

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 ovaria (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 ovaria (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 nízce 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 nízce 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 kůži 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 spřažené 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 chromosome13q12- 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, Wiestand 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.