

Radioterapie a radiosenzitivní syndromy u mutací genů reparace DNA

Radiotherapy and radiosensitivity syndromes in DNA repair gene mutations

Lohynská R.^{1,2}, Pechačová Z.², Mazaná E.¹, Čejková J.¹, Nováková-Jirešová A.¹, Hornová J.¹, Langová M.³

¹ Onkologická klinika 1. LF UK a FTN, Praha

² Ústav radiační onkologie, 1. LF UK a FN Bulovka, Praha

³ Oddělení lékařské genetiky FTN, Praha

Souhrn

Východiska: Poškození DNA ionizujícím zářením je hlavním mechanismem účinku radioterapie (RT) a výsledek léčby a poradiační toxicitu zdravých tkání ovlivňuje řada faktorů zevních a vnitřních, mezi které patří i mutace v genech pro reparaci DNA vedoucí k různým poruchám rozpoznávání poškozené DNA a jejich oprav. Poruchy reparace DNA se mohou projevovat zvýšenou citlivostí k onkologické léčbě. **Cíl:** Mechanismus opravy DNA a přehled genetických syndromů s mutacemi genů účastnících se reparace DNA objasňuje urychlenou kancerogenezi a zvýšenou radiosenzitivitu při RT nádorových onemocnění. Většina radiosenzitivních syndromů je autozomálně recesivně dědičná, příkladem jsou ataxia teleangiectasia, Nijmegenský syndrom lomivosti, xeroderma pigmentosum, Cockaynův syndrom, Bloomův syndrom a Wernerův syndrom. **Závěr:** Radioterapie je u většiny homozygotních pacientů s recesivními radiosenzitivními syndromy kontraindikována. Asymptomatické heterozygoty mohou mít zvýšené riziko vzniku nádorů a malá část pacientů i mírně zvýšené riziko intolerance RT, nicméně indikací k RT to nelimituje. Vysoké riziko sekundárních malignit po radioterapii je kontraindikací adjuvantní RT u Li-Fraumeniho syndromu.

Klíčová slova

reparace DNA – radiosenzitivita – radioterapie

Summary

Background: Ionizing radiation DNA damage is the main mechanism of radiotherapy (RT) action and the outcome of treatment and healthy tissue toxicity is influenced by a number of external and internal factors, including mutations in DNA damage recognition and repair. Disorders of DNA repair may result in increased sensitivity to cancer treatment. **Purpose:** The mechanism of DNA repair and an overview of genetic syndromes with mutations in genes involved in DNA repair clarify the accelerated carcinogenesis and increased radiosensitivity in RT cancers. Most radiosensitivity syndromes are autosomal recessively inherited; examples are ataxia teleangiectasia, Nijmegen breakage syndrome, xeroderma pigmentosum, Cockayne syndrome, Bloom syndrome and Werner syndrome. **Conclusion:** Radiotherapy is contraindicated in most homozygous patients with recessive radiosensitivity syndromes. Asymptomatic heterozygotes may have an increased risk of tumor incidence and a small part of them slightly increased risk of RT intolerance; however, this does not limit RT treatment. The high risk of secondary malignancies after radiotherapy is a contraindication to adjuvant RT in Li-Fraumeni syndrome.

Key words

DNA repair – radiosensitivity – radiotherapy

Podpořeno MZ ČR – RVO (Fakultní Thomayerova nemocnice – FTN, 00064190).

Supported by Ministry of Health, Czech Republic – conceptual development of research organization (Thomayer University Hospital, TUH 00064190).

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

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

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

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



MUDr. Radka Lohynská, Ph.D.
Onkologická klinika 1. LF UK a FTN
Videňská 800
140 59 Praha 4
e-mail: radka.lohynska@ftn.cz

Obdrženo/Submitted: 1. 7. 2021

Přijato/Accepted: 11. 8. 2021

doi: 10.48095/ccko2022119

Úvod

V radioterapii se k léčbě používá nejčastěji **ionizující fotonové záření lineárního urychlovače**, které **nepřímo ionizuje** pomocí sekundárních elektronů, jimž předává svou energii. Běžná denní dávka např. při RT pro karcinom prsu je 2 Gy.

Ozáření dávkou 1 Gy nepřímo ionizujícího fotonového záření způsobí v jedné buňce cca 10^5 ionizací, což vyvolá v DNA poškození 1 000 bází, vznik přibližně 1 000 jednovláknových zlomů a zhruba 20–40 dvouvláknových zlomů, což ve výsledku vede ke smrti zhruba jedné třetiny buněk a svědčí o velmi efektivním systému reparace DNA. Za den pak vznikne v důsledku endogenního oxidačního stresu v buňce 10 000 poškození DNA [1]. Dvouvláknové zlomy jsou nejzávažnější poškození DNA a mohou vzniknout primárně po ozáření nebo sekundárně v rámci reparace (např. při replikačním bloku při mezivláknových vazbách v DNA) [1].

Klinický účinek radioterapie na nádor a zdravou tkáň je ovlivněn celou řadou faktorů, které bývají označovány jako vnitřní a zevní [1,2]. **Z vnitřních faktorů** se jedná o **genomické** (mutace genů), **epigenetické** (modifikace histonů, metylace DNA), **transkriptomické** (mRNA, nekódující RNA) a **proteomické** (posttranslační modifikace proteinů) vrozené predispozice.

Zároveň však toxicitu léčby a její účinek na nádor ovlivňují i **zevní faktory**, které jsou závislé: na **léčebné modalitě** (technika radioterapie, druh záření, energie záření, frakcionace, celková doba RT, objemová závislost, konkomitantní i předchozí léčba), na **charakteristikách pacienta** (sociální status, abusus – např. nikotinismus, stav výživy, věk, komorbidity jako diabetes mellitus, anemie, hypertenze, chronická zánětlivá onemocnění, non-revmatoidní artritida, kolagenózy, infekce/imunosuprese, preexistující funkční deficit v ozářených orgánech) nebo na **druhu ozářované tkáně a buněk** (např. hypoxie v nádoru).

Cílem předkládaného sdělení je poskytnout přehled základních mechanismů opravy poškození DNA ionizujícím zářením v souvislosti se syndromy způsobenými mutacemi genů pro proteiny

asociované s reparací DNA, s možností vyšší radiosenzitivity u těchto onemocnění a predispozicemi ke vzniku sekundárních malignit po radioterapii.

Přehled nejčastějších hereditárních syndromů způsobených mutacemi genů reparace DNA a ovlivnění radiosenzitivity poskytuje tab. 1.

Poškození DNA ionizujícím zářením

Interakce záření s hmotou začíná fyzikální fází trvající piko- až nanosekundy, kdy ionizující záření při průchodu tkáněmi předává svou energii ionizací a excitací a interakcí s elektronovými obaly atomů a molekul vznikají nabití ionty, poté následuje **chemická fáze** trvající mikrosekundy a zahrnující vznik reaktivních volných radikálů a atomů a konečně **biologická fáze**, která může trvat milisekundy až roky a představuje odpověď buňky na poškození a jeho reparaci či fixaci změn, které mohou vést ke smrti buňky [1].

V buňce jsou vícečetné kopie většiny molekul (mRNA, proteiny), které mají poměrně krátký poločas existence a jejichž poškození není pro buňku limitující. Oproti tomu DNA je v somatické buňce přítomna pouze ve dvou kopiích, má dlouhý poločas existence a patří k největším molekulám v buňce. Od DNA se odvíjejí všechny procesy v buňce a z hlediska rizika jejího poškození se stává zásadním cílem udržení její plné funkčnosti. Experimenty s cíleným ozařováním buněčné membrány či cytoplazmy alfa částicemi nevedly ke smrti buňky a naopak krátce po ozáření jádra došlo k buněčné smrti; hlavním důvodem smrti buňky po ozáření je poškození DNA v jádře [3].

Buňky mají k dispozici různé způsoby oprav DNA, aby se vypořádaly s poškozením DNA noxami ze zevního i vnitřního prostředí a aby byla udržena stabilita genomu. Prostorová struktura dvoušroubovice DNA s histony vytváří nukleozom a spolu s dalšími proteiny kontrolujícími metabolismus DNA tvoří chromatin, který je dále organizován do jednotlivých chromozomů. Proteiny účastníci se reparace DNA tak musí být přítomny v jádře v dostatečném množství a zároveň být mobilní, aby deteko-

valy poškození během sekund a minut. Složitá struktura DNA a proteinů musí být schopna rychlé remodelace a zpřístupnění dvoušroubovice DNA modifikací histonů v nukleozomu v okolí poškození DNA. Dočasně je během reparace poškození zpomalen buněčný cyklus a jsou zastaveny běžné procesy jako např. transkripce. Během reparace poškození DNA je celý proces monitorován a po dokončení oprav je znovu ustanovena prostorová struktura chromatinu a zahájena transkripce v rámci běžných procesů buňky [1].

Specializované **reparační systémy** slouží k opravě poškození bází (base excision repair – BER), jednovláknových zlomů (single strand break repair – SSB), záměny párů bází (mismatch repair – MMR), excizní reparace nukleotidů (nucleotid excision repair – NER), dvouvláknových zlomů (double strand breaks – DSBR) a mezivláknových vazeb (interstrand cross link repair – ICR). Mutace nebo delece v genech pro BER, SSB a DSBR mohou zvyšovat radiosenzitivitu buněk. Oproti tomu MMR a NER jsou pro reparaci poškození buněk po ozáření méně významné a mutace v těchto genech nezpůsobují vyšší radiosenzitivitu buňky [1].

Mechanismy opravy DNA a genetický podklad syndromů se zvýšenou radiosenzitivitou

Odpověď na poškození DNA zahrnuje tři hlavní fáze [1], na nichž se podílí celá řada proteinů, jejichž mutace mohou přispět k poruše reparace DNA: **1) senzorickou část**; **2) fázi přenosu signálů** a **3) efektorovou část**, která se uskutečňuje třemi hlavními mechanismy: apoptózou (programovaná smrt buňky), regulací kontrolních bodů buněčného cyklu a reparací poškozené DNA.

Senzorická fáze odpovědi buňky na poškození DNA

Na začátku celého procesu stojí rozpoznání poškození DNA. Reparace DNA je vysoce komplexní a koordinovaný systém tvořený více skupinami signálních drah. Prvním stupněm obnovy stability genomu je senzorická fáze – rozpoznání poškození DNA. Hlavní senzorickou úlohu hraje několik skupin pro-

Tab. 1. Přehled nejčastějších hereditárních syndromů způsobených mutacemi genů reparace DNA a ovlivnění radiosenzitivity.

Zkratka genu	Název genu	Onemocnění	Typ dědičnosti	Radio-senzitivita
Rozpoznání poškození DNA a regulace průchodu buněčným cyklem				
<i>ATM</i>	ataxia teleangiectasia mutated gene	ataxia telangiectasia	AR	zvýšená
<i>NBN</i>	nibrin (součást komplexu MRN)	Nijmegen breakage syndrom	AR	zvýšená
<i>MRE 11</i>	MRE 11 (součást komplexu MRN)	ataxia teleangiectasia-like	AR	zvýšená
<i>XRCC5, XRCC6</i>	X-ray repair cross complementing 5 (protein Ku80), X-ray repair cross complementing 6 (protein Ku70)	poruchy vývoje nervové soustavy a imunitního systému	AR	zvýšená
<i>p53</i>	tumor protein p53	Li-Fraumeniho syndrom	AD	není ovlivněna
<i>RB1</i>	retinoblastoma gene 1	retinoblastom	AR	není ovlivněna
<i>APC</i>	adenomatous polyposis coli	familiární adenomatózní polypóza	AD	není ovlivněna
<i>CHEK2</i>	checkpoint kináza 2	zvýšené riziko některých nádorů	AD	není ovlivněna
<i>PTEN</i>	homolog fosfatázy a tenzinu	Cowdenův syndrom	AD	není ovlivněna
Reparace DNA				
<i>BRCA1,2</i>	breast cancer gene 1/2	hereditární karcinom prsu a ovarií	AD	není ovlivněna
<i>PALB2 (FALC-N)</i>	partner a lokalizátor BRCA2	zvýšené riziko některých nádorů	AD	není ovlivněna
<i>DCLRE1C</i>	DNA cross-link repair 1C (endonukláza Artemis)	radiosenzitivní těžký kombinovaný imunodeficit	AR	zvýšená
<i>RNF168</i>	ring finger protein 168	RIDDLE syndrom	AR	zvýšená
<i>RECQL4</i>	recQ helicase-like 4	Rothmund-Thomsonův syndrom	AR	zvýšená
<i>DDX11</i>	ATP-dependentní RNA helikáza	Warsaw breakage syndrom	neznámá	zvýšená
<i>WRN</i>	Werner syndrom, RecQ helicase-like	Wernerův syndrom	AR	neznámá
<i>BLM</i>	Bloom syndrome mutated gene	Bloomův syndrom	AR	zvýšená
<i>XPA, XPB (ERCC3), XPC, XPD (ERCC2) XPE (DDB2), XPF (ERCC4), ERCC6 (CSB)</i>	xeroderma pigmentosum	xeroderma pigmentosum	AR	zvýšená
<i>FANC-A, B, C, F, G, I, M, P (SLX4), R (RAD51)</i>	Fanconiho anemie, komplementační skupina M; (<i>FAAP250</i>); <i>S. cerevisiae</i> , homolog SLX4 (<i>FANCP</i>)	Fanconiho anemie	AR	středně zvýšená
<i>MMR: MLH1,3, MSH 2,6</i>	proteiny spojené s mismatch repair	Lynchův syndrom	AD	není ovlivněna
<i>ERCC1,2 (XPD), ERCC5 (XPG), ERCC6 (CSB)</i>	proteiny asociované s NER	cerebro-oculo-facio-skeletal syndrome	AR	není ovlivněna
<i>ERCC8 (CSA), ERCC6 (CSB)</i>	proteiny asociované s NER	Cockaynův syndrom	AR	mírně zvýšená
<i>MUTYH</i>	mutY homolog (role v BER)	MUTYH-asociovaná polypóza	AR	neznámá
<i>LIG4</i>	ligáza 4	syndrom ligázy 4	AR	zvýšená
<i>PRKDC, XRCC7</i>	DNA-proteinkinázy	kombinované imunodeficiency	AR	zvýšená
<i>XLF</i>	cernunnos (role v NHEJ)	cernunnos/XLF deficiency syndrome	AR	zvýšená

AR – autozomálně recesivní, AD – autozomálně dominantní, BER – excizní reparace bází, NER – excizní reparace nukleotidů, NHEJ – nehomologní spojování konců, MRN – proteinový komplex složený z MRE11, RAD50 a NBN1, RIDDLE – radiosenzitivita, imunodeficit, dysmorfie, poruchy učení (learning difficulties)

Tab. 1 – pokračování. Přehled nejčastějších hereditárních syndromů způsobených mutacemi genů reparace DNA a ovlivnění radiosenzitivity.

Zkratka genu	Název genu	Onemocnění	Typ dědičnosti	Radio-senzitivita
Další geny				
<i>SBDS</i>	Shwachman-Bodian-Diamond (role v biogenezi ribozomů, důležitý pro erytropoézu)	Shwachman-Bodian-Diamondův syndrom	AR	neznámá
<i>PTCH1</i>	patched Drosophila homolog 1 (transmembránový protein, tumor supresorový gen)	Gorlinův syndrom	AD	může být zvýšená, efekt nejasný
<i>WT1</i>	Wilmsův tumor, typ 1 (transkripční faktor)	Wilmsův tumor	AD	může být zvýšená, efekt nejasný
<i>CdLS</i>	skupina genů kohezivního komplexu	Cornelia de Lange syndrom	neznámá	zvýšená
<i>ESCO 2</i>	geny kohezivního komplexu	Robertův syndrom	AR	zvýšená

AR – autozomálně recesivní, AD – autozomálně dominantní, BER – excizní reparace bází, NER – excizní reparace nukleotidů, NHEJ – nehomologní spojování konců, MRN – proteinový komplex složený z MRE11, RAD50 a NBN1, RIDDLE – radiosenzitivita, imunodeficit, dysmorfie, poruchy učení (learning difficulties)

teinových komplexů **MRN** (zkratka názvů komponent: MRE11, RAD50 a NBN1) / **ATM** (ataxia teleangiectasia mutated), **Ku DNA proteinkinázy a ATR** (ATM and RAD3related) / **ATRIP** (ATR interacting protein) **komplex** a **PARP** (polyadenosindifosfát-ribózo-polymeráza) enzymy. Tyto komplexy následně aktivují další proteiny, které vedou ke třem hlavním efektorovým cestám: k regulaci checkpointů buněčného cyklu, DNA reparaci nebo buněčné smrti. Nejzávažnější důsledky po ozáření mají dvouvláknové zlomy, které rozpoznává hlavně MRN komplex, tvořený proteiny MRE11, RAD50 a NBN1 (nibrin). **Proteinový komplex MRN** je při replikaci spojen s chromatinem a rozpoznává změnu struktury DNA při DSB a vede k aktivaci ATM kinázy, která následně aktivuje řadu proteinů (zejména CHEK2, p53 a H2AX proteiny). **ATM** je klíčovým regulátorem buněčné odpovědi na poškození DNA, účastnícím se regulace checkpointů buněčného cyklu, DNA reparace a regulace apoptózy. Homozygotní mutace v genu *ATM* se klinicky projevuje jako onemocnění **ataxia teleangiectasia**, které se manifestuje jako okulokutánní teleangiektázie a cerebelární progresivní ataxie a je spojeno s vysokou radiosenzitivitou [4,5].

Homozygotní mutace v genu pro nibrin (*NBN*) se projevuje jako **Nijmegenický syndrom lomivosti chromozomů (NBS)** s primárním imunodeficitem, vrozenou mikrocefalií, růstovou retardací a častějším výskytem hematologických i solidních malignit (autozomálně recesivní dědičnost). Homozygotní pacienti s NBS mají zvýšenou radiosenzitivitu [4,5].

Mutace komponenty *MRE11* se projevuje jako onemocnění zvané **ataxia teleangiectasia-like**, projevující se pomalou mozečkovou degenerací, rozvojem okulomotorické apraxie i dalšími mozečkovými syndromy; není přítomna teleangiektázie. U tohoto onemocnění je zvýšená radiosenzitivita.

Druhou skupinou mající senzoricickou roli v detekci poškození DNA jsou **proteiny Ku70 a Ku80**, které se vážou ke koncům dvouvláknových zlomů a aktivují Ku DNA proteinkinázy (mají podobnou strukturu a funkci jako ATM). Ku DNA proteinkinázy fosforylují H2AX (varianta histonu H2A, který tvoří jádro nukleozomu, kolem nějž je obalena DNA). Rozsah (vzdálenost) fosforylace H2AX na obě strany kolem DSB je řízen proteinem MDC1 (mediator of DNA damage checkpoint protein 1), který se váže přímo na ATM a fosforylovaný H2AX a mění struk-

туру chromatinu, čímž zpřístupňuje mutaci v DNA dalším reparačním enzymům.

Třetí skupinou kináz, které fosforylují H2AX, jsou **ATR (ataxia teleangiectasia related) proteiny**. Na rozdíl od ATM a Ku DNA PK se nezdá role ATR zásadní v signalizaci DSB po ozáření. Jeho klíčová úloha je však v dalším stupni po aktivaci ATM-MRN komplexu, kdy v důsledku reparace DSB vznikají v okolí četné SSB a ty se reparují pomocí ATR cesty. ATR kináza aktivuje jiné proteiny než ATM účastníci se regulace checkpointů buněčného cyklu (např. CHEK1), DNA reparace a regulace apoptózy.

PARP (poly-adenosindifosfát-ribózo-polymerázy) jsou enzymy katalyzující vznik polymerů ADP-ribózy, které vznikají na chromatinu po poškození DNA. Jsou **dvě velké rodiny PAR polymeráz (PARP1 a PARP2)**, které se účastní rozpoznání poškození DNA a přenosu signálu.

Fáze přenosu signálu – druhá fáze odpovědi buňky na poškození DNA

Druhým stupněm obnovy stability genomu je transduktorová fáze, kdy dochází k přenosu signálu o poškození DNA do efektorové fáze, která vyústí buď k opravě DNA, nebo k apoptóze buňky. Posttranslační úpravy se typicky týkají chromatinu v okolí mutace v DNA.

Aktivace ATM, ATR, DNA-PK (DNA proteinkinázy) a PARP v důsledku poškození DNA vede následně k modifikaci několika tisíc buněčných proteinů. ATM spustí fosforylační kaskádu – fosforyluje se protein pBRCA1, dochází k interakci s proteinem **pRAD51 (RAD51 rekombináza)**, který se účastní oprav dvouřetězcových zlomů DNA procesem homologní rekombinace. Protein pBRCA2 také interaguje s RPA (replikační protein A) komplexem, jehož úlohou je transportovat pRAD51 do místa poškození. Regulace homologní rekombinací (HR) probíhá ovlivněním vazby RAD51 na ssDNA (jednovláknová DNA) v RPA komplexu. Tyto regulační mechanismy řídící pozitivně nebo negativně HR se podílejí také na posttranslačních modifikacích [6,7].

Vrozené poruchy v genech pro reparaci DNA pomocí HR mají souvislost s **predispozicí k nádorům prsu a ovarií i k jiným nádorům (BRCA 1,2, ATM...)** [8], přičemž pro nosiče těchto mutací jsou stanovena doporučení pro prevenci, sledování i profylaktické operační výkony [8,9].

Mutace genu *RAD51* je spojena se vznikem **Fanconiho anemie – komplemen-tární skupiny R**. Při dalších mutacích genů skupiny Fanconiho anemie také vzniká zvýšená citlivost k látkám ovlivňujícím mezivláknové vazby v DNA – buňky s mutacemi ve skupině FA jsou středně radiosenzitivní [5].

Efektorová fáze

Apoptóza (programovaná smrt)

ATM fosforyluje dva hlavní proteiny: produkt tumor supresorového genu **p53** a **MDM2** (homolog mouse double minute 2). Protein p53 se po vazbě na MDM2 inaktivuje, což je normální stav v buňce. Po poškození DNA dochází k fosforylaci p53 a MDM2, čímž se p53 uvolní a může regulovat průchod kontrolními body buněčného cyklu a apoptózu. Protein p53 aktivuje mnoho dalších genů a mezi nimi proapoptotické geny, které u některých buněk mohou vést přímo k apoptóze (pro mnohobuněčný organizmus může být někdy výhodnější zbavit se jedné buňky, než opravovat její poškozenou DNA).

Protein Rb (retinoblastom) vazbou na transkripční faktor E2F inakti-

vuje jeho funkci a blokuje průchod buněčným cyklem. Volný E2F by zvyšoval hladiny cyklinů E a A, čímž by umožnil vstup buňky do S fáze. Pokud je protein Rb fosforylován, což zajišťuje komplex CDK4/6 a cyklinu D1, je zvýšena hladina nevázaného E2F a pokračuje průchod buněčným cyklem. Protein p16 je inhibitor komplexu CDK4/6 a cyklinu D1, čímž znemožní fosforylaci proteinu Rb a zastavuje tak buněčný cyklus v G1 fázi.

Proces reparace DNA, apoptózy a stárnutí buňky ovlivňuje i infekce vysoce rizikovými papilomaviry (human papillomavirus – HPV), které integrují svůj genom do genomu buňky a vedou k expresi proteinů E6 a E7. Protein E6 se váže na p53 a protein BAX, čímž umožní jejich ubiquitizaci a následnou degradaci, a tak znemožní apoptózu. Protein E6 také aktivuje telomerázu (enzym, který hraje roli v replikačním potenciálu buňky – brání zkracování telomer). Po vazbě proteinu E7 na protein Rb se neutlumí produkce transkripčního faktoru E2F, ten pak neomezeně stimuluje tvorbu cyklinu A a cyklinu E, a podílí se tak na pokračování buněčného cyklu a nikoli jeho zpomalení či zastavení v případě nutnosti reparace DNA [10]. Ve snaze regulovat průchod buněčným cyklem je zvýšeně produkován protein p16, avšak jeho vazba na komplex CDK4/6 a cyklin D1 nevede k vazbě proteinu Rb na E2F, neboť protein Rb je vázán virovým proteinem E7, a transkripční faktor E2F tak umožňuje neomezený průchod buněčným cyklem. Tím vzniká genetická nestabilita vedoucí nejen ke zvýšenému výskytu genetických změn a snížení apoptózy, ale v důsledku aktivace telomerázy i k velmi dlouhé životnosti buňky. Všechny tyto změny umožňují vznik nádorové buňky při infekci HPV.

Aktivace kontrolních bodů buněčného cyklu

Druhou hlavní efektorovou dráhou v buňce s poškozenou DNA je aktivace kontrolních bodů buněčného cyklu za účelem zpomalení průběhu buněčného cyklu, což přispěje k vyšší pravděpodobnosti dokončení správné reparace DNA. Průběh buněčného cyklu je regulován cyklin dependentními kinázami (CDK), které jsou aktivní pouze ve vazbě na spe-

cifický cyklin. V G1 fázi je aktivní komplex cyklinD/CDK4, v G2 a M fázi komplex cyklinB/CDK1, v S fázi cyklinA/CDK1 a cyklinA/CDK2. Aktivace kontrolních bodů buněčného cyklu se děje dvěma hlavními cestami: aktivací proteinů, které přímo inhibují komplex cyklin/CDK (např. protein Rb), nebo ovlivněním fosforylace a snížením aktivity CDK (např. p16). Komplex cyklin/CDK vede k fosforylaci jiných proteinů (tím utlumí jejich funkci) a umožní pokračování buněčného cyklu.

Kontrolní body aktivované poškozením DNA jsou čtyři: v G1 fázi, v S fázi a v časně a pozdní G2 fázi.

Kontrolní bod v G1 fázi se účastní regulace rozhodující o tom, zda vůbec buňka zahájí replikaci DNA před buněčným dělením. Kontrolní bod je citlivý na dostatek růstových faktorů a faktorů nutných k replikaci. Přejít z G1 do S fáze je ovlivňován transkripčním faktorem E2F, který umožní transkripci genů zodpovědných za replikaci DNA. E2F je inaktivován vazbou na protein Rb. Tato vazba je zrušena fosforylací proteinu Rb komplexem cyklinD/CDK4 a cyklinE/CDK2.

Poškození DNA s aktivací ATM vede k fosforylaci p53, což uvolní vazbu MDM2 a způsobí aktivaci p53. Protein p53 umožňuje upregulaci mnoha dalších proteinů, mezi nimi inhibitoru CDK proteinu p21 (CDKN1A). P21 inhibuje v G1 fázi komplexy cyklin/CDK, čímž zabrání fosforylaci genu *Rb* a zpomalí/zastaví vstup do S fáze.

Kontrolní bod v S fázi v závislosti na výši aplikované dávky zpomaluje syntézu DNA. Hlavními zúčastněnými proteiny jsou CHEK1 a CHEK2, které ATR a ATM přímo aktivují fosforylací po poškození DNA. CHEK1 a CHEK2 inaktivují CDC25A a CDC25C (fosfatázy, které udržují CDK2 aktivní); ve výsledku se po ozáření sníží aktivita CDK2 a zpomalí se průchod S fázi. Ačkoli je dráha ATM-CHEK2 a ATR-CHEK1 s inhibicí CDC25A/C hlavní způsob zpomalení průchodu S fázi, existuje řada jiných proteinů, které vedou ke stejnému výsledku (např. proteiny BRCA1 a BRCA2 účastní se homologního end-joiningu). To je zároveň příkladem komplexního propojení aktivace kontrolních bodů buněčného cyklu a vlastní reparace DNA.

Časný kontrolní G1 bod je ATM-CHEK2-CDC25A/C dependentní a je aktivován při poškození DNA po ozáření relativně nízkými dávkami (1 Gy) v G2 fázi. Cílem je cyklin B / CDK1 komplex, který se po defosforylaci stává aktivním a zabraňuje vstupu buňky do mitózy.

Pozdní kontrolní G1 bod je aktivován změnami DNA, ke kterým došlo v G1 či S fázi; na rozdíl od časného kontrolního bodu není ATM dependentní, hlavní dráhou je ATR-CHEK1-CDC25A-C.

Většina nádorových buněk má mutace v genech pro aktivaci kontrolních bodů buněčného cyklu G1 a S, což vede k selhání zpomalení či zástavy buněčného cyklu po ozáření a ke genetické instabilitě, která souvisí s progresí kancerogeneze buňky, nemusí však nutně znamenat zvýšenou radiosenzitivitu (např. mutace v genech *p53*, *p21* nebo *Rb* nepůsobují zvýšenou radiosenzitivitu buněk). Naopak mutace v genech řídících kontrolní body v G2 fázi jsou spojeny se zvýšenou radiosenzitivitou [1].

Reparace poškozené DNA

Po detekování poškození DNA se zastaví transkripce a buněčný cyklus a je zahájena oprava DNA. Hlavní reparační dráhy v buňce jsou BER, SSB a DSB. Ionizující záření způsobuje celou řadu poškození bází, jednovláknových zlomů a nejzávažnějších dvouvláknových zlomů. Po ozáření je nejčastější poškození bází a jednovláknových zlomů – mechanismy BER a SSB mají k opravě zhruba 50× více poškození než DSB. Při běžném metabolismu buňky také dochází k poškození DNA oxidativními produkty, jejichž opravy se účastní BER a SSB.

Při BER je odstraněna poškozená báze, toto abazické místo je rozpoznáno apurinovou/aprimidinovou endonukleázou (APE), která jej v DNA vystříhne, a poškozené místo je následně opraveno za účasti DNA polymeráz, XRCC1 (X-ray repair cross-complementing protein) a dalších enzymů.

Po ozáření vznikají komplexnější jednovláknové zlomy DNA než při běžném buněčném metabolismu; konce vláken bývají změněné a je potřeba jejich úprava. Při SSB jsou po detekci jednovláknového zlomu konce DNA upraveny a následně opraveny mechanismy po-

dobnými jako u BER. Neopravené jednovláknové zlomy mohou při mitóze vyústit ve dvouvláknový zlom. Mutace v genech pro BER a SSB mohou působit jen mírnou radiosenzitivitu.

Dvouvláknové zlomy po ozáření jsou reparovány pomocí dvou hlavních mechanismů: homologní rekombinace (HR) a nehomologní spojování konců (non-homologous end-joining – NHEJ). Který z těchto dvou mechanismů bude použit, záleží na struktuře chromatinu a na fázi buněčného cyklu. Oprava HR je mnohem pomalejší než NHEJ. Ve zdravých buňkách obvykle převažuje NHEJ nad dalšími cestami reparační, ale HR se uplatňuje též ve významné míře. Oproti tomu v nádorových buňkách se ve větší míře uplatňují více mutagení alternativní mechanismy DSB, což akceleruje genetickou variabilitu nádorových buněk [11]. Význam spolehlivé homologní rekombinace v praxi dokladuje těžká radiosenzitivita u nosičů homozygotních mutací *ATM*.

NHEJ spojuje dva konce DNA dvouvláknového zlomu. Po navázání Ku70/80 heterodimerů na konce dvouvláknového zlomu se aktivují DNA-proteinkinázy (DNA-PKc). DNA-PKc tvoří rozsáhlý proteinový komplex schopný vytvořit můstek mezi oběma konci v místě dvouvláknového zlomu. Udržuje tak oba konce poblíž sebe, což je nutné pro úspěšnou reparaci DNA. Polynukleotidová kináza, endonukleáza Artemis a polymerázy upravují konce zlomené DNA, aby mohly být spojeny pomocí DNA ligázy 4 a za pomoci proteinů XRCC4 a NHEJ1. Tyto úpravy konců DNA mohou vést ke zkrácení či naopak prodloužení části DNA. NHEJ je jediný reparační mechanismus v G1 fázi a zodpovídá za reparaci 90 % DSB v G2 fázi. Ztráta proteinů účastnících se NHEJ, jako DNA-PKc a ligázy 4 (LIG4), vyúsťuje v těžkou radiosenzitivitu. Další důsledek snížené reparační kapacity buněk je neodpovídavost k frakcionaci – buňky nemohou provést reparaci DNA při frakcionované radioterapii, proto mají pacienti s radiosenzitivními syndromy vyšší akutní a následně i pozdní reakce. Na křivce přežití buněk chybí raménko, hodnota α/β je vysoká. Protože NHEJ se účastní VDJ rekombinace a vzniku protilátek a receptorů

T-buněk, je součástí deficitu NHEJ proteinů kromě radiosenzitivity i těžká imunodeficience.

Mutace genu pro endonukleázu Artemis *DCLRE1C* (DNA cross-link repair 1C) způsobuje *syndrom radiosenzitivního těžkého kombinovaného deficitu*, který se manifestuje od útlého věku těžkými infekcemi z důvodu absence lymfocytů a je asociován se zvýšenou citlivostí buněk k účinku ionizujícího záření [4,12].

Syndrom deficitu LIG4 způsobený mutací genu *LIG4* se projevuje rozvojem těžkého imunodeficitu s poruchami růstu a mikrocefalií, dále psoriázou, teleangiektáziemi a zvýšenou radiosenzitivitou [4,12].

Deficit v syntéze DNA-PKcs při mutacích genů *PRKDC* a *XRCC7* se projevuje těžkými imunodeficity asociovanými s radiosenzitivitou [13].

Homologní rekombinace používá jako vzor neporušenou homologní kopii DNA, vzhledem k tomu je reparační bez chyb, uplatňuje se v S fázi a G fázi buněčného cyklu. Na koncích zlomů DNA je za pomoci komplexu MRN a proteinů Exol vytvořena jednovláknová část v oblasti zlomu, na ni se naváže protein RPA a dojde k vyhledání komplementární části sesterské chromatidy. Tohoto procesu vyhledávání se účastní proteiny RAD51, XRCC a BRCA2. Mutace v genech pro tyto proteiny vedou k poruše reparační HR. Dalšího kroku při vyhledávání a „rozmotání“ komplementární části sesterské chromatidy se účastní helikázy. Helikázy hrají velmi důležitou roli v DNA reparaci, kdy se vážou na DNA, rozplétají a oddělují od sebe obě vlákna DNA rozrušením vodíkové vazby za pomoci ATP. Helikázy se mohou vázat a remodelovat i RNA. V lidských buňkách byly popsány desítky helikáz a nejvýznamnějším typem helikáz je RECQ DNA. V lidském genomu je pět genů pro RECQ helikázy: *RECQ1* [14], *BLM (RECQ2)* [15], *WRN (RECQ3)* [16], *RECQ4 (RTS)* a *RECQ5* [17]. Významná biologická role RECQ helikáz v DNA reparaci je spojena se závažnými dědičnými onemocněními: Bloomovým syndromem (gen *BLM*), Wernerovým syndromem (gen *WRN*) a Rothmund-Thomsonovým syndromem (gen *RECQ4*). Tato genetická onemocnění jsou spojena

s vyšším výskytem nádorových onemocnění, předčasným stárnutím, imunodeficitem, mentální retardací a chromozomální nestabilitou [18–19].

Další nemoci spojené s deficientní funkcí helikáz jsou xeroderma pigmentosum (helikáza *ERCC3* – excision repair cross complementing gen kódující protein XPB), Cockaynův syndrom (mutace v genu *ERCC8* = CSA nebo genu *ERCC6* = CSB) [20] a trichothiodystrofi (gen *ERCC2* nebo *ERCC3*). Mutace v helikáze Pif1 je spojena s predispozicí ke karcinomu prsu [21]. Mutace v genu pro senataxin (*SetX*) s RNA helikázovou aktivitou způsobuje juvenilní amyotrofickou laterální sklerózu typu 4 [22] a ataxii s okulometrickou apraxií 2 [23]. Helikázy mají kromě role v replikaci (*PcrA1*), reparaci (*XPB*, *WRN*) a rekombinaci DNA (*BLM*, *Rho*) i další aktivity v transkripci (*Rho*, *TFIIH*, *RECQL5*), translaci (*Vasa*), remodelaci chromatinu (*RAD54*, *ATRX*, *BLM*), udržování telomer (*Pif1*, *WRN*, *BLM*, *FANC*) a v maturaci Okazakiho fragmentů (*Pif1*, *WRN*) [24].

Fáze S a G2 patří díky homologní rekombinaci k radiorezistentním fázím buněčného cyklu.

Homologní rekombinace se podílí i na reparaci mezivláčkových cross-linků (interstand crosslinks – ICL). Skupina proteinů Fanconio anemie (*FANC-A*, *-B*, *-C*, *-E*, *-F*, *-G*, *-L*, *-M*) se podílí na ICL, ubikvitinuje *FANC-D2* a *FANC-I*, které dále působí na proteiny *FANC-D1*, *-J*, *-N*, jež odstraní mezivláčkovou vazbu a dosyntetizují DNA kolem zlomu. Komplexy proteinů účastníci se HR reparační jsou *BRCA2/FANC-D1* a *RAD51/FANC-O*. Pacienti s Fanconio anemií mají aplazii kostní dřeně a sklon ke vzniku akutní myeloidní leukemie. Při mutacích genů skupiny Fanconio anemie vzniká zvýšená citlivost k látkám způsobujícím mezivláčkovou vazbu v DNA a zároveň jsou buňky s mutacemi ve skupině FA středně radiosenzitivní.

Nosiči zárodečné mutace *BRCA1,2* mají zvýšené riziko vzniku nádorů, zvláště nádorů prsu a ovarií, klinicky nebyla zvýšená radiosenzibilizace prokázána (zdravé buňky na rozdíl od nádorových mají jednu alelu genu *BRCA* funkční). Radiosenzitivita není zvýšena ani u mutací genu *PALB2* (partner and localizer

of *BRCA2*, *FANCN*). Ten kóduje DNA paračnický protein, který je součástí endogenního multiproteinového komplexu *BRCA2*. Společně s proteiny *BRCA1* a *BRCA2* se *PALB2* podílí na opravách DSB [25]. PARP inhibitory blokují SSB, který se podílí na závěru HR při reparaci DSB.

Další syndromy způsobené mutacemi v genech asociovaných s reparací DNA, u nichž je zároveň zvýšená radiosenzitivita, jsou tzv. Warsaw breakage syndrom (mutace genu *DDX11* pro DNA helikázu) nebo syndrom Cernunnos [5].

Mismatch repair opravuje špatně spárované nukleotidy a skládá se ze čtyř základních kroků: rozpoznání chyby, excize, resyntézy a ligace. Klinicky se mutace v genech pro MMR neprojevuje zvýšenou radiosenzitivitou při samotné radioterapii, ale kombinace derivátu uracilu a radioterapie je spojena se zvýšenou radiosenzitivitou buňky. Dále jsou buňky citlivé na chemoterapii s cisplatinou a temozolomidem. MMR deficientní buňky nesou zvýšené množství dalších mutací (vysoká mutační nálož), což je spojeno se zvýšenou produkcí antigenů a odpovědí na imunoterapii.

NER se podílí na opravách poškození DNA např. UV zářením (tymidinové dimery a DNA můstky po cisplatině) a účastní se ho např. protein *ERCC1* a proteiny skupiny XP, které mutaci odstraní a DNA polymeráza doplní a restauruje DNA helix. Mutace genů *NER* mají značnou fenotypovou variabilitu a různé mutace stejných genů mohou působit odlišné nozologické jednotky (xeroderma pigmentosum, Cockaynův syndrom, Fanconio anemie) a naopak fenotypově stejné nemoci mohou být způsobeny různými mutacemi (*XPB*, *XPD*, *XPG*, *ERCC1* a *XPF*). Porušení funkce genů *NER* není většinou spojeno se zvýšenou radiosenzitivitou, závisí na typu jednotlivých mutací [26].

Důležitou roli hrají též proteiny asociované s kohezí chromatid – **koheziny**, které drží sesterské chromatidy pohromadě od replikace DNA až do anafáze buněčného cyklu; mutace v těchto genech mohou způsobovat některé vzácné se vyskytující syndromy s vyšší radiosenzitivitou – syndrom Cornelia de Lange (*CdLS*) nebo Robertův syndrom [5].

Zvýšená radiosenzitivita bývá dále pozorována u RIDDLE syndromu – název je složen ze základních symptomů: radiosenzitivita, imunodeficit, dysmorfie, poruchy učení (learning difficulties) [5]. Tento syndrom je způsoben mutací genu *RNF168*, který je součástí reparační DNA poškození asociovaného s ubikvitinovou signální dráhou. Dědičnost je autozomálně recesivní.

Predispozice pro sekundární malignity po radioterapii

Genetické podklady vyššího rizika vzniku nádorů po aplikaci ionizujícího záření byly sledovány u skupin dětských i dospělých pacientů. I v rámci syndromů se zvýšenou radiosenzitivitou jsou účinky ionizujícího záření pouze jedním z více rizikových faktorů podílejících se na vzniku nádorové transformace buněk.

U dětských pacientů bylo identifikováno několik podskupin pacientů, u nichž jsou pozorovány zvýšené predispozice ke vzniku sekundárních malignit v ozařovaném poli [5,27]. Jedná se o pacienty s retinoblastomou, u kterých vznikají sarkomy měkkých tkání, dále pacienti s neurofibromatózou typu I, u nichž dochází ke vzniku sekundárních tumorů v souvislosti s radiační léčbou gliomů. Dalšími skupinami jsou pacienti s Li-Fraumenio syndromem, u nichž vznikají sekundární nádory po radioterapii ve zvýšené míře, nebo pacienti s Gorlinovým syndromem, u kterých byla pozorována vyšší četnost vzniku bazaliomů v ozařovaném poli [5,27].

U dospělých pacientů je sledován vznik sekundárních malignit po radioterapii u celé řady onemocnění, genetické predispozice byly zkoumány ve větší míře u karcinomu prsu. Zastoupení homozygotů radiosenzitivních syndromů je velmi vzácné a radioterapie je kontraindikována [1]. Heterozygotní nosiči těchto autozomálně recesivních genů mohou tvořit již významnější počet, zhruba kolem 5 % populace. Heterozygotní nosiči *ATM* mutací mají přibližně dvojnásobně zvýšené riziko sekundárního karcinomu prsu po expozici ionizujícímu záření, zvýšená incidence nádorů v kontralaterálním prsu po RT se vyskytla ve vnitřních kvadrantech na

rozdíl od neozářených nosiček, kde byl výskyt duplicit nižší a dominoval výskyt v zevních kvadrantech [28], vliv dalších predisponujících genů (*BRCA1,2*, *CHEK2*) na indukci nádorů ionizujícím zářením je zřejmě výrazně menší [5,29]. Navzdory mírně zvýšené radiosenzitivitě buněčných linií u heterozygotů [30–33] není v klinické praxi jasná korelace zvýšené toxicity radioterapie u heterozygotů radiosenzitivních nádorů [34,35].

Byly publikovány zvýšené poradiační reakce u některých heterozygotních pacientů s radiosenzitivními syndromy [36–38] a teoreticky je předpokládána i vyšší odpověď nádoru [39]. U Li-Fraumeniho syndromu je doporučeno upřednostnit v preventivní péči magnetickou rezonanci [40,41]. U zdravých heterozygotů *ATM* je doporučeno se při screeningových a jiných vyšetřeniích vyvarovat zobrazovacích metod využívajících ionizující záření [42]. Dle doporučení Americké společnosti pro klinickou onkologii a Americké společnosti pro radiační onkologii je jediná skupina pacientů s omezením indikace radioterapie u prokázané germinální mutace *p53*. U pacientů s Li-Fraumeniho syndromem s karcinomem prsu je doporučena mastektomie místo konzervativního operačního výkonu bez adjuvantní RT, výjimkou v indikaci RT jsou pacienti s významným rizikem lokoregionální recidivy [43–45].

Genetické předpoklady vyšší radiosenzitivity zůstávají nadále předmětem výzkumu, a je-li k radioterapii indikován pacient s mutací v genech asociovaných s radiosenzitivními syndromy, je vhodné před zahájením léčby ověřit vliv změny funkce mutovaného genu např. v databázi OMIM [46] a vyloučit asociaci se zvýšenou radiosenzitivitou.

Literatura

- Joiner MC, van der Kogel A. Basic clinical radiobiology. CRC Press/Taylor & Francis Group 2019.
- Lohynská R. Časový faktor v radikální radioterapii nádorů hlavy a krku. 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy; Praha 2007.
- Munro TR. The relative radiosensitivity of the nucleus and cytoplasm of Chinese hamster fibroblasts. *Radiat Res* 1970; 42(3): 451–470.
- Chistiakov DA, Voronova NV, Chistiakov PA. Genetic variations in DNA repair genes, radiosensitivity to cancer and susceptibility to acute tissue reactions in radiotherapy-treated cancer patients. *Acta Oncol* 2008; 47(5): 809–824. doi: 10.1080/02841860801885969.
- Bouffler SD. Evidence for variation in human radiosensitivity and its potential impact on radiological protection. *Ann ICRP* 2016; 45(1 Suppl): 280–289. doi: 10.1177/0146645315623158.
- Filippo JS, Sung P, Klein H. Mechanism of eukaryotic homologous recombination. *Annu Rev Biochem* 2008; 77(1): 229–257. doi: 10.1146/annurev.biochem.77.061306.125255.
- Krejci L, Altmanova V, Spirek M et al. Homologous recombination and its regulation. *Nucleic Acids Research* 2012; 40(13): 5795–5818. doi: 10.1093/nar/gks270.
- Petráková K, Paláčová M, Schneiderová M et al. Hereditary breast and ovarian cancer syndrome. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 1): S14–S21. doi: 10.14735/amko2016S14.
- Zikán M. Gynekologická prevence a gynekologické aspekty péče u nosiček mutací genů *BRCA1* a *BRCA2*. *Klin Onkol* 2016; 29 (Suppl 1): S22–S30. doi: 10.14735/amko2016S22.
- Šlampa P, Smilek P. Nádory hlavy a krku. Praha: Mladá Fronta 2016.
- Baumann M, Krause M, Cordes N et al. Molecular radio-oncology. Berlin: Springer 2016.
- O'Driscoll M, Gennery AR, Seidel J et al. An overview of three new disorders associated with genetic instability: LIG4 syndrome, RS-SCID and ATR-Seckel syndrome. *DNA Repair (Amst)* 2004; 3(8–9): 1227–1235. doi: 10.1016/j.dnarep.2004.03.025.
- Yue X, Bai C, Xie D et al. DNA-PKcs: A multi-faceted player in DNA damage response. *Front Genet* 2020; 11: 607428. doi: 10.3389/fgene.2020.607428.
- Seki M, Miyazawa H, Tada S et al. Molecular cloning of cDNA encoding human DNA helicase Q1 which has homology to *Escherichia coli* Rec Q helicase and localization of the gene at chromosome 12p12. *Nucleic Acids Res* 1994; 22(22): 4566–4573. doi: 10.1093/nar/22.22.4566.
- Ellis NA, Groden J, Ye TZ et al. The Bloom's syndrome gene product is homologous to RecQ helicases. *Cell* 1995; 83(4): 655–666. doi: 10.1016/0092-8674(95)90105-1.
- Yu CE, Oshima J, Fu YH et al. Positional cloning of the Werner's syndrome gene. *Science* 1996; 272(5259): 258–262. doi: 10.1126/science.272.5259.258.
- Kitao S, Ohsugi I, Ichikawa K et al. Cloning of two new human helicase genes of the RecQ family: biological significance of multiple species in higher eukaryotes. *Genomics* 1998; 54(3): 443–452. doi: 10.1006/geno.1998.5595.
- Yu CE, Oshima J, Wijsman EM et al. Mutations in the consensus helicase domains of the Werner syndrome gene. *Werner's Syndrome Collaborative Group. Am J Hum Genet* 1997; 60(2): 330–341.
- Kitao S, Shimamoto A, Goto M et al. Mutations in *RECQL4* cause a subset of cases of Rothmund-Thomson syndrome. *Nat Genet* 1999; 22(1): 82–84. doi: 10.1038/8788.
- Wilson BT, Lochan A, Stark Z et al. Novel missense mutations in a conserved loop between ERCC6 (CSB) helicase motifs V and VI: insights into Cockayne syndrome. *Am J Med Genet A* 2016; 170(3): 773–776. doi: 10.1002/ajmg.a.37501.
- Chisholm KM, Aubert SD, Freese KP et al. A genome-wide screen for suppressors of Alu-mediated rearrangements reveals a role for PIF1. *PLoS One* 2012; 7(2): e30748. doi: 10.1371/journal.pone.0030748.
- Bennett CL, Dastidar SG, Ling SC et al. Senataxin mutations elicit motor neuron degeneration phenotypes and yield TDP-43 mislocalization in ALS4 mice and human patients. *Acta Neuropathol* 2018; 136(3): 425–443. doi: 10.1007/s00401-018-1852-9.
- Choudhry TN, Hilton-Jones D, Lennox G et al. Ataxia with oculomotor apraxia type 2: an evolving axonal neuropathy. *Pract Neurol* 2018; 18(1): 52–56. doi: 10.1136/pract-neurol-2017-001711.
- Raney KD, Byrd AK, Aarattuthodiyil S. Structure and mechanisms of SF1 DNA helicases. *Adv Exp Med Biol* 2013; 767: 17–46. doi: 10.1007/978-1-4614-5037-5_2.
- Janatová M, Borecká M, Soukupová J et al. *PALB2* jako další kandidátní gen pro genetické testování u pacientů s hereditárním karcinomem prsu v České republice. *Klin Onkol* 2016; 29(Suppl 1): 31–34. doi: 10.14735/amko2016S31.
- Ferri D, Orioli D, Botta E. Heterogeneity and overlaps in nucleotide excision repair disorders. *Clin Genet* 2020; 97(1): 12–24. doi: 10.1111/cge.13545.
- Kleinerman RA. Radiation-sensitive genetically susceptible pediatric sub-populations. *Pediatr Radiol* 2009; 39(Suppl 1): S27–S31. doi: 10.1007/s00247-008-1015-6.
- Bernstein JL, WECARE Study Collaborative Group, Concannon P. ATM, radiation, and the risk of second primary breast cancer. *Int J Radiat Biol* 2017; 93(10): 1121–1127. doi: 10.1080/09553002.2017.1344363.
- Goldgar DE, Healey S, Dowty JG et al. Rare variants in the ATM gene and risk of breast cancer. *Breast Cancer Res* 2011; 13(4): R73. doi: 10.1186/bcr2919.
- Guogytte K, Plietskiene A, Ladygiene R et al. Assessment of correlation between chromosomal radiosensitivity of peripheral blood lymphocytes after in vitro irradiation and normal tissue side effects for cancer patients undergoing radiotherapy. *Genome Integr* 2017; 8: 1. doi: 10.4103/2041-9414.198907.
- De Ruyck K, Van Eijkeren M, Claes K et al. Radiation-induced damage to normal tissues after radiotherapy in patients treated for gynecologic tumors: association with single nucleotide polymorphisms in *XRCC1*, *XRCC3*, and *OGG1* genes and in vitro chromosomal radiosensitivity in lymphocytes. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 62(4): 1140–1149. doi: 10.1016/j.ijrobp.2004.12.027.
- Djuzenova CS, Rothfuss A, Oppitz U et al. Response to X-irradiation of Fanconi anemia homozygous and heterozygous cells assessed by the single-cell gel electrophoresis (comet) assay. *Lab Invest* 2001; 81(2): 185–192. doi: 10.1038/labinvest.3780226.
- Djuzenova C, Flentje M, Plowman PN. Radiation response in vitro of fibroblasts from a fanconi anemia patient with marked clinical radiosensitivity. *Strahlenther Onkol* 2004; 180(12): 789–797. doi: 10.1007/s00066-004-1250-1.
- Palumbo E, Pioletto C, Calura E et al. Individual radiosensitivity in oncological patients: linking adverse normal tissue reactions and genetic features. *Front Oncol* 2019; 9: 987. doi: 10.3389/fonc.2019.00987.
- Burger S, Schindler D, Fehn M et al. Radiation-induced DNA damage and repair in peripheral blood mononuclear cells from Nijmegen breakage syndrome patients and carriers assessed by the Comet assay. *Environ Mol Mutagen* 2006; 47(4): 260–270. doi: 10.1002/em.20202.
- Ostendorf BN, Terwey TH, Hemmati PG et al. Severe radiotoxicity in an allogeneic transplant recipient with a heterozygous ATM mutation. *Eur J Haematol* 2015; 95(1): 90–92. doi: 10.1111/ejh.12400.
- Siráč I, Šinkorová Z, Šenkeříková M et al. Hypersensitivity to chemoradiation in *FANCA* carrier with cervical carcinoma – a case report and review of the literature. *Rep Pract Oncol Radiother* 2015; 20(4): 309–315. doi: 10.1016/j.rpor.2014.11.006.
- Borg MF, Oliver IN, Hill MP. Rothmund-Thomson syndrome and tolerance of chemoradiotherapy. *Australas Radiol* 1998; 42(3): 216–218. doi: 10.1111/j.1440-1673.1998.tb00496.x.
- Ma J, Setton J, Morris L et al. Genomic analysis of exceptional responders to radiotherapy reveals somatic mutations in ATM. *Oncotarget* 2017; 8(6): 10312–10323. doi: 10.18632/oncotarget.14400.
- Villani A, Shore A, Wasserman JD et al. Biochemical and imaging surveillance in germline TP53 mutation carriers

with Li-Fraumeni syndrome: 11 year follow-up of a prospective observational study. *Lancet Oncol* 2016; 17(9): 1295–1305. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30249-2.

41. Foretová L, Stěrba J, Opletal P et al. Li-Fraumeni syndrome – a proposal of complex prevention care for carriers of TP53 mutation with total-body MRI. *Klin Onkol* 2012; 25(Suppl 1): S49–S54.

42. Jerzak KJ, Mancuso T, Eisen A. Ataxia-telangiectasia gene (ATM) mutation heterozygosity in breast cancer:

a narrative review. *Curr Oncol* 2018; 25(2): e176–e180. doi: 10.3747/co.25.3707.

43. Heymann S, Delalogue S, Rahal A et al. Radio-induced malignancies after breast cancer postoperative radiotherapy in patients with Li-Fraumeni syndrome. *Radiat Oncol* 2010; 5: 104. doi: 10.1186/1748-717X-5-104.

44. Tung NM, Boughey JC, Pierce LJ et al. Management of hereditary breast cancer: American Society of Clinical Oncology, American Society for Radiation Oncology, and So-

ciety of Surgical Oncology Guideline. *J Clin Oncol* 2020; 38(18): 2080–2106. doi: 10.1200/JCO.20.00299.

45. Trombetta MG, Dragun A, Mayr NA et al. ASTRO radiation therapy summary of the ASCO-ASTRO-SSO guideline on management of hereditary breast cancer. *Pract Radiat Oncol* 2020; 10(4): 235–242. doi: 10.1016/j.prro.2020.04.003.

46. Online Mendelian Inheritance in Men. [online]. Available from: <https://omim.org>.