LCIS na jedné či obou stranách ??-
16. - atypie, fibroadenomatoidní dysplazie + jednostranná
17. -mamograficky vysoký Tabár -
18. -mamograficky jinak rizikový obraz - nutno histologicky verifikovat, pokud je pozitivní nálezn -pak viz výše +

Kromě ryze onkologických indikací existují ještě další okolnosti, které mohou ovlivňovat rozhodnutí o provedení nebo kontraindikaci profylaktické mastektomie. Např. celkový stav pacientky, emoční stav pacientky, reálnost očekávání výsledku, zhodnocení, zda rekonstrukce bude asi probíhat jednoduše s předpokládaným dobrým výsledkem či naopak.

Všechny pacientky by měly být před profylaktickou mastektomií komplexně onkologicky vyšetřeny za účelem vyloučení již invazivní formy onemocnění.

Literatura

1. Easton DF, Ford D, Bishop DT. Breast and ovarian cancer incidence in BRCA1-mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum. Genet.* 1995, Vol. 56, p. 256-271.
2. Ford D, Bishop DT, Narod SA, Goldgar DE. Risk of cancer in BRCA 1 mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium. *Lancet* 1994, 343, p.692-695.
3. Ford D, Easton DF. The genetics of breast and ovarian cancer. *Br. J. Cancer* 1995, 72, p. 805-812.
4. Easton DF, Bishop DT, Ford D, Crockford GP. Genetic linkage analysis in familial breast and ovarian cancer: results from 214 families. The Breast Cancer Linkage Consortium. 1993, *Am J Hum. Genet.* 52, p. 678-701.
5. Woods JE. Subcutaneous Mastectomy: Current State of the Art. *Annals of Plast. Surg.*, 1983, 11, 6, p. 541-550.

6. Woods JE, Meland NB. Conservative management in full thickness nipple-areolar necrosis after subcutaneous mastectomy. *Plast. Reconstr. Surg.*, 1989, 84, p. 258- 260.
7. Hartmann LC, Schaid DJ, Woods JE, et al. Efficacy of bilateral prophylactic mastectomy in women with a family history of breast cancer. *N. Engl. J. Med.*, 1999, 340, p. 77-84.
8. Pennisi V, Capozzi A. Subcutaneous mastectomy data: a final statistical analysis of 1500 patients. *Aesthetic Plast. Surg.*, 1989, 13, p.15-21.
9. Meijers-Heijboer M, VanGeel B, VanPutten W, et al. Breast Cancer after prophylactic bilateral mastectomy in women with a BRCA1 or BRCA2 mutation. *N.Engl. J. Med.* 2001: 345, 158-54
10. Klijn JGM, VanGeel B, Meijers-Heijboer H, et al. Long-term follow up of the Rotterdam study on prophylactic mastectomy versus surveillance in BRCA1/2 mutation carriers. *J.Clin.Oncol* 2004: 22, 9502.

PREVENTIVNÍ PÉČE O ŽENY S DĚDIČNÝM SYNDROMEM NÁDORŮ PRSU/OVARIA – VÝSLEDKY DOTAZNÍKOVÉ STUDIE, PREVENCE NA MASARYKOVĚ ONKOLOGICKÉM ÚSTAVU

PREVENTION CARE OF WOMEN WITH HEREDITARY BREAST/OVARIAN CANCER – THE RESULTS OF QUESTIONNAIRE STUDY, PREVENTION AT THE MASARYK MEMORIAL CANCER INSTITUTE

FORETOVÁ L, NAVRÁTILOVÁ M, VÍTOVÁ H, HANOUSKOVÁ D, DVOŘÁČKOVÁ B, KALÁBOVÁ R, PALÁCOVÁ M, SCHNEIDEROVÁ M, PETRÁKOVÁ K

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO

Souhrn

Prevence u žen s dědičnou dispozicí ke karcinomu prsu a ovaria je komplexní záležitostí. Participují na ní odborníci různých specializací. Riziko onemocnění nádorem prsu desetinásobně převyšuje riziko běžné populace, u nádoru ovaria může být až třicetinásobné. Genetické testování je rutinně prováděno v ČR. Prediktivní testování u zdravých příbuzných může potvrdit nebo vyloučit dědičná rizika onemocnění a směřovat specializovanou prevenci pouze k nosičům mutace.

V dotazníkové studii jsme zjišťovali vliv genetického poradenství a testování na některé psychické a sociální dopady testování, sledovali jsme úroveň preventivní péče a využití profylaktických operací.

Riziková preventivní ambulance v Masarykově onkologickém ústavu sleduje 387 osob s prokázanou nebo předpokládanou hereditární predispozicí k nádorům, z toho 85 pacientek, 206 zdravých žen a 19 mužů testovaných na BRCA mutace. Preventivní sledování se řídí doporučenými standardy preventivní péče i individuálními specifickými znaky jednotlivých rodin. Provedení preventivní adnexektomie po 40 letech u nosiček BRCA mutace bylo akceptováno 12 ze 27 (44,4%) zdravých žen a 14 ze 35 (40%) pacientek s nádorem prsu. Profylaktická mastektomie s rekonstrukcí prsů byla provedena u 10 ze 70 (14,3%) zdravých nosiček BRCA mutace a 12 z 50 (24%) pacientek s nádorem prsu. Magnetická resonance prsů je prováděna každoročně u nosiček mutace od 20 let věku.

Klíčová slova: hereditární dispozice k nádorům prsu a ovaria, prevence, preventivní adnexektomie, profylaktická mastektomie

Summary

Prevention in women with hereditary predisposition to breast and ovarian cancer is a complex process where physicians with different specialization participate. The risk of breast cancer is ten times, the risk of ovarian cancer may be thirty times higher than the risk of general population. Genetic testing of BRCA1/2 predisposition genes is routinely done in the Czech Republic. Predictive testing of healthy relatives may prove or exclude the hereditary risk of the disease and direct the special prevention only to the mutation carriers.

In the questionnaire study we examine the psychosocial influence of genetic counselling and testing, evaluate the level of preventive care and the use of prophylactic surgeries.

The high-risk clinic at Masaryk Memorial Cancer Institute follows 387 individuals with proven or suspected hereditary predisposition to cancer, from those are 85 patients, 206 healthy women and 19 men positively tested for BRCA mutations. Prevention follows the recommendations for standard preventive care in carriers, but is individualized according to the specific features of family history. Preventive adnexectomy after 40 years of age was accepted by 12 of 27 (44,4%) of healthy BRCA carriers, 14 of 35 (40%) of patients with breast cancer. Prophylactic mastectomy was carried out in 10 from 70 (14,3%) healthy BRCA carriers and 12 of 50 (24%) patients with breast cancer. Magnetic resonance imaging of breasts is provided to carriers yearly from 20 years of age.

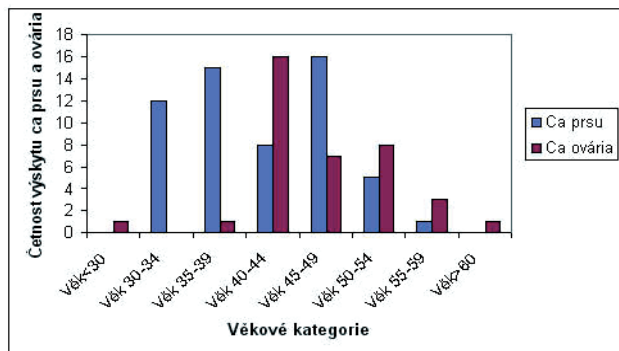
Key words: hereditary predisposition to breast and ovarian cancer, prevention, preventive adnexectomy, prophylactic mastectomy

Úvod

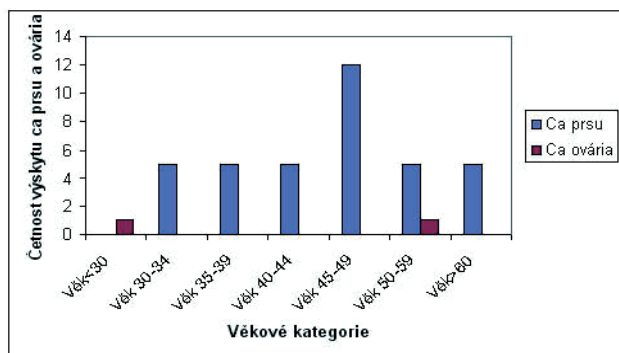
Prevence u žen s dědičnou dispozicí k nádorům prsu a ovaria se významně liší od prevence běžné populace. Začátek preventivního sledování prsů je posunut o 25 let dříve, intervaly kontrol jsou mnohem častější a jsou užívány metody,

kteří se běžně k prevenci nepoužívají (magnetická resonance). Rizika onemocnění u nosiček BRCA1 nebo BRCA2 mutace mnohonásobně převyšují rizika populační a nádorová onemocnění se vyskytují v časnějším věku (v průměru o deset i více let).

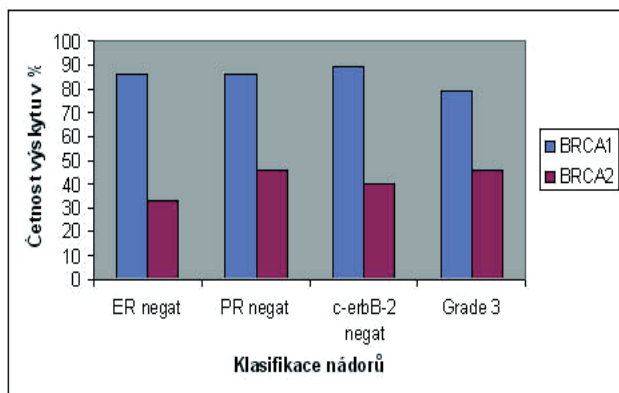
V souboru žen pozitivně testovaných na BRCA1 mutace na Masarykově onkologickém ústavu byl průměrný věk onemocnění karcinomem prsu 41,3 roku (od 32 do 59 let, s mediánem 42 roků, u žen s mutacemi v genu BRCA2 byl průměr i medián 46,5 let (od 30 do 69 let). Karcinom ovaria se u nosiček BRCA1 mutace objevil v průměrném věku 46,1 let (od 29 do 62 let) a polovina žen onemocněla před 46 rokem věku. Nosičky mutace v genu BRCA2 onemocněly nádory ovaria méně často než nosičky BRCA1 genu a jejich průměrný věk byl 41 let. BRCA1 nosičky nejčastěji onemocněly nádorem ovaria mezi 40–44 rokem věku. (Graf 1 a 2). Histologicky se jedná nejčastěji u nosiček BRCA1 i BRCA2 mutace o invazivní duktální nádory prsu, poměrně často se vyskytují lobulární karcinomy především u nosiček BRCA2 mutace (v našem souboru u 31%), naopak u BRCA1 nosiček se ve vysokém procentu objevují medulární karcinomy (20%). Velká část nádorů nosiček BRCA1 mutace má steroidní receptory i c-erbB-2 negativní a vysoký grade. Nosičky BRCA2 mutace mají nádory spíše srovnatelné se sporadickými (Graf 3).



Graf 1: Četnost výskytu ca prsu a ovaria v různých věkových kategoriích u nosiček mutace v BRCA1 genu



Graf 2: Četnost výskytu ca prsu a ovaria v různých věkových kategoriích u nosiček mutace v BRCA2 genu



Graf 3: Steroidní receptory, amplifikace c-erbB2 receptoru, grading u nádorů prsu BRCA1/2 pozitivních žen.

Prevence nádorů prsu a ovaria a dalších typů nádorů se opírá o konsensus odborníků publikovaný v Klinické onkologii v roce 2003 (1).

U zdravých nosiček mutace doporučuje sledování prsů od 21 let s ultrazvukem po půl roce a magnetickou resonancí po roce, mamografie se doporučuje ve věku od 30 let ročně, provádí se i kontroly nádorových markerů, gynekologické kontroly včetně transvaginálního ultrazvuku po půl roce, ultrazvuk břišních orgánů a kožní kontroly po roce. Od 45 let se doporučuje začít prevence nádorů kolorekta pomocí Hemokult testu ročně a po 3 letech provádět kolonoskopii. Vzhledem k vysokým rizikům vzniku nádorů prsu (až 85% do věku 75 let) je možné nabídnout ženám profylaktickou mastektomii s rekonstrukcí pomocí implantátů nebo z vlastní tkáň. Po ukončení reprodukce se doporučuje provedení adnexektomie (ve věku 35–40 let) vzhledem k vysokému riziku nádorů tub a ovarii, které je velmi problematické zachytit včas i při půlročních kontrolách.

V naší dotazníkové studii geneticky testovaných osob jsme se zaměřili na sledování některých psychologických a sociálních faktorů, které mohou být ovlivněny genetickým poradenstvím a testováním, a na úroveň preventivních kontrol u rizikových žen.

Většina vysoce rizikových žen s prokázanou nebo suspektní mutací je preventivně sledována na Masarykově onkologickém ústavu v rizikové onkologické ambulanci, některé ženy jsou však sledovány v místě bydliště.

Metody

V naší studii jsme se dotazovali žen, které podstoupily genetické poradenství a dále se rozhodly pro genetické testování, na některé údaje o jejich psychickém stavu, sociálním postavení a podpoře, na životní styl a preventivní péči. U části žen jsme měli možnost srovnávat některé údaje před i po testování, u části žen jsme pouze získali údaje po testování. Studie dále probíhá.

Ženy vyplňovaly dotazníky „Deprese, Obava z rakoviny, Sociální podpora, Motivace a postoj k testování, Životní styl, Preventivní péče, Preventivní operace“. Tyto dotazníky byly distribuovány testovaným osobám po telefonické informaci a dohodě.

V první fázi dotazníkové akce bylo osloveno 129 osob před testováním, odpověď jsme získali od 82 osob, tj. 63,57%, po testování bylo dotázáno ze 129 osob 98 s novými dotazníky, dosud jsme dostali zpět 62 dotazníků tj. 63,27%. Pouze po testování bylo osloveno 106 osob, od 52 osob (49%) jsme získali zpět dotazník.

V Masarykově onkologickém ústavu byla vytvořena ambulance pro vysoce rizikové jedince s prokázanou nebo předpokládanou hereditární dispozicí k různým typům nádorů. V této ambulanci pracují dva onkologové, dále spolupracují gynekolog, gastroenterolog a jiní specialisté. Ambulance využívá i služeb psychologů MOÚ. Organizace kontrol pacientek, stanovování termínů, konzultace s pacienty je prováděna pro tuto ambulanci onkologickou sestrou, která pracuje na oddělení genetiky. Jelikož většina žen ke kontrolám dojíždí, je snaha všem umožnit podstoupit všechna vyšetření v jeden den.

Výsledky

Dotazníková studie

Při posuzování odpovědí na jednotlivé dotazníky je možné v této pilotní studii hodnotit pouze některé faktory, neboť studie dále pokračuje.

Dotazník „Deprese“, který kvantitativně odhaduje úroveň depresivního stavu, byl hodnocen u 44 testovaných pacientek i zdravých žen jak před tak po testování. Z údajů dotazníků vyplývá, že ke zhoršení skóre deprese došlo pouze u jedné pozitivně testované pacientky z 9 (11%), u 3 ze 6 zdravých osob pozitivně testovaných (50%), ale také u 2 z 25 zdravých osob negativně testovaných s vyloučenou dispozicí (8%).

V dotazníku „Obava z rakoviny“ jak pacientky tak zdravé ženy ve většině případů uvádějí, že vyšetření v prevenci nádorových onemocnění je pro ně velmi psychicky zatěžující. Většina však chce být informována, zda nádorové onemocnění má a vidí velký význam včasného zachytu nádoru. Nesouhlasí s tvrzením, že pokud se vyskytne rakovina, je stejně příliš pozdě na jakoukoliv léčbu.

Jako hlavní důvod k testování uvádí pacientky nejčastěji prevenci u rodinných příslušníků, zdravé ženy svou vlastní prevencí. Jak pacientky tak zdravé ženy věří, že genetické testování jim přinese více kontroly nad tím, zda onemocní rakovinou.

Strach z možné diskriminace díky výsledkům genetického testování nemá 52% patientek a 47% zdravých žen.

Při hodnocení životního stylu byly zajímavé odpovědi týkající se kouření. Před testováním bylo ze 71 respondentek 24% kuřaček, 7 patientek pozitivně testovaných, 7 zdravých žen pozitivně testovaných a 3 pacientky negativně testované. Po testování a vysvětlení rizik přestaly kouřit pouze dvě pacientky, další dvě pacientky a jedna zdravá žena pozitivně testované vyjádřily úmysl přestat kouřit.

V prevenci nádorových onemocnění u zdravých nosičů mutace bylo zjištěno, že 76% má kompletní prevenci v MOÚ, 13% má částečnou prevenci v MOÚ (například gynekologické kontroly v místě bydliště) a kompletní prevenci mimo MOÚ má 5,2% odpovídajících.

U žen s vyloučením dědičné dispozice 50% nemá žádnou prevenci, 38% zůstává v částečném nebo kompletním preventivním sledování v MOÚ.

U zdravých nosiček mutace se 5% rozhodlo pro provedení profylaktické mastektomie, profylaktickou adnexectomií podstoupilo 2,6% žen, obě operace také 2,6%.

Prevence v Masarykově onkologickém ústavu

V MOÚ byla pro účely preventivního sledování vysoce rizikových osob vytvořena riziková ambulance. V této ambulanci je nyní sledováno 387 osob s různou hereditární dispozicí, 50 patientek BRCA pozitivních, 35 patientek BRCA negativních, ale vysoce rizikových, 70 BRCA zdravých nosiček, 136 zdravých žen s vysokým rizikem, ale neprokázanou mutací v rodině, 19 BRCA pozitivně testovaných mužů, 23 žen dosud bez uzavřeného testování a 50 žen netestovaných rizikových.

Preventivní sledování je navrženo podle výše rizika onemocnění. U nosiček mutace jsou ženy sledovány onkologem v půlročních intervalech včetně ultrazvuku prsů, po roce je prováděn mamogram (první mamogram je zkoušen ve 30 letech) a magnetická resonance. Dále jsou půlročně prováděny gynekologické kontroly s transvaginálním ultrazvukem, vyšetření nádorových markerů, ročně ultrazvuk břicha, kožní kontroly, od 40-45 let Hemokult test, od 45 let kolonoskopie po 2-3 letech. Prevence je upravována dle individuálních rizik rodinné anamnézy. Úkolem onkologa i dalších specialistů je také sledovat psychický stav sledované osoby a v případě potřeby navrhnout psychologické vyšetření.

Ženám nosičkám BRCA mutace jsou vysvětleny možnosti primární prevence. Profylaktickou mastektomií a rekonstrukci prsů na plastické chirurgii dosud z našeho souboru podstoupilo 10 ze 70 (14,3%) zdravých žen nosiček BRCA mutace a 12 z 50 (24%) patientek nosiček mutace. Zájem o tuto operaci projevují především ženy s úmrtím příbuzného prvního stupně v mladém věku, kdy je motivace k tomuto preventivnímu zákroku největší.

Preventivní adnexectomie je navrhována nosičkám mutace mezi 35 a 40 rokem věku. Pro tuto operaci se rozhodlo 14 ze 35 (40%) patientek a 12 z 27 (44,4%) zdravých žen starších 40 let. Ženy, které opakovaně odmítají tuto prevenci ve věku nad 40 let, jsou v gynekologické ambulanci požádány o podepsání negativního reversu.

Diskuse

Z pilotního hodnocení dotazníků vyplývá, že informace o průkazu dědičné dispozice u zdravých žen může zhoršit psychický stav a že je vhodné v dalším sledování onkologem nebo gynekologem věnovat psychice pozornost. Ženy jsou o možnosti konzultace s psychologem informovány včetně kontaktního telefonu.

Ženy jsou většinou přesvědčeny, že je možné předcházet nádorům a časná prevence má velký význam, nicméně 15% zdravých žen a 25% onkologicky nemocných by raději o onemocnění rakovinou nechtělo vědět. Pro 60% nemocných a 70% zdravých je preventivní vyšetření stresující záležitostí.

Genetické testování odhaluje lidem nepříznivou prognózu spojenou s několikanásobně vyšší pravděpodobností onemocnění nádory. Každý člověk má individuální schopnost se s tímto rizikem vyrovnat. Je důležité, aby byli jak genetik, onkolog i další specialisté schopni diskutovat psychické a sociální problémy a pomoci je ženám řešit. V tom může být velmi nápomocná i genetická nebo onkologická sestra, která může lékaře na mnohé skutečnosti upozornit.

Hlavní motivace k testování jsou různé, ale ve většině případů se jedná o osobní prevenci (převážně u zdravých žen) nebo o testování nejbližších příbuzných (u patientek). Je potřebné informovat probandku, která se pro testování rozhoduje, jak je důležité předání informací o genetickém výsledku co největšímu počtu příbuzných. Setkali jsme se v naší praxi i s velmi negativním přístupem vůči sdílení informací v rodině daným jednak poruchou komunikace, ale i neschopností sdílet zdravotní informace tohoto typu. Je nutné základní předávání informací přenechat na probandovi, a poučit jej tak, aby mohl jednoduchým způsobem informovat i vzdálenější příbuzné. V naší ambulanci máme k dispozici anonymní informační dopis pro příbuzné s upozorněním na rizika a s postupem objednání na naše genetické pracoviště.

Riziko možné diskriminace na základě genetické informace ze strany zaměstnavatele si zatím uvědomuje pouze 12% zdravých žen. Primární prevence nádorových onemocnění je komplexní záležitost. Všichni testovaní v genetické zprávě dostávají i písemné informace o zdravém životním stylu a riziku kouření. Z naší pilotní studie však vyplývá, že velké procento žen (24%) bylo kuřaček před testováním, přestože věděly, že jejich rodinná anamnéza jim může riziko vzniku nádorů významně zvyšovat. Po ukončení testování a po konzultaci o potřebných preventivních opatřeních včetně rizikovosti kouření však pouze dvě ženy ze 17 kouření ukončily. Je to alarmující zjištění, které připomíná nutnost dalšího vzdělávání žen i v rámci pravidelných kontrol v rizikové ambulanci.

Sekundární prevence je u většiny dotázaných zdravých nosiček mutace zajištěna v MOÚ jako komplexní péče v rámci specializovaných ambulančí.

V nynější době jsou všechny vysoce rizikové ženy vyšetřovány s použitím jak ultrazvuku, tak i magnetické resonance již od 20 let věku, od 30 let (dle typu prsní žlázy) se přidává i mamografie. Podle nejnovějších publikací (2,3) je užítí magnetické resonance významnou pomocí v časně detekci nádorů prsu u nosiček BRCA mutace. Sensitivita magnetické resonance je 79% ve srovnání s 33% u mamografie (4).

Profylaktické operace jsou efektivní primární prevencí u žen s dědičnou dispozicí. Podle studií rizikových žen může být riziko karcinomu prsu po profylaktické mastektomii sníženo o 90% (5,6). Tato operace může zlepšit i kvalitu života žen v riziku (7). Profylaktická adnexectomie může redukovat riziko nádoru ovaria o 90% (8), může však také snížit riziko nádoru prsu o 50% (9).

V našem souboru sledovaných žen na MOÚ se 14% zdravých nosiček BRCA mutace a 24% patientek rozhodlo pro profylaktickou mastektomii s rekonstrukcí na plastické chirurgii, což svědčí pro poměrně vysokou přijatelnost tohoto zákroku. Tyto ženy jsou preventivně sledovány nadále v MOÚ a výsledky pětiletého období budou vyhodnoceny.

Přestože je preventivní adnexektomie jedinou efektivní prevencí karcinomu tub a ovarii, 56% zdravých žen nosiček BRCA mutace starších 40 let se zákrokem z různých důvodů nesouhlasí. Je samozřejmě nutné jejich rozhodnutí respektovat, ale z důvodů právní ochrany gynekologů jsou žádány o podepsání negativního reversu. Prevence pomocí transvaginálního ultrazvuku nemá dostatečnou sensitivitu (10). Jedním z důvodů odmítání operace je strach ze zhoršení kvality života. Pokud jsou ženám nabídnuty mírné dávky hormonální substituce po operaci, je možné zachovat kvalitu života ze cenu menšího snížení rizika nádoru prsu (2).

Závěr:

Genetické vyšetření by mělo být rutinně indikováno u žen se suspekt-ní dědičnou etiologií nádorů prsu nebo ovarii. Testování může zhoršit psychický stav u pozitivně testovaných žen a je vhodné zařadit kontrolu psychického stavu pravidelně do následné prevence. Přes edukaci o škodlivosti kouření se pouze malé procento žen rozhodne pro ukončení kouření po genetickém testování. Stále více rizikových žen využívá v prevenci profylaktických operací, přesto však více jak 50% zdravých nosiček BRCA mutace odmítá profylaktickou adnexectomii ve věku nad 40 let. Preventivní sledování je vhodné směřovat do center, kde je dostupné i magnetická resonance pro prevenci nádorů prsu.

Práce byla podpořena grantem IGA MZČR NR 8022-3

Literatura

1. Bartoňková H, Bartoňková H, Foretová L et al. Doporučené zásady péče o nemocné s nádory prsu a vaječníků a zdravé osoby se zárodečnými mutacemi genů BRCA1 nebo BRCA2. *Klinická onkologie* 2003; 16:28-34.
2. Narod AS, Offit K. Prevention and management of hereditary breast cancer. *J Clin Oncol* 2005. 23; 1656-1663.
3. Vasen HFA, Tesfay E, Boonstra H et al. Early detection of breast and ovarian cancer in families with BRCA mutations. *European Journal of Cancer* 2005. 41; 549-554
4. Kriege M, Brekelmans CTM, Boeters C et al. Efficacy of MRI and mammography for breast-cancer screening in women with a familial or genetic predisposition. *NEJM* 2004. 351; 427-437
5. Fackenthal JD, Olopade OI. Inherited susceptibility to breast and ovarian cancer. *Advances in Oncology* 2000. 16; 10-18
6. Hartmann LC, Schaid DJ, Woods JE et al. Efficacy of bilateral prophylactic mastectomy in women with family history of breast cancer. *N Engl J Med* 1999. 340; 77-84
7. Frost MH, Schaid DJ, Sellers TA et al. Long-term satisfaction and psychological and social function following bilateral prophylactic mastectomy. *JAMA* 2000. 284; 319-324
8. Weber BL, Punzalan C, Eisen A et al. Ovarian cancer risk reduction after bilateral prophylactic oophorectomy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Am J Hum Genet* 2000. 67 (4, suppl 2); 59
9. Rebbeck TR, Levin AM, Eisen A et al. Breast cancer risk after bilateral prophylactic oophorectomy in BRCA1 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 1999. 91; 1475-1479
10. NIH Consensus development panel on ovarian cancer - screening, treatment, and follow-up. *JAMA* 1995. 273; 491-497

PŘÍLOHA Č. 1:

CLAUSŮV MODEL K ODHADU CELOŽIVOTNÍHO KUMULATIVNÍHO RIZIKA VZNIKU NÁDORŮ PRSU U ŽEN S POSITIVNÍ RODINNOU ANAMNÉZOU

Tyto tabulky slouží k jednoduchému zhodnocení celoživotního rizika ženy pro vznik karcinomu prsu podle závažnosti její rodinné anamnézy. Clausovy tabulky neberou v úvahu další faktory, které mohou riziko malignity ovlivnit, například již preexistující benigní onemocnění prsu. Celoživotní kumulativní rizika jsou vyjádřena v procentech. Nalezenou hodnotu je nutné považovat za orientační a srovnat ji s udávaným rizikem žen v populaci. Toto riziko je pro běžnou populaci celoživotně asi 8 %.

TABULKA 1 : Pravděpodobné kumulativní riziko (v%) karcinomu prsu pro ženu, která má příbuzného 1. stupně s diagnózou karcinomu prsu

	Věk v době dg. příbuzného 1. stupně (roky)						
věk ženy (roky)	20 – 29	30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79	
29	0,70	0,50	0,30	0,20	0,20	0,10	
39	2,50	1,70	1,20	0,80	0,60	0,50	
49	6,20	4,40	3,20	2,30	1,80	1,50	
59	11,60	8,60	6,40	4,90	4,00	3,50	
69	17,10	13,0	10,10	8,20	7,00	6,20	
79	21,10	16,5	13,20	11,00	9,60	8,80	

TABULKA 2 : Pravděpodobné kumulativní riziko karcinomu prsu pro ženu, která má příbuzného 2. stupně s diagnózou karcinomu prsu

	Věk v době dg. příbuzného 2. stupně (roky)						
věk ženy (roky)	20 – 29	30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79	
29	0,40	29	0,20	0,10	0,10	0,10	
39	1,40	1,00	0,70	0,60	0,50	0,40	
49	3,50	2,70	2,10	1,70	1,70	1,30	
59	7,00	5,60	4,50	3,80	3,80	3,20	
69	11,00	9,00	7,60	6,70	6,70	5,80	
79	14,20	12,00	10,40	9,40	9,40	8,30	

TABULKA 3 : Pravděpodobné kumulativní riziko karcinomu prsu pro ženu, která má 2 příbuzné 1. stupně s diagnózou karcinomu prsu

	Věk v době dg. 1. příbuzného 1. stupně (roky)												
	20 – 29							30 – 39					
	Věk v době dg. 2. příbuzného 1. stupně (roky)												
věk ženy (roky)	20 – 29	30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79		30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79	
29	2,10	2,00	1,80	1,60	1,40	1,20		1,80	1,60	1,40	1,20	0,90	
39	6,90	6,60	6,10	5,50	4,80	4,10		6,20	5,60	4,80	4,00	3,20	
49	16,60	15,70	14,60	13,30	11,70	9,90		14,80	13,40	11,60	9,60	7,70	
59	29,50	27,90	26,10	23,80	21,00	17,90		26,50	23,90	20,90	17,50	14,30	
69	41,20	39,10	36,60	33,50	29,70	25,80		37,10	33,70	29,60	25,10	20,70	
79	48,40	46,00	43,40	39,70	35,40	30,80		43,70	39,90	35,30	30,20	25,20	

	Věk v době dg. 1. příbuzného 1. stupně (roky)												
	40 – 49					50 – 59				60 – 69			70 – 79
	Věk v době dg. 2. příbuzného 1. stupně (roky)												
věk ženy (roky)	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79		50 – 59	60 – 69	70 – 79		60 – 69	70 – 79		70 – 79
29	1,40	1,20	0,90	0,70		0,90	0,60	0,50		0,40	0,30		0,20
39	4,80	3,90	3,00	2,30		3,00	2,20	1,60		1,60	1,20		0,80
49	11,70	9,60	7,50	5,80		7,50	5,60	4,20		4,10	3,00		2,30
59	21,00	17,40	13,90	10,80		13,80	10,50	8,10		8,00	6,10		4,90
69	29,80	24,90	20,20	16,10		20,00	15,70	12,40		12,20	9,80		8,10
79	35,40	30,00	24,60	20,00		24,50	19,50	15,80		15,60	12,80		10,90

TABULKA 4 : Pravděpodobné kumulativní riziko karcinomu prsu pro ženu, která má matku a její sestru s diagnózou karcinomu prsu

	Věk matky v době dg. (roky)												
	20 – 29							30– 39					
	věk sestry matky v době dg. (roky)												
věk ženy (roky)	20 – 29	30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79		20 – 29	30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79
29	1,90	1,80	1,70	1,60	1,40	1,20		1,80	1,70	1,60	1,40	1,10	0,90
39	6,40	6,20	5,80	5,40	4,70	4,00		6,10	5,80	5,30	4,60	3,90	3,10
49	15,30	14,80	14,10	12,90	11,50	9,80		14,70	13,90	12,80	11,20	9,40	7,60
59	27,30	26,50	25,10	23,20	20,60	17,80		26,20	24,90	22,90	20,30	17,20	14,00
69	38,20	37,10	35,30	32,70	29,30	25,40		36,70	35,00	32,30	28,70	24,60	20,40
79	45,00	43,70	41,70	38,80	34,90	30,50		43,30	41,40	38,30	34,30	29,60	24,80

	Věk matky v době dg. (roky)												
	40 – 49							50– 59					
	věk sestry matky v době dg. (roky)												
věk ženy (roky)	20 – 29	30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79		20 – 29	30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79
29	1,70	1,50	1,30	1,10	0,90	0,60		1,50	1,30	1,10	0,80	0,60	0,40
39	5,70	5,20	4,60	3,80	3,00	2,20		5,10	4,40	3,60	2,80	2,10	1,60
49	13,70	12,50	11,00	9,20	7,30	5,60		12,20	10,70	8,90	7,00	5,30	4,00
59	24,50	22,50	19,90	16,70	13,40	10,60		22,00	19,40	16,20	13,00	10,10	7,80
69	34,40	31,70	28,20	24,00	19,60	15,80		31,10	27,50	23,30	19,00	15,10	12,10
79	40,70	37,70	33,80	28,90	23,90	19,60		36,90	32,90	28,10	23,30	18,80	15,40

	Věk matky v době dg. (roky)												
	60 – 69							70– 79					
	věk sestry matky v době dg. (roky)												
věk ženy (roky)	20 – 29	30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79		20 – 29	30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79
29	1,30	1,00	0,80	0,60	0,40	0,30		1,00	0,80	0,60	0,40	0,30	0,20
39	4,30	3,50	2,70	2,00	1,50	1,10		3,40	2,60	1,90	1,40	1,00	0,80
49	10,40	8,60	6,70	5,10	3,80	2,90		8,20	6,50	4,90	3,60	2,70	2,10
59	18,70	15,70	12,50	9,60	7,50	5,90		15,10	12,10	9,30	7,10	0,56	0,46
69	26,70	22,60	18,30	14,50	11,60	0,94		21,80	17,80	14,10	11,00	9,00	7,70
79	32,00	27,40	22,50	18,20	14,80	12,40		26,40	21,90	17,70	14,30	12,00	10,50

TABULKA 5 : Pravděpodobné kumulativní riziko karcinomu prsu pro ženu, která má matku a sestru otce s diagnózou karcinomu prsu

	Věk matky v době dg. (roky)												
	20 – 29							30– 39					
	věk sestry otce v době dg. (roky)												
věk ženy (roky)	20 – 29	30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79		20 – 29	30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79
29	1,00	0,90	0,80	0,80	0,70	0,70		0,80	0,70	0,60	0,50	0,50	0,50
39	3,30	3,00	2,80	2,60	2,50	2,50		2,60	2,30	2,10	1,90	1,80	1,80
49	8,00	7,30	6,80	6,50	6,30	6,20		6,40	5,70	5,20	4,80	4,60	4,50
59	14,80	13,60	12,70	12,10	11,70	11,50		11,90	10,80	9,70	9,20	8,90	8,60
69	21,40	19,80	18,60	17,80	17,30	17,00		17,60	16,00	14,80	14,00	13,40	13,10
79	26,00	24,10	22,80	21,90	21,40	21,00		25,70	18,50	18,00	17,60	17,00	16,60

	Věk matky v době dg. (roky)												
	40 – 49							50– 59					
	věk sestry otce v době dg. (roky)												
věk ženy (roky)	20 – 29	30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79		20 – 29	30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79
29	0,60	0,50	0,40	0,40	0,40	0,30		0,50	0,40	0,30	0,30	0,20	0,20
39	2,10	1,80	1,60	1,40	1,30	1,20		1,80	1,40	1,20	1,00	0,90	0,90
49	5,30	4,50	4,00	3,60	3,40	3,20		4,50	3,70	3,20	2,80	2,60	2,40
59	10,00	8,70	7,80	7,10	6,80	6,50		8,70	7,40	6,40	5,80	5,40	5,10
69	15,00	13,20	12,00	11,00	10,60	10,20		13,20	11,40	10,10	9,30	8,70	8,40
79	21,60	19,70	15,40	14,40	13,80	13,40		18,70	16,70	15,20	12,30	11,60	11,30

	Věk matky v době dg. (roky)												
	60 – 69							70– 79					
	věk sestry otce v době dg. (roky)												
věk ženy (roky)	20 – 29	30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79		20 – 29	30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79
29	0,40	0,30	0,30	0,20	0,20	0,20		0,40	0,30	0,20	0,20	0,10	0,10
39	1,60	1,20	1,00	0,80	0,70	0,70		1,50	1,10	0,90	0,70	0,60	0,50
49	4,10	3,30	2,70	2,30	2,10	1,90		3,80	3,00	2,40	2,00	1,80	1,60
59	7,90	6,50	5,50	4,90	4,20	4,20		7,40	6,00	5,00	4,40	3,90	3,70
69	12,10	10,30	9,00	8,10	7,60	7,20		11,60	9,70	8,30	7,40	6,80	6,50
79	16,80	14,70	13,20	12,20	10,30	10,00		14,80	12,70	11,20	10,10	9,50	9,20

TABULKA 6 : Pravděpodobné kumulativní riziko karcinomu prsu pro ženu, která má příbuzné 2. stupně ze strany matky i otce s diagnózou karcinomu prsu

	Věk v době dg. 1. příbuzného 2. stupně (roky)												
	20 – 29							30 – 39					
	Věk v době dg. 2. příbuzného 2. stupně (roky)												
věk ženy (roky)	20 – 29	30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79		30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79	
29	0,70	0,60	0,50	0,40	0,40	0,40		0,50	0,40	0,30	0,30	0,30	
39	2,30	2,00	1,70	1,60	1,50	1,40		1,60	1,40	1,20	1,10	1,00	
49	5,70	5,00	4,40	4,00	3,80	3,70		4,20	3,60	3,20	3,00	2,90	
59	10,80	9,50	8,50	7,90	7,50	7,30		8,10	7,10	6,50	6,10	5,80	
69	16,00	14,30	13,00	12,10	11,60	11,30		12,40	11,10	10,20	9,70	9,40	
79	19,90	17,90	16,40	15,50	14,90	14,50		17,90	14,40	13,40	12,80	12,40	

	Věk v době dg. 1. příbuzného 2. stupně (roky)													
	40 – 49					50 – 59					60 – 69			70 – 79
	Věk v době dg. 2. příbuzného 2. stupně (roky)													
věk ženy (roky)	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79		50 – 59	60 – 69	70 – 79		60 – 69	70 – 79		70 – 79	
29	0,30	0,30	0,20	0,20		0,20	0,20	0,20		0,20	0,10		0,10	
39	1,10	1,00	0,90	0,80		0,80	0,70	0,60		0,60	0,50		0,50	
49	3,00	2,60	2,40	2,30		2,20	2,00	1,90		1,80	1,60		1,50	
59	6,10	5,50	5,00	4,80		4,80	4,40	4,10		3,90	3,70		3,40	
69	9,80	8,90	8,30	8,00		8,00	7,40	7,10		6,80	6,50		6,20	
79	12,80	11,80	11,20	10,80		10,80	10,20	9,80		9,50	0,91		8,70	

TABULKA 7 : Pravděpodobné kumulativní riziko karcinomu prsu pro ženu, která má oba příbuzné 2. stupně buď ze strany matky, nebo otce s diagnózou karcinomu prsu

	Věk v době dg. 1. příbuzného 2. stupně (roky)											
	20 – 29							30 – 39				
	Věk v době dg. 2. příbuzného 2. stupně (roky)											
věk ženy (roky)	20 – 29	30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79		30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79
29	1,00	0,90	0,90	0,80	0,70	0,60		1,80	1,60	1,40	1,20	0,90
39	3,30	3,20	3,00	2,80	2,50	2,10		6,20	5,60	4,80	4,00	3,20
49	8,10	7,90	7,50	6,90	6,20	5,40		14,80	13,40	11,60	9,60	7,70
59	14,90	14,50	13,80	12,90	11,60	10,20		26,50	23,90	20,90	17,50	14,30
69	21,60	21,00	20,10	18,80	17,10	15,20		37,10	33,70	29,60	25,10	20,70
79	26.20	25.60	24.50	23.10	21.10	18.90		43,70	39,90	35,30	30,20	25,20

	Věk v době dg. 1. příbuzného 2. stupně (roky)												
	40 – 49					50 – 59				60 – 69			70 – 79
	Věk v době dg. 2. příbuzného 2. stupně (roky)												
věk ženy (roky)	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79		50 – 59	60 – 69	70 – 79		60 – 69	70 – 79		70 – 79
29	0,70	0,60	0,50	0,40		0,50	0,30	0,30		0,20	0,20		0,10
39	2,40	2,00	1,60	1,30		1,60	1,20	1,00		0,90	0,70		0,60
49	6,10	5,20	4,20	3,40		5,20	4,20	3,30		2,60	2,00		1,70
59	11,40	9,80	8,20	6,70		8,10	6,60	5,40		5,30	4,40		3,80
69	16,90	14,70	12,40	10,50		12,40	10,40	8,80		8,70	7,50		6,70
79	20,90	18,40	15,90	13,70		15,80	13,50	11,70		11,60	10,30		9,40

TABULKA 8 : Pravděpodobné kumulativní riziko karcinomu prsu pro ženu, která má jednu nebo dvě příbuzné 1. stupně s diagnózou karcinomu vaječníku

věk ženy (roky)	1 příbuzná s dg. karcinomu vaječníku	2 příbuzné s dg. karcinomu vaječníku	
29	0,20	1,10	
39	1,00	3,70	
49	2,60	9,00	
59	5,40	16,40	
69	8,80	23,60	
79	11,70	28,50	
89	13,50	30,80	

TABULKA 9 : Pravděpodobné kumulativní riziko karcinomu prsu pro ženu, která má jednu příbuznou 1. stupně s dg. karcinomu vaječníku a jednu příbuznou 1.stupně s dg. karcinomu prsu

	věk	příbuzných	(roky)				
věk ženy (roky)	20 – 29	30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69	70 – 79	80 – 89
29	1,70	1,50	1,30	1,00	0,70	0,50	0,40
39	5,70	5,00	4,20	3,40	2,50	1,90	1,40
49	13,60	12,20	10,30	8,20	6,30	4,80	3,60
59	24,40	21,90	18,60	15,10	11,80	9,10	7,20
69	34,30	30,90	26,60	21,80	17,40	13,80	11,20
79	40,60	36,70	31,90	26,50	21,40	17,40	14,40
89	43,40	39,40	34,40	28,80	23,60	19,30	16,30

Příloha č.3
LOKALIZACE KARCINOMU, POPŘ. JINÁ CHARAKTERISTIKA NÁDORU

Poznámka:
U většiny syndromů nebyla prováděna statistická analýza souvislosti určitého typu nádoru s příslušným syndromem

Literatura:

1. Lindor NM, Greene MH, a Mayo Cancer Program. The concise handbook of family cancer syndromes. J Natl Cancer Inst 1998. 90; 1039-71
2. Databáze Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM),
3. Genuardi M. Inherited cancer predisposition. Am J Med Genet 2004. 129C; 1-4

4. Offit K. Clinical Cancer Genetics. Risk Counseling and Management. Wiley-Liss, Inc. New York, 1998

Poděkování:
 Práce byla podpořena grantem MSM 6198959216 a MZO 00209805

PŘÍLOHA Č. 2:

SEZNAM GENETICKÝCH PRACOVÍŠŤ, KTERÁ MOHOU POSKYTNOUT GENETICKÉ PORADENSTVÍ PŘI PODEZŘENÍ NA HEREDITÁRNÍ FORMU NÁDORŮ

V seznamu uveden vedoucí lékař oddělení a jeho e-mailová adresa. K objednání je potřebné napsat pacientovi poukaz k vyšetření s telefonním číslem k objednání. Pacient se může sám ke konzultaci objednat.

Jižní Morava

1. Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů, Masarykův onkologický ústav, Žlutý kopec 7, Masarykova čtvrť, 656 53 Brno, MUDr. Lenka Foretová PhD., Tel. k objednání 543 136 900, 6907, 6901
2. Oddělení lékařské genetiky FN Brno - Dětská nemocnice, Černopolní 9, 662 63 Brno, MUDr. Renata Gaillyová, Tel. k objednání: 545 122 489, 2490
3. Genetická poradna, Nemocnice Jihlava, Vrchlického 59, MUDr. Věra Hořínová, Tel. k objednání 604 415 649.

Severní Morava

1. Genetická ambulance, Kafkova 8, Ostrava 1, 702 00, MUDr. Jan Všetička, , Tel. k objednání: 596 618 917
2. Oddělení lékařské genetiky FN sP, 17. Listopadu 1790, Ostrava-Poruba, 708 56, MUDr. Eva Šilhánová, Tel. k objednání: 596 982 212 (ambulance NsP Havířov, Dělnická 24, Tel. 596 491 464).
3. Ústav lékařské genetiky a fetální medicíny FN a LF UP, I.P. Pavlova 6, Olomouc, 775 20, Prof. MUDr. J. Šantavý, , Tel. k objednání: 585 854 454, 4464

Praha

1. Oddělení lékařské genetiky, Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol, V úvalu 84, Praha 5 - Motol, 151 12, prof. MUDr. P. Goetz CSc., Tel. k objednání na čísle 224 433 564
2. Oddělení lékařské genetiky FTN, Vídeňská 800, Praha 4, 140 59, MUDr. Vladimír Gregor, Tel. k objednání: 261 083 760 (soukromá genetická ambulance Ohmova 271, Praha 10, Tel: 271 961 183)
3. Oddělení lékařské genetiky, Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN Praha, Karlovo náměstí 32, Praha 2, 121 11, prim. MUDr. Jaroslav Kotlas, Tel. k objednání: 224 967 171-2
4. Gennet sro., Kostelní 9, Praha 7, 170 00, MUDr. David Stejskal, z, Tel. k objednání: 222 313 000

Západní a Jižní Čechy

1. Centrum lékařské genetiky, Poliklinika Jih, ul. Matice Školské 17, České Budějovice, 371 02, MUDr. Karel Čutka, Tel. k objednání: 387 730 407
2. Ústav lékařské genetiky FN a LF UK Plzeň, E. Beneše 13, Plzeň, 305 99, prim. MUDr. Ivan Šubrt, Tel. k objednání: 377 490 534
3. Oddělení lékařské genetiky, Nemocnice Č. Budějovice, B. Němcové 54, České Budějovice, 370 87, MUDr. E. Kantorová, Tel. k objednání: 387 873 000
4. Soukromá genetická ambulance s laboratoří, Nepomucká 259/A, Plzeň, 326 00, Doc. MUDr. František Lošan Csc., Tel. k objednání : 377 241 529, 021

Severní a Východní Čechy

1. Oddělení lékařské genetiky, Sokolská 470, Fakultní nemocnice Hradec Králové, 500 05, prim. MUDr. Věra Jüttnerová, Tel. k objednání: 495 832 553
2. Oddělení lékařské genetiky Masarykovy nemocnice, 401 13 Ústí nad Labem, Sociální péče 66, MUDr. Josef Kofer, Tel. k objednání: 475 682 473, 475

PŘÍLOHA Č. 3:

KORELACE LOKALIZACE NÁDORŮ S JEDNOTLIVÝMI SYNDROMY, SOUČÁSTÍ JEJICHŽ KLINICKÉHO OBRAZU JE PREDISPOZICE K NÁDOROVÝM ONEMOCNĚNÍM

MUDr. PAVLÍNA PLEVOVÁ, MUDr. LENKA FORETOVÁ

Lokalizace karcinomu, popř. jiná charakteristika nádoru	Adenomatózní polypóza familiární	Agamaglobulinémie Brutonova typu	Ageneze zubů familiární s predispozicí ke kolorektálnímu karcinomu	Akutní myeloidní leukémie familiární	Ataxia teleangiectasia	Autoimunní lymfoproliferativní syndrom I. typu - syndrom Canale-Smith	Bannayan-Riley-Ruvalcaba syndrom	Bazocelulární névus - Gorlinův syndrom	"Berlin breakage" syndrom	Beckwith-Wiedemannův syndrom	Birt-Hogg-Dubé syndrom	Blackfan-Diamondův syndrom	Bloomův syndrom	"Blue rubber bleb nevus" syndrom	Carneyův syndrom	Chediak-Higashiho syndrom	Chordom familiární	Costello syndrom	Cowdenův syndrom	Cylindromatóza familiární
Adrenokortikální	+								+					+						
Akustický neurinom																				
Anus																				
APUDom																		+		
Bazocelulární, kůže				+				+					+						+	
Biliární	+																			
Cervix uteri													+							
Colon/rectum	+	+	+										+							
Chondrosarkom																				
Chordom					+												+			
Endometrium					+															
Ependyom																				
Feochromocytom																				
Fibrosarkom								+												
Geminální nádor									+											
Gliom				+																
Hepatoblastom	+									+										
Hepatocelulární																				
Hlava, krk																				
Jazyk													+							
Jícen													+							
Karcinoid																				
Larynx													+							
Leiomyom dělohy																				
Leukémie				+	+				+			+	+			+				
Lymfom NHL					+	+			+			+				+				
Močový měchýř																		+		
Morbus Hodgkin						+			+											
Gl. parotis - maligní lymfoepitheliální léze																				+
Meduloblastom	+				+			+						+						
Melanom																				
Meningeom																				
Mezoteliom																				
Mozek - tumor																			+	

Lokalizace karcinomu, popř. jiná charakteristika nádoru	Adenomatózní polypóza familiární	Agamaglobulinémie Brutonova typu	Ageneze zubů familiární s predispozicí ke kolorektálnímu karcinomu	Akutní myeloidní leukémie familiární	Ataxia teleangiectasia	Autoimunní lymfoproliferativní syndrom I. typu - syndrom Canale-Smith	Bannayan-Riley-Ruvalcaba syndrom	Bazocelulární névus - Gorlinův syndrom	"Berlin breakage" syndrom	Beckwith-Wiedemannův syndrom	Birt-Hogg-Dubé syndrom	Blackfan-Diamondův syndrom	Bloomův syndrom	"Blue rubber bleb nevus" syndrom	Carneyův syndrom	Chediak-Higashiho syndrom	Chordom familiární	Costello syndrom	Cowdenův syndrom	Cylindromatóza familiární
Neurinom GIT																				
Neurinom n. optici																				
Neuroblastom								+										+		
Neurofibrosarkom																				
Osteosarkom	+																			
Ovariální							+													
Pankreas, adenoca					+															
Pankreas, ostrůvky																				
Paragangliom																				
Parathyreoidea																				
Pinealoblastom																				
Pituitární															+					
Plíce													+							
Prostatický																				
Prs, ženský					+		+						+						+	
Prs, mužský																				
Renální, "clear cell"											+								+	
Renální, papilární											+									
Renální, nepapilární																				
Renální pánvička																				
Retinoblastom																				
Rhabdoid.tu (ren, CNS)																				
Rhabdomyosarkom																		+		
Sarkom měkkých tkání																				
Sebaceózní žláza																				
Schwanom															+			+		
Spinocelulární (kůže)													+							
Stromální nádory GIT																				
Štítná žláza	+						+								+				+	
Štítná žláza, medulární											+									
Tenké střevo	+																			
Ureter																				
Varle															+		+			
Vulva																				
Wilmsův tumour									+											
Žaludek	+				+															

Lokalizace karcinomu, popř. jiná charakteristika nádoru	Deficit nukleosid fosforylázy	Denys-Drashův syndrom	Duncanův syndrom (X-vázané lymphoproliferativní onemocnění)	Dyskeratosis congenita	Enchondromatóza mnohočetná - Ollierova choroba	Enchondromatóza mnohočetná - Mafucciho syndrom	Epidermodysplasia verruciformis	Ezofagus s tylózou	Fanconiho anémie	Familiární hemihypertrofie	Familiární medulární karcinom štítné žlázy	Gastrointestinální stromální nádory familiární	Gorlinův syndrom	Hereditární karcinom prsu/vaječníků (BRCA1)	Hereditární karcinom prsu/vaječníků (BRCA2)	Hereditární mnohočetný leiomyom s karcinomem z renálních buněk	Hereditární nepolypózní kolorektální karcinom
Adrenokortikální																	
Akustický neurinom																	
Anus								+									
APUDom																	
Bazocelulární, kůže													+				
Biliární																	+
Cervix uteri								+									
Colon/rectum														+	+		+
Chondrosarkom					+	+											
Chordom																	
Endometrium																	+
Ependyom																	
Feochromocytom																	
Fibrosarkom													+				
Germinální nádor																	
Gliom									+								
Hepatoblastom																	
Hepatocelulární									+								+
Hlava, krk									+								
Jazyk									+								
Jícen				+				+	+								
Karcinoid																	
Larynx																	
Leiomyom dělohy																+	
Leukémie									+								
Lymfom NHL	+		+														
Močový měchýř																	+
Morbus Hodgkin																	
Gl. parotis - maligní lymfoepitheliální léze																	
Meduloblastom									+				+		+		
Melanom															+		
Meningeom																	
Mezoteliom																	
Mozek - tumor								+									

Lokalizace karcinomu, popř. jiná charakteristika nádoru	Deficit nukleosid fosforylázy	Denys-Drashův syndrom	Duncanův syndrom (X-vázané lymphoproliferativní onemocnění)	Dyskeratosis congenita	Enchondromatóza mnohočetná - Ollierova choroba	Enchondromatóza mnohočetná - Maffucciho syndrom	Epidermodysplasia verruciformis	Ezofagus s tyložou	Fanconiho anémie	Familiární hemihypertrofie	Familiární medulární karcinom štítné žlázy	Gastrointestinální stromální nádory familiární	Gorlinův syndrom	Hereditární karcinom prsu/vaječníků (BRCA1)	Hereditární karcinom prsu/vaječníků (BRCA2)	Hereditární mnohočetný leiomyom s karcinomem z renálních buněk	Hereditární nepolypózní kolorektální karcinom
Neurinom GIT																	
Neurinom n. optici																	
Neuroblastom																	
Neurofibrosarkom																	
Osteosarkom					+	+											
Ovariální					+	+							+	+	+		+
Pankreas, adenoca				+											+		+
Pankreas, ostrůvky																	
Paragangliom																	
Parathyreoidea																	
Pinealoblastom																	
Pituitární																	
Plíce																	
Prostatický														+	+		
Prs, ženský														+	+		+
Prs, mužský															+		
Renální, "clear cell"																	+
Renální, papilární																+	
Renální, nepapilární																	
Renální pánvička																	+
Retinoblastom																	
Rhabdoid.tu (ren, CNS)																	
Rhabdomyosarkom																	
Sarkom měkkých tkání																	
Sebaceózní žláza																	+
Schwanom																	
Spinocelulární (kůže)				+			+		+								
Stromální nádory GIT												+					
Štítná žláza																	
Štítná žláza, medulární											+						
Tenké střevo																	+
Ureter																	+
Varle																	
Vulva									+								
Wilmsův tumour		+								+							
Žaludek							+							+	+		+

Lokalizace karcinomu, popř. jiná charakteristika nádoru	Hodgkinova choroba familiární	Hyperparathyroidismus - tumor čelisti	Chronická lymfocytární leukémie familiární	Juvenilní polypóza	Karcinoid familiární	Karcinom pankreatu familiární	Karcinom žaludku hereditární difúzní	Klinefelterův syndrom	Kostmanův syndrom	Li-Fraumeni syndrom	LIG4 syndrom	Makrocefalie – cutis marmorata	Melanom familiární	Meningeom familiární	Mnohočetná endokrinní neoplázie I. typu	Mnohočetná endokrinní neoplázie II. typu	Muir-Torre syndrom	Mozkové nádory fossa posterior familiární	Neurofibromatóza I. typu	Neurofibromatóza II. typu	Neurokutánní melanóza	"Nijmegen breakage" syndrom	Oslamův syndrom
Adrenokortikální										+					+								
Akustický neurinom							+												+	+			
Anus																							
APUDom															+								
Bazocelulární, kůže																							
Biliární																							
Cervix uteri																							
Colon/rectum				+													+						
Chondrosarkom																							
Chordom																							
Endometrium																	+						
Ependymom																			+				
Feochromocytom							+								+	+			+				
Fibrosarkom																							
Geminální nádor										+												+	
Gliom										+									+	+			
Hepatoblastom																							
Hepatocelulární																							
Hlava, krk																							
Jazyk																							
Jícen																							
Karcinoid					+										+				+				
Larynx										+							+						
Leiomyom dělohy																							
Leukémie			+					+	+	+	+								+			+	
Lymfom NHL									+	+												+	
Močový měchýř																	+						
Morbus Hodgkin	+										+											+	
Gl. parotis - maligní lymfoepitheliální léze																							
Meduloblastom																							
Melanom										+			+									+	
Meningeom												+		+					+	+			
Mezoteliom																							
Mozek - tumor													+										

Lokalizace karcinomu, popř. jiná charakteristika nádoru	Hodgkinova choroba familiární	Hyperparathyroidismus - tumor čelisti	Chronická lymfocytární leukémie familiární	Juvenilní polypóza	Karcinoid familiární	Karcinom pankreatu familiární	Karcinom žaludku hereditární difúzní	Klinefelterův syndrom	Kostmanův syndrom	Li-Fraumeni syndrom	LIG4 syndrom	Makrocefalie – cutis marmorata	Melanom familiární	Meningeom familiární	Mnohočetná endokrinní neoplázie I. typu	Mnohočetná endokrinní neoplázie II. typu	Muir-Torre syndrom	Mozkové nádory fossa posterior familiární	Neurofibromatóza I. typu	Neurofibromatóza II. typu	Neurokutánní melanóza	"Nijmegen breakage" syndrom	Oslamův syndrom
Neurinom GIT																+							
Neurinom n. optici																			+				
Neuroblastom											+								+			+	
Neurofibrosarkom																			+				
Osteosarkom									+														+
Ovariální									+						+		+						
Pankreas, adenoca						+			+			+											
Pankreas, ostrůvky															+								
Paragangliom																			+				
Parathyreoidea		+													+	+							
Pinealoblastom																							
Pituitární															+								
Plíce									+						+								
Prostatický									+														
Prs, ženský									+								+						
Prs, mužský							+																
Renální, "clear cell"																	+						
Renální, papilární																							
Renální, nepapilární																							
Renální pánvička																							
Retinoblastom							+					+											
Rhabdoid.tu (ren, CNS)																		+					
Rhabdomyosarkom									+										+				
Sarkom měkkých tkání									+										+				
Sebaceózní žláza																	+						
Schwanom														+				+	+				
Spinocelulární (kůže)																							
Stromální nádory GIT																							
Štítná žláza																							
Štítná žláza, medulární															+								
Tenké střevo																	+						
Ureter																							
Varle							+		+														
Vulva																							
Wilmsův tumour											+								+				
Žaludek							+									+							

Lokalizace karcinomu, popř. jiná charakteristika nádoru	Paragangliom hereditární	Perlmanův syndrom	Peutz-Jeghersův syndrom	Prostatický karcinom	Proteus syndrom	Renální karcinom papilární	Renální karcinom nepapilární	Retinoblastom	Rothmund-Thomsonův syndrom	Seckelův syndrom	Schwachman-Bodian-Diamondův syndrom	Simpson-Golabi-Behmeův syndrom	Testikulární karcinom familiární	Trombocytopenie familiární s predispozicí k akutní myeloidní leukémii	Tuberózní skleróza	Turcotův syndrom	Von Hippel-Lindauova choroba	WAGR syndrom	Wernerův syndrom	Wilmsův tumor	Wiskot-Aldrichův syndrom	Xeroderma pigmentosum
Adrenokortikální																						
Akustický neurinom																						
Anus																						
APUDom																	+					
Bazocelulární, kůže									+							+			+			+
Biliární						+													+			
Cervix uteri			+																			
Colon/rectum			+			+										+						
Chondrosarkom								+														
Chordom																						
Endometrium					+																	
Ependymom																						
Feochromocytom	+																+					
Fibrosarkom								+	+													
Geminální nádor										+			+							+		
Gliom																						
Hepatoblastom																						
Hepatocelulární																			+			
Hlava, krk																	+					
Jazyk																						+
Jícen																						
Karcinoid																	+					
Larynx																						
Leiomyom dělohy																						
Leukémie								+		+	+			+					+			+
Lymfom NHL								+		+											+	
Močový měchýř																						
Morbus Hodgkin									+	+											+	
Gl. parotis - maligní lymfoepitheliální léze																						
Meduloblastom																+						
Melanom								+											+			+
Meningeom					+														+			
Mezoteliom					+																	
Mozek - tumor					+			+							+	+						+

Lokalizace karcinomu, popř. jiná charakteristika nádoru	Paragangliom hereditární	Perlmanův syndrom	Peutz-Jeghersův syndrom	Prostatický karcinom	Proteus syndrom	Renální karcinom papilární	Renální karcinom nepapilární	Retinoblastom	Rothmund-Thomsonův syndrom	Seckelův syndrom	Schwachman-Bodian-Diamondův	Simpson-Golabi-Beckwithův syndrom	Testikulární karcinom familiární	Trombocytopenie familiární s predispozicí k akutní myeloidní leukémii	Tuberózní skleróza	Turcotův syndrom	Von Hippel-Lindauova choroba	WAGR syndrom	Wernerův syndrom	Wilmsův tumor	Wiskott-Aldrichův syndrom	Xeroderma pigmentosum
Neurinom GIT																						
Neurinom n. optici					+																	
Neuroblastom										+										+		
Neurofibrosarkom																						
Osteosarkom								+	+										+			
Ovariální			+										+									
Pankreas, adenocarcinom			+			+											+					
Pankreas, ostrůvkový																	+					
Paragangliom	+														+		+					
Parathyreoidea																						
Pinealoblastom								+														
Pituitární																						
Plíce						+																+
Prostatický				+																		
Prs, ženský			+			+													+			+
Prs, mužský																						
Renální, "clear cell"															+		+					
Renální, papilární						+																
Renální, nepapilární							+															
Renální pánvička																						
Retinoblastom								+														
Rhabdoid tumor (ren, CNS)																						
Rhabdomyosarkom																				+		
Sarkom měkkých tkání																			+			+
Sebaceózní žláza																						
Schwannom																						
Spinocelulární (kůže)									+													+
Stromální nádory GIT																						
Štítná žláza															+				+			
Štítná žláza, medulární																						
Tenké střevo			+																			
Ureter																						
Varle			+		+								+									
Vulva																						
Wilmsův tumor		+				+						+			+		+			+		
Žaludek			+			+			+							+			+			+

PŘÍLOHA Č. 4:

„DOPORUČENÍ MAMMOLOGICKÉHO SLEDOVÁNÍ ŽEN V MASARYKOVĚ ONKOLOGICKÉM ÚSTAVU PODLE CELOŽIVOTNÍHO EMPIRICKÉHO RIZIKA ONEMOCNĚNÍ NÁDOREM PRSU“ URČENÉHO PODLE CLAUSOVÝCH TABULEK

(Claus et al., 1994)

1) ženy s rizikem vzniku karcinomu prsu do 10% (nízké riziko)
mají prakticky stejné riziko jako ostatní populace (8%)

- netřeba sledovat. Pokud žena chce být sledována, pak ve věku pod 45 let jako samoplátkyně, ve věku 45 – 69 let zařadit do screeningu

2) ženy s rizikem vzniku karcinomu prsu 10 - 20% (střední riziko)

- 1x ročně klinické vyšetření (event. 1x za 6 měsíců)
- 1x ročně vyšetření pomocí zobrazovacích metod (MG nebo UZ dle charakteru prsní žlázy- metodu určí radiodiagnostik)
- pacientku začít sledovat o 10 let dříve než byl nejčasnější výskyt karcinomu prsu v rodině (Příklad: nejčasnější výskyt v rodině byl u tety ve věku 35 let - začít pacientku sledovat od 25 let věku)

3) pacientky s rizikem vzniku karcinomu prsu víc než 20% nebo s prokázanou mutací BRCA1, BRCA2 genu (vysoké riziko)

- 1x za 6 měsíců klinické vyšetření
- 1x za 6 měsíců vyšetření pomocí zobrazovacích metod (ve věku 30 let pacientky provést startovací MG vyšetření, dle typu žlázy určí radiodiagnostik vhodnou zobrazovací metodu ke sledování pacientky)
- u žen nosiček BRCA1/2 mutace se doporučuje vyšetření magnetickou rezonancí 1x za rok

Claus EB, Risch N, Thompson WD. Autosomal dominant inheritance of early-onset breast cancer. Cancer 1994; 73: 643-651