

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Dědičné nádorové systémy u člověka

Vedoucí diplomové práce: Ing. *et* Ing. Božena Hosnedlová, Ph.D.
Autor diplomové práce: Lenka Říhová

České Budějovice, 2016

Prohlášení:

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

Datum:

Podpis studenta:

PODĚKOVÁNÍ:

Tímto bych ráda poděkovala vedoucí mé bakalářské práce, Ing. *et* Ing. Boženě Hosnedlové, Ph.D., za její cenné rady, informace a připomínky, které mi v průběhu vypracovávání této bakalářské práce poskytla.

ABSTRAKT

Předmětem bakalářské práce bylo zpracovat přehled nádorových syndromů u člověka. Práce je zaměřena na některé významné geny, jež způsobují predispozici k nádorovému onemocnění. Studovány byly tyto geny: *BRCA1*, *BRCA2*, *BLM*, *ATM*, *PAL2*, rodina genů *RAD51*, *CHEK2*, *TP53*, *MSH2*, *MLH1*, *Rb1*, *CDK4*, *CDKN2A*, *APC*. Jsou zde také uvedeny někteří hlavní zástupci dědičných nádorových syndromů se zaměřením na symptomy a dlouhodobé sledování nemoci. Popsány byly tyto nemoci: Ataxia-teleangiectasia, Bloomův syndrom, Syndrom Li-Fraumeni, familiární adenomatózní polypóza a syndrom hereditárního karcinomu prsu a ovarií. Práce se také zabývá metodami detekce mutací v rámci genetické diagnostiky, kde hraje důležitou roli zejména sekvenování nové generace.

Klíčová slova: dědičný nádorový syndrom, Familiární adenomatózní polypóza, Syndrom hereditárního karcinomu prsu a ovarií, Syndrom Li-Fraumeni, Ataxia-teleangiectasia, nádorová diagnostika, tumor supresorový gen

ABSTRACT

The subject of this thesis is an overview of cancer syndromes in humans. The thesis focuses on some of the major genes that cause a predisposition to cancer. These genes were studied: *BRCA1*, *BRCA2*, *BLM*, *ATM*, *PAL2*, *RAD51* paralogs, *CHEK2*, *APC*, *TP53*, *MSH2*, *MLH1*, *Rb1*, *CDK4*, *CDKN2A*. There are also presented some major representatives of hereditary cancer syndromes with a focus on the symptoms and long-term monitoring of the disease. These diseases were described: Ataxia-teleangiectasia, Bloom syndrome, Li-Fraumeni syndrome, familial adenomatous polyposis and Hereditary breast and ovarian cancer. The thesis also deals with methods of detection of mutations within genetic diagnosis, in which especially New generation sequencing plays an important role.

Keywords: *BRCA*, hereditary cancer syndrome, Familial adenomatous polyposis, Hereditary breast and ovarian cancer, Li-Fraumeni syndrome, Ataxia-teleangiectasia, tumor diagnosis

Obsah

1. ÚVOD.....	9
2. CÍLE PRÁCE	10
3. DĚDIČNOST NÁDOROVÝCH SYNDROMŮ.....	11
4. GENY ZPŮSOBUJÍCÍ HEREDITÁRNÍ NÁDOROVÉ SYNDROMY	11
4.1 <i>BRCA1</i> a <i>BRCA2</i>	12
4.1.1 Charakteristika a lokalizace genu <i>BRCA1</i> a <i>BRCA2</i>	12
4.1.2 Funkce genu <i>BRCA1</i> a <i>BRCA2</i>	14
4.1.3 Mutace v genech <i>BRCA1</i> a <i>BRCA2</i>	15
4.2 <i>PALB2</i> , gen se středním rizikem.....	16
4.2.1 Charakteristika a lokalizace genu <i>PALB2</i>	16
4.2.2 Funkce genu <i>PALB2</i>	17
4.2.3 Mutace v genu <i>PALB2</i>	17
4.3 Rodina genů <i>RAD51</i>	18
4.3.1 Charakteristika a lokalizace genu <i>RAD51</i>	18
4.3.2 Funkce genu <i>RAD51</i>	19
4.3.3 Mutace rodiny genů <i>RAD51</i>	19
4.4 <i>CHEK2</i> , gen se středním rizikem	21
4.4.1 Charakteristika a lokalizace genu <i>CHEK2</i>	21
4.4.2 Funkce genu <i>CHEK2</i>	22
4.4.3 Mutace v genu <i>CHEK2</i>	22
4.5 <i>BLM</i>	23
4.5.1 Charakteristika a lokalizace genu <i>BLM</i>	23
4.5.2 Funkce genu <i>BLM</i>	23
4.5.3 Mutace v genu <i>BLM</i>	24
4.6 <i>ATM</i> , gen se středním rizikem	24
4.6.1 Charakteristika a lokalizace genu <i>ATM</i>	24
4.6.2 Funkce genu <i>ATM</i>	25
4.6.3 Mutace v genu <i>ATM</i>	25
4.7 <i>APC</i>	26
4.7.1 Charakteristika a lokalizace genu <i>APC</i>	26
4.7.2 Funkce genu <i>APC</i>	27
4.7.3 Mutace v genu <i>APC</i>	27

4.8	<i>TP53</i>	28
4.8.1	Charakteristika a lokalizace genu <i>TP53</i>	28
4.8.2	Funkce genu <i>TP53</i>	28
4.8.3	Mutace v genu <i>TP53</i>	28
4.9	<i>CDK4 a CDKN2A</i>	29
4.10	Charakteristika a lokalizace genu <i>CDK4 a CDKN2A</i>	29
4.11	Funkce genu <i>CDK4 a CDKN2A</i>	30
4.12	Mutace v genech <i>CDK4 a CDKN2A</i>	30
4.13	<i>Rb1</i>	31
4.13.1	Charakteristika a lokalizace genu <i>Rb1</i>	31
4.13.2	Funkce genu <i>Rb1</i>	32
4.13.3	Mutace v genu <i>Rb1</i>	32
4.14	<i>MSH2 a MLH1</i>	32
4.15	Charakteristika a lokalizace genů <i>MSH2 a MLH1</i>	32
4.15.1	Funkce genů <i>MSH2 a MLH1</i>	33
4.15.2	Mutace v genech <i>MSH2 a MLH1</i>	34
5.	SYNDROM HEREDITÁRNÍHO KARCINOMU PRSU A OVARIÍ.....	35
5.1	Indikace k vyšetření genů <i>BRCA1/2</i>	39
5.2	Testování genů <i>BRCA 1/2</i>	41
5.3	Doporučení ke sledování a léčba	42
6.	FAMILIÁRNÍ ADENOMATÓZNÍ POLYPÓZA.....	43
6.1	Indikace k vyšetření genu <i>APC</i>	45
6.2	Genetické testování	45
6.3	Doporučení ke sledování a léčba	46
7.	SYNDROM LI-FRAUMENI	47
7.1	Genetické testování	47
8.	SYNDROMY SPOJENÉ S RIZIKEM NÁDORŮ DĚTSKÉHO VĚKU.....	48
8.1	BLOOMŮV SYNDROM	48
8.1.1	Doporučení ke sledování a léčba	48
8.2	ATAXIA - TELANGIEKTASIA	49
8.2.1	Genetické testování	50
8.2.2	Doporučení ke sledování a léčba	50
9.	GENETICKÉ PORADENSTVÍ A DIAGNOSTIKA.....	50
9.1	Sekvenování	52

9.1.1	Sangerovo sekvenování	52
9.1.2	Sekvenování nové generace	53
9.1.3	NGS platformy	53
9.1.4	Využití NGS technologií v nádorové diagnostice	54
10.	PREVENCE HEREDITÁRNÍCH NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ	55
11.	LÉČBA HEREDITÁRNÍCH NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ	55
12.	ZÁVĚR	56
13.	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK:	57
14.	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	59

1. ÚVOD

Rakovina je jednou z nejobávanějších nemocí, a to z důvodu bolestivého průběhu, náročné, vysilující a často neúčinné léčby a možnosti recidivy. U rakoviny dochází ke vzniku zhoubných buněk, které mají schopnost pronikat do jiných tkání a vytvářet tam metastázy. Dochází tak k poškození funkce postiženého orgánu a ke změně jeho morfologie. Příčinou postupného nárůstu výskytu rakoviny postihující somatické buňky je akumulace genetických změn v buněčných genech v průběhu života a zvyšující se průměrný věk dožití. Avšak hereditární rakovina, na kterou je tato práce zaměřena, postihuje již zárodečné buňky a mutace je tak obsažena v genotypu od narození (Altaner, 2008).

Hlavními znaky dědičného nádorového onemocnění jsou maligní nádory určitého typu přítomny ve více generacích, nádory v mladém věku a vícečetné primární malignity (Slabý *et al.*, 2014).

Výskyt rakoviny u české populace se řadí k nejvyšším na světě a stále roste vzhledem k zvyšujícímu se věku populace a demografické struktuře. V průběhu let došlo ke zlepšení prevence, a to díky národním screeningovým programům, které zahrnují zejména mamografické vyšetření a kolorektální a cervikální screening. Od roku 2014 došlo ke spuštění systému adresného zvaní do těchto programů, což zajistilo změnu organizovaných screeningových programů na populační (IBA MU, 2014).

Základem léčby je genetická diagnostika, která závisí na různých sledovaných parametrech. U nádorových syndromů jsou indikovány testy, které určují genové původce jednotlivých typů rakovin. Toto vyšetření je však předepsáno až po dosažení plnoletosti. Prenatální diagnostika se provádí obecně jen vzácně, a to na specializovaných pracovištích (Altaner, 2008).

2. CÍLE PRÁCE

Cílem této práce je vytvořit souhrn nových poznatků z různých studií o nejčastějších dědičných nádorových systémech u člověka, zaměřit se na jejich genetický podklad a možnosti detekce a popsat vybraná nádorová onemocnění.

3. DĚDIČNOST NÁDOROVÝCH SYNDROMŮ

Z celkového výskytu rakoviny zaujímají nádory vzniklé na základě dědičné predispozice jen 10 %, ostatní nádory se vyskytují sporadicky a jejich příčinou jsou nahromaděné somatické mutace, na jejichž vzniku se podílí i nevhodný životní styl. Dědičná predispozice neboli zvýšená vnímavost ke vzniku určitého nádoru vzniká již v zárodečné buňce - ve vajíčku či spermii. Dochází zde k zárodečné mutaci, která je následně obsažena v každé tělní buňce postiženého jedince. Tato mutace poškozuje však jen jednu z alel genu. Druhá alela je zdravá a funkce jejího produktu je zachována jen po určitou dobu. Pokud totiž dojde k poškození i druhé alely, objeví se i určitý typ rakoviny, za který je mutace zodpovědná. Jelikož je mutace obsažena i v pohlavních buňkách, predispozice se přenáší i na potomka (Altaner, 2008).

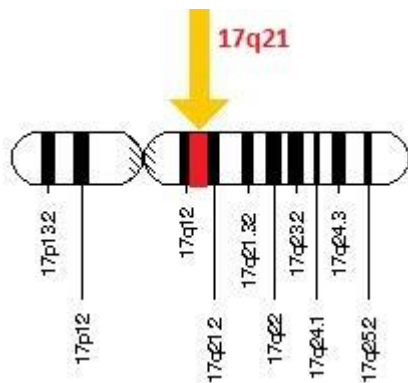
4. GENY ZPŮSOBUJÍCÍ HEREDITÁRNÍ NÁDOROVÉ SYNDROMY

Mutace způsobující dědičné nádorové syndromy jsou přítomny již v zárodečné linii buněk, což zajišťuje určité predispozice k rakovině. Riziko vzniku nádorového onemocnění závisí na konkrétním genu, který je poškozen a také na typu mutace. Typů mutací u jednotlivých genů je velké množství a je odhadováno, že většina z nich ještě nebyla odhalena. Geny, které způsobují dědičný typ rakoviny, jsou často zapojeny v signalizaci poškození DNA, nebo mohou být zásadní přímo pro různé mechanismy opravy DNA. Většina takto poškozených genů jsou podkladem pro vznik více různých typů nádorů.

4.1 *BRCA1* a *BRCA2*

4.1.1 Charakteristika a lokalizace genu *BRCA1* a *BRCA2*

Zkratka genů *BRCA1* a *BRCA2* je odvozena od oficiálního anglického názvu breast cancer 1 a breast cancer 2 (GHR, 2015). Gen *BRCA1* se skládá z 24 exonů a nachází se na dlouhém raménku chromozomu 17 na pozici 17q21 (Obr. 1).



Obr. 1 Lokalizace genu *BRCA1*: dlouhé raménko 17. chromozomu na pozici 17q21 (GHR, 2015)

Většina sekvencí tohoto genu není u savců příliš konzervovaná, ale i přesto zde najdeme dvě vysoce konzervované domény, a to doménu: BRCA1 C Terminal a N-terminal RING.

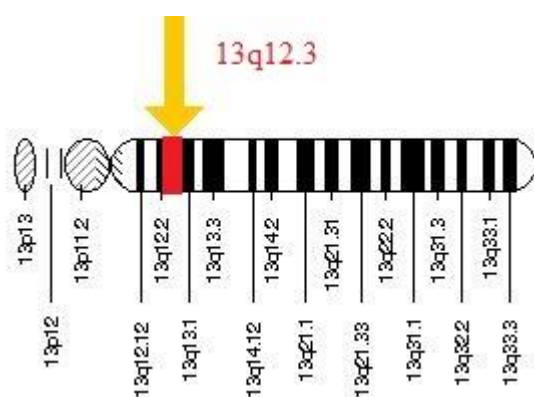
Domény důležité pro funkci BRCA1 proteinu jsou: RING finger domain, doména signálu jaderné lokalizace (NLS domain, Nuclear Localisation Signal domain) a C konec *BRCA1*, který se skládá ze dvou tandemově uspořádaných prvků nazývaných BRCT (BRCA1 C- terminal) - (Obr. 2) - (Banerjee, 2007).



Obr. 2 Lokalizace důležitých domén pro funkci genu *BRCA1* (Banerjee, 2007)

RING finger domain je zodpovědná za interakci proteinu s dalším proteinem, v tomto případě s proteinem BARD1 (BRCA1 Associated RING Domain 1), a vyskytuje se u mnoha proteinů DNA reparace. NLS doména je důležitá pro hromadění proteinu do různých ohnisek v jádře během S fáze. BRCT je transkripčně aktivační doména, na kterou se vážou fosforylované proteiny, které jsou spojené s odpovědí buňky na poškození DNA (Banerjee, 2007).

Gen *BRCA2* se skládá z 27 exonů a nachází se na dlouhém raménku 13. chromozomu na pozici 13q12.3 (Obr. 3).



Obr. 3 Lokalizace genu *BRCA2*: dlouhé raménko 13. chromozomu na pozici 13q12.3 (GHR, 2015)

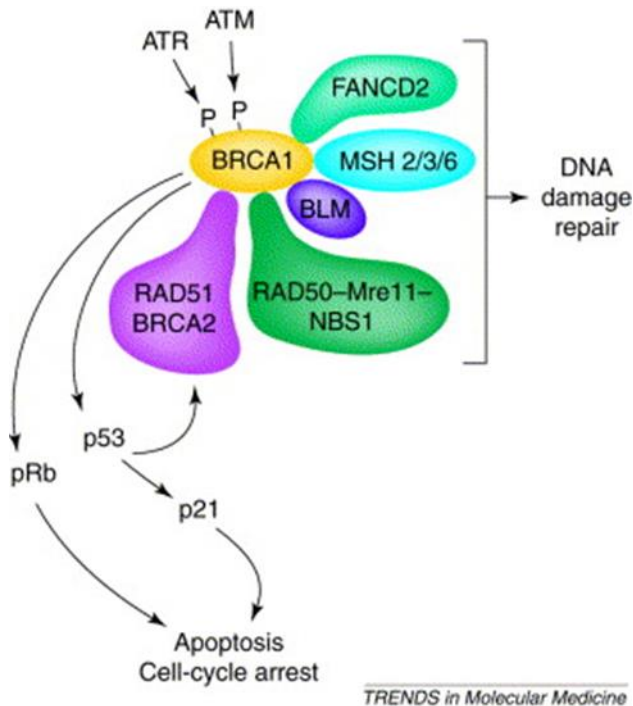
Podobně jako u *BRCA1* nalezneme i u tohoto genu transkripční aktivační doménu N-terminal *BRCA2*. Exon 11 kóduje 8 konzervovaných BRC repetice (BRCA C-terminal repeats). V C konci genu se nachází doména vázající DNA a dva signály jaderné lokalizace (NLS, Nuclear Localisation Signal) - (Obr. 4) - (Guénard and Durocher, 2010).



Obr. 4 Lokalizace důležitých domén genu *BRCA2* (Guénard and Durocher, 2010)

4.1.2 Funkce genu *BRCA1* a *BRCA2*

Oba geny *BRCA1* a *BRCA2* se podílejí na udržování stability genomu (Apostolou and Fostira, 2013). Tumor supresorový gen *BRCA1* kóduje jaderný fosfoprotein, na který se jako na lešení navazují další tumor supresorové proteiny, a tím vzniká *BRCA1* genomový kontrolní komplex (BASC, *BRCA1*-associated genome surveillance complex) - (Obr. 5) - (Futaki and Liu, 2001).



Obr. 5 Hypotetický model BASC (Futaki and Liu, 2001)

ATM (ATM serine/threonine kinase) a ATR (ATR serine/threonine kinase) fosforyluje *BRCA1* (breast cancer 1) zde sehrává roli i *CHK2* (checkpoint kinase 2). Součástí BASC komplexu je i komplex *RAD50* (*RAD50* double strand break repair protein) – *MRE11* (meiotic recombination 11) – *NBS1* (nibrin), *BLM* (Bloom syndrome, RecQ helicase-like) a *MSH 2, 3 a 6* (*mutS* homolog). *RAD51* (*RAD51* recombinase) nezávisle interaguje s *BRCA1* a s *BRCA2*. *FANCD2* (Fanconi anemia complementation group D2) je také pravděpodobně spojen s tímto komplexem. Tyto interakce jsou zapojeny buď v reakci na poškozenou DNA, nebo v její opravě. Zatímco interakce s *pRb* a *p53* vedou k apoptóze.

Tento komplex pak organizuje různé signální snímače poškození DNA, jako je například *ATM* (*ATM* serine/threonine kinase), koordinuje opravné efekторы, jako jsou Mismatch opravné proteiny a mobilizuje senzory poškozené DNA, jako je *BLM* helikáza (Bloom syndrome, RecQ helicase-like) - (Futaki and Liu, 2001).

Konkrétně *BRCA1* například interaguje s *RAD51* proteinem (*RAD51* recombinase), který se podílí na homologické rekombinaci (Scully *et al.*, 1997). Dále

s RAD50 (RAD50 double strand break repair protein) – MRE11 (meiotic recombination 11) – NBS1 (nibrin) proteinovým komplexem 52, který je spojený s nehomologním spojováním (NHEJ, non-homologous end joining), homologní rekombinací a meiotickou rekombinací (Zhong *et al.*, 1999). Důležitá je také interakce *BRCA1* s *BRCA2*, který se váže přímo na *RAD51* (Chen *et al.*, 1999). *BRCA1* také aktivuje kontrolní body buněčného cyklu (Wang *et al.*, 2000).

BRCA2 se podílí na homologní rekombinaci, která zajišťuje opravu DNA dvouřetězcových zlomů (double-strand DNA breaks) - (Apostolou and Fostira, 2013). Genovým produktem *BRCA1* je p220, protein působící jako E3 ubikvitin ligáza, která je součástí komplexu s BARD1 (BRCA1 Associated RING Domain 1). Tento komplex pak působí jako tumor supresor, což znamená, že se podílí na regulaci buněčného dělení (Silver and Livingston, 2012).

Nejčastěji mutovanými oblastmi genu *BRCA1* jsou pak domény N-terminální RING a C-terminální repetice BRCT. Existují také důkazy o tom, že funkce *BRCA1* může být také ovlivněna diferenciací epitelu mléčné žlázy (Silver and Livingston, 2012). *BRCA1* je také zapojen v transkripční regulaci receptorů estrogenu a progesteronu. Typy rakoviny prsu s mutací v genu *BRCA1* bývají proto obvykle estrogen-receptor negativní nález od nádorů s mutací v genu *BRCA2*, kde se tyto receptory exprimují (Katiyar, 2006; Apostolou and Fostira, 2013).

4.1.3 Mutace v genech *BRCA1* a *BRCA2*

Mutace *BRCA1* a *BRCA2* jsou odpovědné za širokou škálu familiárních nádorů zahrnujících rakovinu prsu, vaječníků, slinivky, žlučových cest, prostaty, kůže a tlustého střeva (viz Kap. 5) - (Foretová and Macháčková, 2011). Prototypické mutace *BRCA1*–*BRCA2* představují velmi vysoké celoživotní riziko zejména pro rakovinu prsu, a to v rozsahu 55–58 % pro *BRCA1* a 35–60 % pro *BRCA2*, ve srovnání se zhruba 10% populačním rizikem (Bogdanova, Helbig, Dörk, 2013). Kromě toho mají nositelé mutace *BRCA1* pravděpodobnost vzniku rakoviny vaječníků 30 – 40 % do 70 let věku (O'Donovan and Livingston, 2010). American Cancer Society dokonce uvádí riziko ještě vyšší, a to 35–70 %. U žen s mutací v *BRCA2* je riziko odhadováno na 10–30 %. Ve zdravé populaci je riziko vyčísleno na méně než 2 % (American Cancer Society, 2015). Na riziko rakoviny prsu

a vaječníků mohou mít vliv i další geny a jejich varianty, jako jsou například jednonukleotidové polymorfismy (SNP, single nucleotide polymorphism) v genu *RAD51* nebo *BNC2* (Bogdanova, Helbig, Dörk, 2013).

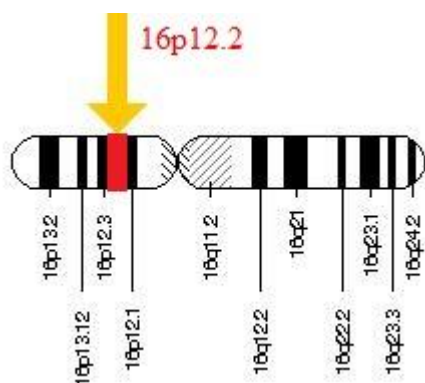
Varianty jako p.R1699Q v *BRCA1* nebo p.K3326X v *BRCA2* patrně vykazují nízké, ačkoli nezanedbatelné riziko pro rakovinu prsu. To vypovídá o tom, že ačkoli jsou *BRCA1* a *BRCA2* často označovány jako geny s vysokou penetrancí, jejich mutační různorodost pravděpodobně odpovídá rozmanitějšímu spektru alelických efektů (Bogdanova, Helbig, Dörk, 2013).

Monoalelické mutace *BRCA2* byly také asociovány s rakovinou prsu u mužů a pozorovány u rodin postižených Li-Fraumeniovým syndromem. Bialelické mutace genu *BRCA2* vedou k recesivní komplexní chorobě Fanconiho anemii D1 (Bogdanova, Helbig, Dörk, 2013).

4.2 *PALB2*, gen se středním rizikem

4.2.1 Charakteristika a lokalizace genu *PALB2*

Oficiální název tohoto genu je partner and localizer of *BRCA2* (GHR, 2015). *PALB2* se skládá ze 13 exonů a byl mapován v chromozomové oblasti 16p12.2, která vykazuje pokles heterozygotnosti (LOH, loss of heterozygosity) u 12 % případů rakoviny prsu (Tischkowitz and Xia, 2010) - (Obr. 6).



Obr. 6 Lokalizace genu *PALB2*: dlouhé raménko 16. chromozomu na pozici 16p12.2 (GHR, 2015)

4.2.2 Funkce genu *PALB2*

PALB2 gen kóduje protein, který interaguje s *BRCA2* tím způsobem, že umožňuje spojení s *BRCA1* a vytvoření *BRCA* komplexu (Tischkowitz, 2014). *BRCA2* a *PALB2* hrají roli v buněčné odpovědi na poškození DNA (Xia *et al.*, 2006).

4.2.3 Mutace v genu *PALB2*

Mutace v genu *PALB2* je predispozicí pro rakovinu prsu a vaječníků (Apostolou and Fostira, 2013). Bialelické mutace v *PALB2* způsobují Fanconiho anemii (Reid *et al.*, 2007).

Také bylo zjištěno, že mutace se ztrátou funkce v *PALB2* jsou predispozicí pro rakovinu slinivky. Ve studii Jonese byl sekvenován gen *PALB2* u 96 pacientů s familiární rakovinou slinivky břišní, z čehož 3,1 % pacientů vykazovalo mutaci v *PALB2* (Jones *et al.*, 2009). Slater *et al.* (2010) zjistil podobný výskyt *PALB2* mutací: U 81 evropských pacientů s familiárním nádorem pankreatu byla nalezena tato mutace u 3,7 % pacientů.

Další mutace v genu *PALB2* se opakovaně vyskytovala u rakoviny prsu u pacientů v Británii a Austrálii. Vedle genů *BRCA1* a *BRCA2* se *PALB2* objevuje jako 3. důležitý gen s náchylností k rakovině prsu s mírnou až vysokou penetrancí (Poumpouridou, Kroupis, 2012; Apostolou and Fostira, 2013; Teo *et al.*, 2013).

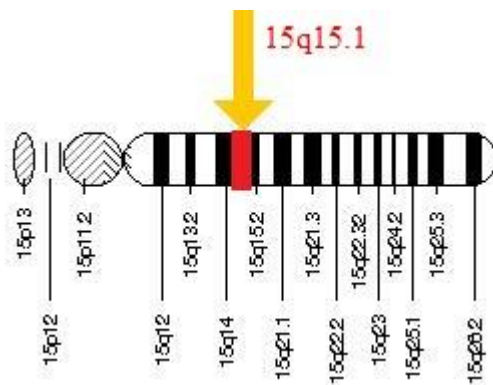
Riziko rakoviny prsu spojené s *PALB2* také závisí na různých genotypech a i na dalších faktorech, jako je například počet obyvatel, rodinná zátěž či věk při nástupu nemoci (Byrnes, Southey, Hopper, 2008; Hofstatter *et al.*, 2011). Ačkoli genové mutace *PALB2* jsou v obecné populaci vzácné, studie odhadují riziko těchto mutací na 1–2 % u pacientů s familiárním karcinomem prsu (Hofstatter *et al.*, 2011).

K odhadnutí vlivu mutací v genu *PALB2* na vznik rakoviny vaječníků je potřeba vyhodnocení velkého počtu pacientů s tímto typem rakoviny (Casadei *et al.*, 2011). Avšak podle studie Norquistové *et al.* (2015) by se riziko rakoviny vaječníků mohlo shodovat s rizikem rakoviny vaječníků u genů *RAD51C*, *RAD51D* a *BRCA1*.

4.3 Rodina genů *RAD51*

4.3.1 Charakteristika a lokalizace genu *RAD51*

Fakt že, *BRCA1*, *BRCA2* a *PALB2* fungují společně v homologicky řízených rekombinantních opravách dvouřetězcových zlomů DNA, měl vliv na další zkoumání kandidátních genů v těchto biologických drahách (Bogdanova, Helbig, Dörk, 2013). Oficiální název pro gen *RAD51* je *RAD51* recombinase a tento gen je lokalizován na dlouhém raménku 16. chromozomu na pozici 16p12.2 (Obr. 7) - (GHR, 2015).



Obr. 7 Lokalizace genu *RAD51*: dlouhé raménko 15. chromozomu na pozici 15q15.1 (GHR, 2015)

Pro tento gen existuje více transkripčních variant kódujících různé izoformy (NCBI, 2015). Eukaryotická rodina genů *RAD51* obsahuje sedm paralogů (geny pro proteiny plnící různou funkci v jednom organismu) konzervovaných u rostlin a zvířat. Mezi nimi, geny *RAD51*, *DMC1* (DNA meiotic recombinase 1), *RAD51C* (*RAD51* paralog C) a *XRCC3* (X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 3) jsou důležité pro homologickou rekombinaci, a / nebo opravy DNA. Na rozdíl od těchto genů neovlivňují mutace v *RAD51B*, *RAD51D* nebo *XRCC2* normální průběh meiózy (Wang *et al.*, 2014).

4.3.2 Funkce genu *RAD51*

Protein RAD51 interaguje s jednovláknovou DNA vazebného proteinu RPA a RAD52, a hraje tak roli v homologním párování a přenosu DNA. K dalším interakcím proteinu dochází mezi BRCA1 a BRCA2 a tato spojení jsou důležitá pro buněčnou odpověď na poškození DNA. Je také prokázáno, že BRCA2 reguluje intracelulární lokalizaci i DNA vazebnou schopnost proteinu RAD51 (NCBI, 2015). Další funkce spočívá v regulaci kopií mitochondriální DNA v přítomnosti RAD51C a XRCC3 za podmínek oxidačního stresu (UniProt, 2014).

4.3.3 Mutace rodiny genů *RAD51*

Na rozdíl od vzácných missense mutací (mutace měnící smysl) s neurčitým významem neexistují v kódující oblasti genu *RAD51* žádné jasně patogenní mutace. Avšak byl identifikován jednonukleotidový polymorfismus (single nucleotide polymorphism, SNP) 135G> C v 5'UTR genu *RAD51*, který působí jako genetický modifikátor mutací *BRCA2* (Calvez-Kelm, 2012).

Sestřihová bialelická varianta *RAD51C* byla poprvé identifikována u pakistánské rodiny s Fanconiho anemií (Akbari *et al.*, 2010). O rok později bylo zjištěno, že má tento gen vztah i k rakovině prsu a vaječníků (Meindl *et al.*, 2011). Poté, co se objevilo spojení mezi *RAD51C* a Fanconiho anemií, proběhl screening mutací v *RAD51C* u 1100 případů rodin s hereditárním karcinomem prsu (HBC; hereditary breast cancer) a hereditárním karcinomem prsu a ovárií (HBOC; hereditary breast and ovarian cancer). Důvodem tohoto screeningu byla hypotéza, že by zmutovaný gen *RAD51C* mohl mít podobné účinky jako zmutované geny *BRIP1* (BRCA1 interacting protein C-terminal helicase 1) a *BRCA2*, u kterých bialelické mutace způsobují Fanconiho anemii a monoalelické mutace způsobují HBOC. Bylo identifikováno 14 monoalelických zárodečných mutací, ze kterých 6 bylo patogenních. Těchto 6 mutací bylo identifikováno pouze u rodin s oběma rakovinami - prsu i vaječníků. Mutace *RAD51C* se tedy zdají být vzácnými mutacemi, které nesou predispozice k rakovině vaječníků stejně tak jako k rakovině prsu, avšak jen u rodin s výskytem rakoviny vaječníků (Clague *et al.*, 2011).

Varianty *RAD51B* byly identifikovány jak u rodin s oběma rakovinami - prsu a vaječnicků, tak i u rodin postižených jen rakovinou prsu. Podobně jako u ostatních paralogů i u tohoto mají jeho mutace velmi malou frekvenci, a tak např. v Johnsonově studii 188 rodinných případů rakoviny prsu žádná mutace objevena nebyla, na rozdíl od jiné studie u 142 případů s rakovinou prsu a/nebo vaječnicků, kde byly identifikovány 2 mutace: missense mutace (mutace měnící smysl) a sestřihová mutace (Johnson *et al.*, 2011; Golmard *et al.*, 2013).

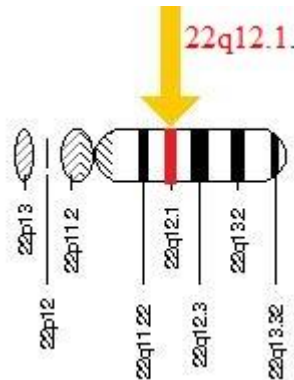
Dalším známým paralogem je *XRCC2* (X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 2). Studie prokázaly, že jednonukleotidové polymorfizmy (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) v genu opravujícím DNA, mohou modifikovat opravnou kapacitu DNA a následně i ovlivňovat vnímavost k rakovině (Lin *et al.*, 2011). U tohoto genu byl zjišťován vliv dvou polymorfizmů *XRCC2* C41657T a *XRCC2* G4234C na vnímavost k rakovině tlustého střeva. Výsledky této studie naznačily, že polymorfizmus C41657T může upravit genovou expresi *XRCC2* a tato varianta může ovlivnit citlivost ke kolorektálnímu karcinomu (Li *et al.*, 2014). Dalším zkoumaným polymorfizmem byl *XRCC2* Arg188His, který pravděpodobně hraje odlišné role u různých typů rakovin. Studie tohoto polymorfizmu neodhalila žádné významné asociace s rakovinou prsu. Nicméně byl detekován významný vliv tohoto polymorfizmu na snížení rizika rakoviny vaječnicku a na zvýšení rizika nádorů horního aerodigestivního traktu (UADT, Upper aerodigestive tract) - (He *et al.*, 2014).

V jedné studii byly identifikovány tři sestřihové mutace a dvě pravděpodobně nepříznivé missense varianty, a to u *RAD51B* (*RAD51* Paralog B), *RAD51C* a *XRCC3*. Avšak u *RAD51D* (*RAD51* Paralog D) a *XRCC2* nebyly genové mutace zjištěny. Tyto mutace a varianty byly zjištěny jen u rodiny s oběma rakovinami, prsu i vaječnicků. Výjimkou je však varianta *RAD51B* c.475C > T/p.Arg159Cys, ke které došlo u třech případů rodin s rakovinou prsu (Golmard *et al.*, 2013).

4.4 *CHEK2*, gen se středním rizikem

4.4.1 Charakteristika a lokalizace genu *CHEK2*

Gen *CHEK2* se skládá ze 14 exonů a nachází se na dlouhém raménku 22. chromozomu na pozici 12.1 (Obr. 8) - (Nevanlinna and Bartek, 2006).



Obr. 8 Lokalizace genu *CHEK2*: dlouhé raménko 22. chromozomu na pozici 12.1 (GHR, 2015)

CHEK2 obsahuje 3 charakteristické domény (Nevanlinna and Bartek, 2006). Doména s názvem N-terminal SQ/TQ cluster domain je regulačním místem genu, kde dochází k jeho aktivaci fosforylací skrze protein ATM (Bartek *et al.*, 2001; Nevanlinna and Bartek, 2006). Druhou doménou je fork head-associated domain (FHA). Tato doména zajišťuje navázání *CHEK2* proteinu na jiné fosforylované proteiny, čímž je zajištěna signalizace poškození DNA (Li *et al.*, 2002). Poslední doména s názvem catalytic kinase domain (KD) zabírá téměř polovinu genu *CHEK2* (Nevanlinna and Bartek, 2006). Stejně jako většina ostatních Ser / Thr proteinových kináz, aktivace *CHEK2* KD vyžaduje fosforylací Thr383 a Thr387 na aktivační smyčce (Schwarz *et al.*, 2003).

4.4.2 Funkce genu *CHEK2*

Gen *CHEK2* kóduje serin/threoninovou kinázu Chek2 (Checkpoint kinase 2) aktivovanou v reakci na poškození DNA nebo na vznik DNA zlomů. Tento protein pak ve spolupráci s dalšími, jako je například protein p53, způsobuje opravu DNA nebo indukuje apoptózu poškozené buňky. Je tak zapojen v buněčné regulaci a slouží k signalizaci buněčného poškození (GHR, 2015).

4.4.3 Mutace v genu *CHEK2*

Spojení tohoto genu s rakovinou prsu bylo poprvé zjištěno v roce 1999, když Bell *et al.* objevil 3 zárodečné mutace u pacientů s Li-Fraumeniovým syndromem (viz Kap. 7). Avšak tyto mutace byly sledovány i u zdravých lidí a jejich vliv na riziko rakoviny u Li-Fraumeniho syndromu je zatím nejasný (Nevanlinna and Bartek, 2006).

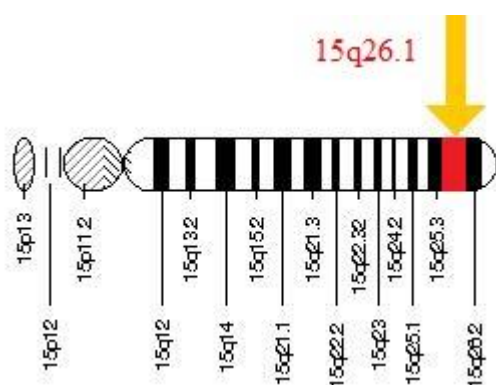
U jedné z mutací tohoto genu, c.1100delC, byla následně zjištěna asociace s familiární rakovinou prsu (Apostolou and Fostira, 2013). Tato mutace však byla ve všech populacích spíše vzácností, přičemž nejvyšší frekvence byly zaznamenány u populací v Nizozemsku (1,3 %) a ve Finsku (0,99 %) - (The CHEK2 Breast Cancer Case-Control Consortium, 2004). V České republice byla zjištěna frekvence 0,3 % (Kleibl *et al.*, 2005). U vzácných homozygotů bylo zjištěno až šestnásobné riziko k rakovině prsu v porovnání s heterozygoty (Apostolou and Fostira, 2013).

Walsh *et al.* (2006) objevili další novou delecí exonů 9 a 10 u dvou rodin československého původu. Tato mutace byla následně identifikována u 1,3 % z 631 pacientů s rakovinou prsu a nevyskytla se u žádného z 367 zdravých lidí, kteří byli kontrolováni v České a Slovenské republice. Mutace v tomto genu nezpůsobují však jen rakovinu prsu. Například missense varianta I157T byla asociována nejen se zvýšeným rizikem k rakovině prsu, ale i tlustého střeva, ledvin, prostaty a štítné žlázy (Cybulski *et al.*, 2004).

4.5 *BLM*

4.5.1 Charakteristika a lokalizace genu *BLM*

Oficiální název genu zní Bloom syndrome, RecQ helicase-like. Tento gen je lokalizován na dlouhém raménku 15. chromozomu na pozici 15q26.1 (Obr. 9) a kóduje protein náležící ke skupině helikáz RecQ (GHR, 2015).



Obr. 9 Lokalizace genu *BLM*: dlouhé raménko 15. chromozomu na pozici 15q26.1

(GHR, 2015)

4.5.2 Funkce genu *BLM*

Enzymy RecQ helikázy ovlivňují DNA rekombinaci, replikaci a opravy DNA (Ken, 2014). Je známo, že *BLM* tvoří komplex s rekombinázou Rad51. Vzniklý komplex působí na meziprodukty, které se účastní homologické rekombinace opravy DNA (Wu *et al.*, 2001). Dále *BLM* v rámci opravy dvouřetězcových zlomů působí na opravu zastavených replikačních vidlic (Karow *et al.*, 2000).

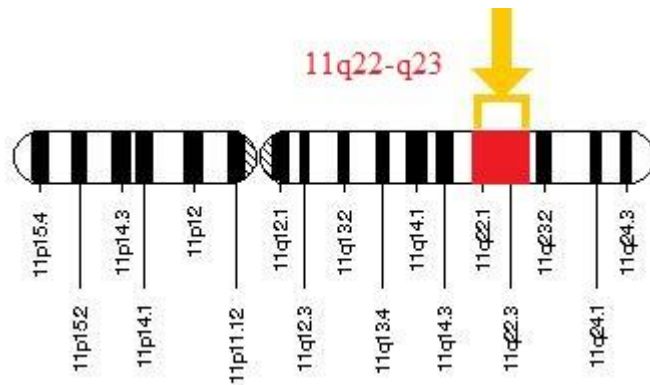
4.5.3 Mutace v genu *BLM*

Mutace v genu *BLM* způsobují Bloomův syndrom (viz Kap. 9) a jsou důvodem vzniku různých typů rakovin, například rakoviny prsu, tlustého střeva a mnoha dalších (Lowy *et al.*, 2001; Cleary *et al.*, 2003; Voer, 2015). Buňky pacientů s Bloomovým syndromem mají nadměrnou úroveň výměny sesterských chromatid, proto vzniká hyperrekombinantní fenotyp a kódovaná helikáza bývá nefunkční. Bloomův syndrom se vyskytuje u homozygotních jedinců s oběma mutovanými alelami genu *BLM*, ale existují i údaje o tom, že i heterozygoti jsou vystaveni zvýšenému riziku rakoviny. Gruber *et al.* zjistil u židovské populace z Izraele a New Yorku, že heterozygotnost v tomto genu je spojena se zvýšeným 2,3–2,8násobným rizikem vzniku kolorektálního karcinomu. Jedna z mutací známá pod názvem *BLM^{Ash}*, způsobující různé typy rakoviny, je spojována s populací aškenázských Židů a jejich potomků. Tuto mutaci pravděpodobně nese jedna třetina této aškenázské populace s Bloomovým syndromem (Cleary *et al.*, 2003).

4.6 *ATM*, gen se středním rizikem

4.6.1 Charakteristika a lokalizace genu *ATM*

Gen *ATM* (ataxia-telangiectasia mutated) kóduje protein s názvem ATM serin/threonin kináza. *ATM* se skládá z 66 exonů a je situován na dlouhém raménku 11. chromozomu na pozici 11q22-q23 (Obr. 10) - (Uziel *et al.*, 1996; GHR, 2015; Kniffin, 2015).



Obr. 10 Lokalizace genu *ATM*: dlouhé raménko 11. chromozomu na pozici 11q22 – q23 (GHR, 2015)

4.6.2 Funkce genu *ATM*

Protein *ATM* v reakci na poškození DNA kontroluje skrze fosforylaci řadu dalších jaderných proteinů (např. produkty genů *BRCA1*, *CHEK2*, *NBS1*, *TP53*). Tyto proteiny aktivují a koordinují dráhy buněčné signalizace zapojených do kontrolních bodů buněčného cyklu, genovou transkripci a expresi, reakce na oxidační stres, apoptózu a další (Pandita, 2002).

4.6.3 Mutace v genu *ATM*

Mutací genu *ATM* se zvyšuje riziko rakoviny u pacientů postižených nemocí ataxia-telangiectasia (A-T) - (viz Kap. 10) - (Kniffin, 2015). Dědičnost tohoto onemocnění je autozomálně recesivní a objevuje se již u dětí. Hlavními příznaky jsou selhání imunity, neurologické problémy, opakující se infekce dýchacích cest a rozšířené krevní cévy v očích a na povrchu kůže. A-T pacienti mají o 37 % vyšší riziko rakoviny než lidé ve zdravé populaci. Přičemž nejčastěji se u nich objevují lymfomy nebo leukémie. Dalšími postiženými oblastmi pak mohou být žaludek, mozek, vaječník, kůže, játra, hrtan, příušní žlázy a prsa (NCI, 2006).

Z několika studií vyplývá, že heterozygotní přenašeči mutace v *ATM* mají zvýšené riziko pro rakovinu prsu. Celkové relativní riziko u nositelů mutace mladších 50 let bylo pak v této studii odhadnuto na 2,23 (95% konfidenční interval

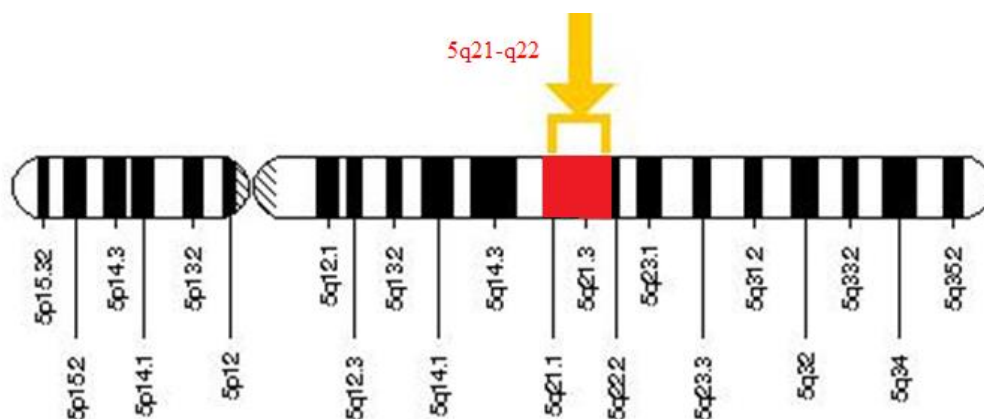
= 1,16–4,28) v porovnání s běžnou populací 4,94 (95 CI = 1,90–12,9) - (Thompson *et al.*, 2005). Avšak na rozdíl od lidí nebylo u heterozygotních myší zvýšené riziko rakoviny pozorováno (NCI, 2006).

U žen s missense variantou genu *ATM*, které podstoupily ozařování kvůli rakovině prsu, bylo zjištěno zvýšené riziko další rakoviny postihující druhé prso. U žen bez radiační terapie bylo riziko druhotné rakoviny nižší. Z toho vyplývá, že ionizující záření umocňuje u pacientek s *ATM* mutací nárůst rizika další rakoviny (JNCI, 2010).

4.7 *APC*

4.7.1 Charakteristika a lokalizace genu *APC*

Oficiální název pro gen *APC* je adenomatous polyposis coli. Tento gen je lokalizován na dlouhém raménku 5. chromozomu na pozici 5q21-q22 (Obr. 11) - (GHR, 2015).



Obr. 11 Lokalizace genu *APC*: dlouhé raménko 5. chromozomu na pozici 5q21-q22 (GHR, 2015)

4.7.2 Funkce genu *APC*

APC působí jako tumor supresorový gen a zabraňuje nekontrolovanému růstu a dělení buňky. Funkce genového produktu spočívá v kontrole toho, jak často se buňka dělí. Tento protein také zajišťuje, aby byl během buněčného dělení v buňce správný počet chromozomů. Tento protein plní tyto funkce prostřednictvím spojení s jinými proteiny, zejména s těmi, se kterými se podílí na uchycení buněk a signalizaci (GHR, 2016).

4.7.3 Mutace v genu *APC*

Mutací genu *APC* vzniká familiární adenomatózní polypóza (FAP; viz Kap. 6), Gardnerův syndrom, Turcotův syndrom a sporadické rakoviny tlustého střeva. U rodin postižených familiární adenomatózní polypózou bylo nalezeno více jak 700 mutací v genu *APC*. Většina z těchto mutací vedla ke zkrácené nefunkční formě proteinu (GHR, 2015).

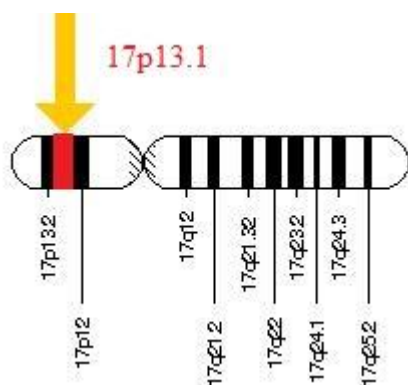
U FAP se truncating mutace v *APC* dědí (5–7) a u vzniklých adenomů druhá alela buď skrývá podobnou mutaci, nebo je vzácně ztracena úplně (Rowan, *et al.*, 2000). Homozygotní delece *APC* je velmi vzácná a často se nevyskytuje. Typ mutací v zárodečné linii pak udává závažnost onemocnění. Bylo totiž zjištěno, že pacienti se zárodečnou mutací poblíž kodonu 1300 mají velkou pravděpodobnost vzniku druhé mutace, která vede k alelické ztrátě, a tím i k závažnějším projevům nemoci. U ostatních pacientů s FAP se druhá mutace obvykle soustřeďuje do oblasti MCR (Rowan and Lamlum, 2000).

Jiná mutace v genu *APC* se nachází u 6 % aškenázských Židů. U této mutace je nahrazen isoleucin za lysin v pozici 1307. Tato změna byla původně považována za neškodnou, ale bylo prokázáno, že je spojena s vyšším rizikem (o 10–20 %) rakoviny tlustého střeva (GHR, 2015).

4.8 *TP53*

4.8.1 Charakteristika a lokalizace genu *TP53*

Dalším velmi významným genem zapojeným do rozvoje rakoviny je gen *TP53*, jehož oficiální název je tumor protein p53. Tento gen leží na krátkém raménku 17. chromozomu na pozici 13.1 (Obr. 12). Produktem je transkripční faktor p53 (GHR, 2016).



Obr. 12 Lokalizace genu *TP53*: krátké raménko 17. chromozomu na pozici 17p13.1 (GHR, 2016)

4.8.2 Funkce genu *TP53*

Protein p53 je klíčovým nádorovým supresorem, který reguluje různé signální dráhy související například se zastavením buněčného cyklu, opravou DNA, stárnutím a apoptózou (GHR, 2016).

4.8.3 Mutace v genu *TP53*

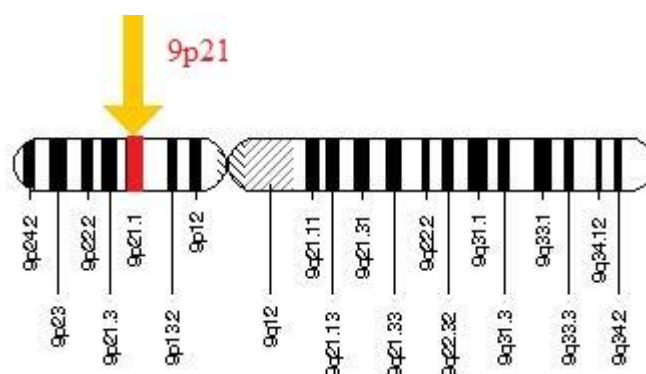
K mutacím v tomto genu dochází téměř u všech typů rakovin. Pokud je mutace již v zárodečné linii buněk, je predispozicí pro Li-Fraumeniho syndrom (viz Kap. 7) - (Rivlin *et al.*, 2011). U pacientů s tímto syndromem bylo identifikováno víc než 140 různých mutací (GHR, 2016). Bylo zjištěno, že nejčastějšími mutacemi tohoto genu

jsou missence mutace, kdy dochází k záměně jednoho nukleotidu a pozměněný kodon pak kóduje jinou aminokyselinu. Tyto mutace pak vedou k tomu, že transkripční faktor p53 nemá schopnost vázat se na DNA a v důsledku toho nedochází k transkripci cílových genů (Rivlin *et al.*, 2011). Mutace mohou být zděděné po rodičích, nebo vznikat *de novo*. Pokud genom jednoho z rodičů obsahuje *de novo* mutaci, může dojít i k přenosu na potomstvo. Je odhadováno, že mutaci v genu *TP53* nese 1 z 20 000 lidí. Přičemž výskyt těchto mutací je v populaci poměrně rovnoměrný, s výjimkou jedné specifické mutace, která byla identifikována v malé populaci rodin s Li-Fraumeni syndromem v jihovýchodní Brazílii. Tuto mutaci bylo možné vysledovat až k jednomu portugalskému předkovi, který se v minulosti účastnil osídlování této oblasti (NCI, 2016).

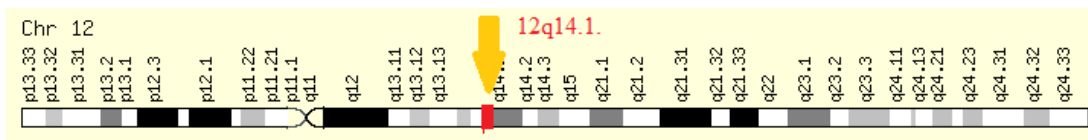
4.9 *CDK4* a *CDKN2A*

4.10 Charakteristika a lokalizace genu *CDK4* a *CDKN2A*

Dalšími tumor supresorovými geny, které podléhají mutacím, jsou *CDK4* s oficiálním názvem cyclin-dependent kinase 4 a *CDKN2A* s názvem cyclin-dependent kinase inhibitor 2A (AmbryGenetics, 2016). Gen *CDKN2A* se skládá z 3 exonů a je lokalizován na krátkém raménku 9. chromozomu na pozici 21 (Obr. 13) - (GHR, 2016). *CDK4* je lokalizován na dlouhém raménku 12. chromozomu na pozici 14.1 a skládá se z 8 exonů (Obr. 14) - (GeneCards, 2016).



Obr. 13 Lokalizace genu *CDKN2A*: krátké raménko 9. chromozomu na pozici 21 (GHR, 2016)



Obr. 14 Lokalizace genu *CDK4*: dlouhé raménko 12. chromozomu na pozici 14.1
(GeneCards, 2016)

4.11 Funkce genu *CDK4* a *CDKN2A*

Podle genu *CDKN2A* vzniká několik proteinů, z nichž nejznámější je P16 (INK4a) a P14 (ARF). Protein P14 (ARF) chrání protein p53 před rozkladem (GHR, 2016). Proteiny CDK4 a CDK6 pomáhají regulovat buněčný cyklus zejména v G1 fázi. Tyto komplexy fosforylují členy rodiny proteinů Rb (retinoblastom) - (Rb, p130 a p107). Fosforylace proteinu Rb má za následek uvolnění navázaného transkripčního faktoru E2F, který aktivuje geny (např. pro DNA polymerázu nebo thymidinkinázu), které jsou potřebné pro další progresi buněčného cyklu v S fázi. Protein P16 (INK4a) se váže na CDK4 a CDK6, a tím inhibuje jejich vazbu s cyklinem D1, který nechává Rb proteiny nefosforylované a E2F neaktivní (Agarwal *et al*, 2012).

4.12 Mutace v genech *CDK4* a *CDKN2A*

Mutace v genu *CDKN2A* narušují regulaci buněčného cyklu, což vede ke zvýšené proliferaci buněk. Populační celoživotní riziko vzniku zhoubného nádoru je pouze 1–1,5 %, z čehož 10 % odpovídá familiární formě (Slabý *et al.*, 2014). Za 10–39 % dědičného melanomu jsou zodpovědné právě mutace v genu *CDKN2A*. Přičemž většina mutací spadá do kódující oblasti proteinu P16. Mutace v oblasti pro protein P14 jsou velmi vzácné, a proto o nich není k dispozici dostatek poznatků. Mutacím v tomto genu je odhadováno 28–67 % celoživotní riziko vzniku melanomu (AmbryGenetics, 2016). V Austrálii je toto riziko až 100 %, v Evropě kolem 60 % (Slabý *et al.*, 2014). Také je zde zvýšené celoživotní riziko 17–25 % pro vznik rakoviny slinivky břišní. Nicméně nedávné studie naznačují, že riziko pro toto

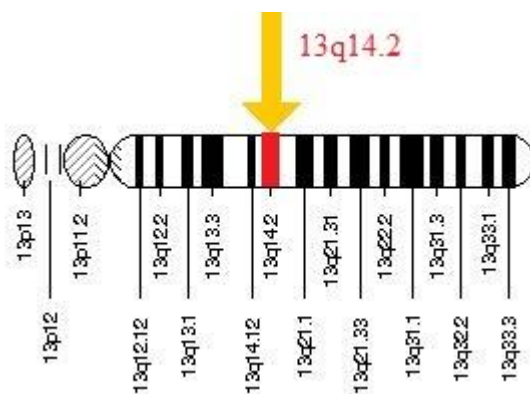
onemocnění může být až 58 %, přičemž je potenciálně vyšší u kuřáků (AmbryGenetics, 2016).

Mutace v genu *CDK4* jsou pravděpodobně zodpovědné za pouhé 1 % rizika melanomu. Jedinci s mutací v tomto genu vykazují vyšší frekvenci atypických névů, časnější věk při diagnóze melanomu (32–39 let) a zvýšenou pravděpodobnost výskytu primárních melanomů. Pro nositele mutace do 50 let je odhadováno riziko až 74 % (AmbryGenetics, 2016).

4.13 *Rb1*

4.13.1 Charakteristika a lokalizace genu *Rb1*

Oficiální název genu *Rb1* je retinoblastoma 1. Tento gen je lokalizován na dlouhém raménku 13. chromozomu na pozici 14.2 a skládá se z 27 exonů (Obr. 15) - (Lohmann,1999; GHR, 2016).



Obr. 15 Lokalizace genu *Rb1*: dlouhé raménko 13. chromozomu na pozici 14.2

(GHR, 2016)

4.13.2 Funkce genu *Rb1*

Produkt genu *Rb1* je zapojen v negativní regulaci buněčného cyklu a to tím způsobem, že inhibuje transkripční faktor E2F, který je zodpovědný za přechod buňky z G1 fáze do S fáze. Hyperfosforylace tohoto genu způsobuje uvolnění E2F, což má za následek aktivaci cílových genů zajišťujících přechod do S fáze (Klener, 2013).

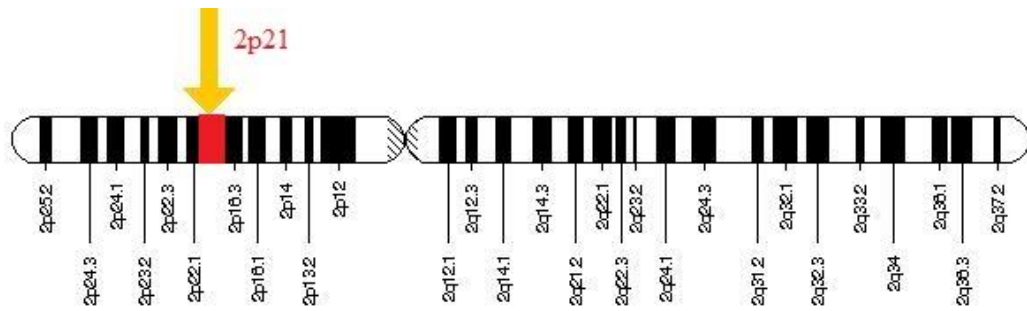
4.13.3 Mutace v genu *Rb1*

Zárodečná mutace v *Rb1* představuje predispozici pro retinoblastom, což je vzácný maligní nádor oka u dětí. Forma postižení může být bilaterální či unilaterální. Při incidenci 1:18000–30000 živě narozených trpí okolo poloviny nemocných dědičnou formou onemocnění s penetrancí 80 %. Různé mutace odpovídají široké škále klinických projevů v závislosti na různé penetranci a expresivitě genů. Včasná charakterizace mutace je důležitá pro následné nastavení preventivní léčby, protože stávající léčba vede k dlouhodobým remisím až u 99 % pacientů. Jen u 6 % případů je retinoblastom přítomný v rodinné anamnéze, zbytek germinálních mutací vzniká *de novo*. Identifikováno bylo dosud již kolem 500 různých somatických i germinálních mutací (Kepák *et al*, 2007).

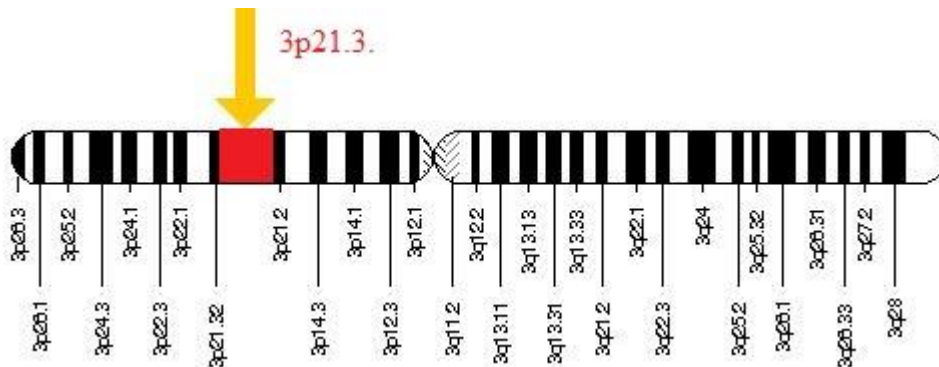
4.14 *MSH2* a *MLH1*

4.15 Charakteristika a lokalizace genů *MSH2* a *MLH1*

Oficiální název genu *MSH2* je mutS homolog 2. Tento gen je lokalizován na krátkém raménku 2. chromozomu na pozici 21 a skládá se z 16 exonů (Obr. 16). Oficiální název genu *MLH1* je mutL homolog 1. Tento gen je lokalizován na krátkém raménku 3. chromozomu na pozici 21.3 a skládá se z 19 exonů (Obr. 17) - (Kacerovská *et al*, 2010; GHR, 2016).



Obr. 16 Lokalizace genu *MSH2*: krátké raménko 2. chromozomu na pozici 21
(GHR, 2016)



Obr. 17 Lokalizace genu *MLH1*: krátké raménko 3. chromozomu na pozici 21.3
(GHR, 2016)

4.15.1 Funkce genů *MSH2* a *MLH1*

Oba tyto geny se podílí na postreplicační DNA opravě správného párování bází (post-replicative DNA mismatch repair systém, MMR). *MLH1* tvoří heterodimer s *PMS2* s názvem MutLa, i když se může také vázat na *PMS1* nebo *MLH3*. Tento heterodimerní komplex se váže na heteroduplex, který je složený z *MSH2* a *MSH6* (*MutSa*) nebo z *MSH2* a *MSH3* (*MutSb*), které rozpoznávají poškození DNA. Heterodimer tvořený *MLH1* je zodpovědný za přijímání proteinů potřebných pro vyříznutí nebo opravnou syntézu (Domingo and Schwartz, 2005).

MSH2 tvoří dva různé heterodimery buď s MSH6 (MutS alpha) nebo s MSH3 (MutS beta), které se vážou na poškozenou DNA, a tím zahajují její opravu. Po navázání oba heterodimery ohýbají DNA a překrývají okolo 20 párů bází. MutS alfa rozpozná nesprávně spárované báze, na které naváže deleční smyčky, které jsou rozpoznány heterodimerem MutS beta. MutS alfa může hrát také roli při DNA homologní rekombinaci (UniProt, 2014).

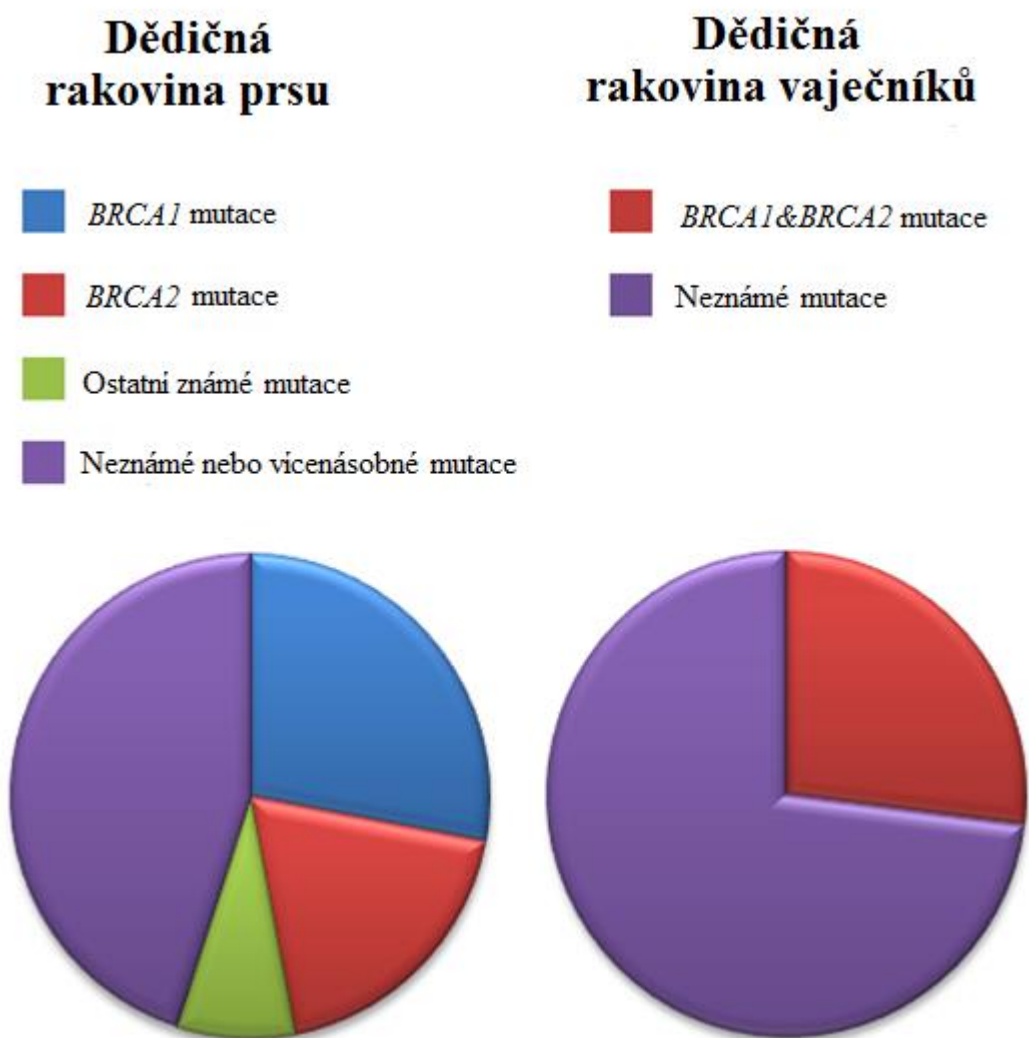
4.15.2 Mutace v genech *MSH2* a *MLH1*

Zárodečné mutace v těchto genech jsou spojeny s hereditárním nepolypózním kolorektálním karcinomem (HNPCC) neboli Lynchovým syndromem. Onemocnění je autozomálně dominantní s 80% penetrancí. Většina rodin s HNPCC splňuje Amsterdamská kritéria, která zahrnují 3 pacienty s kolorektálním karcinomem, vertikální přenos a mladý věk při diagnóze. 50 % těchto rodin nese mutaci v genu *MLH1* nebo *MSH2*. Všechny kolorektální nádory s mutacemi v těchto genech vykazují mikrosatelitní nestabilitu a výsledkem je absence exprese těchto genů. Zárodečné mutace v *MMR* genech mohou vést k řadě klinických projevů, včetně sporadického časného výskytu rakoviny tlustého střeva a familiární rakoviny endometria (Gille *et al*, 2002).

Uvedené mutace jsou charakteristické pro HNPCC nádory v mladém věku, které mohou být navíc mnohočetné. HNPCC je spojen se 28–75% celoživotním rizikem kolorektálního karcinomu. Ženy mají také 27–71% riziko onemocnění karcinomem endometria a 3–13% riziko karcinomu vaječníků. K dalším nádorům se zvýšeným rizikem vzniku patří karcinom žaludku, urotraktu, hepatobiliárního systému, tenkého střeva a mozku. Riziko nádorů prsu může být také mírně zvýšeno (Plevová *et al*, 2009). Za fenotypovou variantu HNPCC je považován Muir-Torre syndrom, který je také podmíněn mutacemi v *MMR* genech. K projevům tohoto syndromu patří kombinace nejméně jednoho kožního nádoru se sebaceózní diferenciací a minimálně jednoho viscerálního tumoru (Kacerovská, 2010).

5. SYNDROM HEREDITÁRNÍHO KARCINOMU PRSU A OVARIÍ

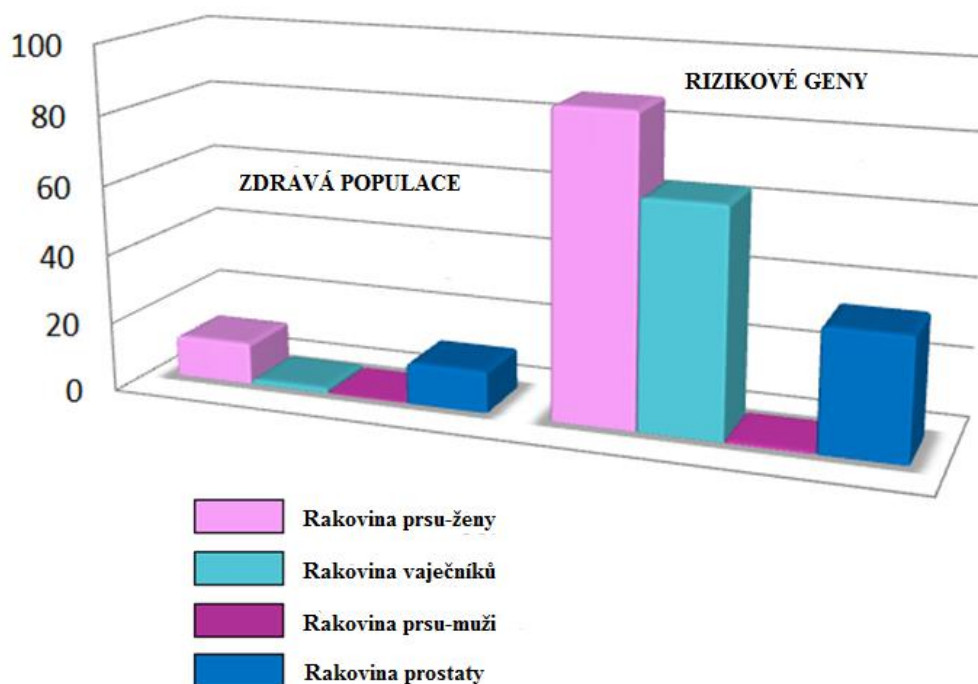
Syndrom hereditárního karcinomu prsu a ovarií (HBOC) je dědičné onemocnění s výskytem rakoviny prsu, ovarií, prostaty, ale i dalších rakovin. Dědičnost u tohoto onemocnění je autozomálně dominantní. Pro rozvoj nemoci jsou zásadní zejména mutace v genech *BRCA1* a *BRCA2*. Méně časté jsou pro tuto nemoc mutace v tumor supresorových genech *TP53*, *PTEN*, *CDH1*, *ATM*, *CHEK2*, *PALB2* a dalších (Obr. 18) - (Cancer.Net, 2014).



Obr. 18 Zastoupení mutovaných genů způsobujících rakovinu prsu a ovarií v rámci HBOC (HBOC Society, 2013)

Odhaduje se, že rakovina prsu je dědičná u 5–10 % případů pacientů s touto diagnózou. Rakovina prsu, která je dědičná, se může projevit i u mužů, avšak je to méně časté než u žen. U rakoviny vaječnicků se odhad pohybuje v rozmezí 10–15 %. Dědičnost rakoviny prostaty se pak pohybuje v rozmezí 5–10 % (mutace v *BRCA2* = 20 %) - (HBOC Society, 2013; Cancer.Net, 2014).

Pravděpodobnost vzniku různých typů rakovin se odvíjí od toho, jestli jsou zmutované oba dva *BRCA* geny nebo jen jeden z nich. Riziko rakoviny vaječnicků může být u nositelek mutace genu *BRCA1* až 60 %, naproti tomu u nositelek mutace genu *BRCA2* se pohybuje v rozmezí 10–20 %. Riziko vzniku rakoviny prsu u žen postižených HBOC, u kterých se vyskytují mutace v obou genech, se pohybuje v rozmezí 40–85 %. U sekundární rakoviny odpovídá riziku 40–60 %. Celoživotní riziko pro rakovinu vaječnicků je v rozmezí 10–44 %. U mužů se vyskytuje zvýšené riziko rakoviny prsu (celoživotní riziko 6 %) a prostaty (mutace v *BRCA2* = 20 %) (Plevová *et al.*, 2009; Cancer.Net, 2014). Veškeré odhady rizik se pohybují v určitém rozmezí, protože je třeba znát rizika pro konkrétní mutace, nicméně jisté je, že riziko k rakovině je u genů HBOC vyšší než v běžné populaci. Důležitým faktorem také je, že jednotlivé odhady rizik se mohou lišit, protože mohou být ovlivněny závislostí na regionu a dalších faktorech (Obr. 19; Tab. 1; Tab. 2) - (HBOC Society, 2013).



Obr. 19 Porovnání celoživotního rizika u různých rakovin mezi zdravou populací a populací postiženou HBOC (HBOC Society, 2013)

Tab. 1 Rizika mutací genů *BRCA1/2* pro jednotlivé typy rakovin a jejich porovnání s normální populací ze studií provedených do roku 2013 (zdroj: Antonious, Centre for Genetic Epidemiology) - (HBOC Society, 2013)

TYP RAKOVINY	OBEČNÉ RIZIKO V POPULACI	NOSITELÉ MUTACE V <i>BRCA1</i>	NOSITELÉ MUTACE V <i>BRCA2</i>
Rakovina prsu - ženy	12 %	40-87 %	18-88 %
Rakovina vaječníků	1-2 %	22-65 %	10-35 %
Rakovina prsu - muži	0,3 %	nizké riziko	do 6 %
Rakovina prostaty	12 %	nizké riziko	do 35 %
Ostatní typy rakoviny	-	mírné riziko	mírné riziko

Tato data naznačují, že riziko vzniku rakoviny vaječniku nebo prsu u pacientů s mutacemi HBOC syndromu závisí na genetických a hormonálních faktorech, životním stylu a rodinné zátěži.

Tab. 2 Rizika mutací genů *BRCA1/2* pro jednotlivé typy rakovin a jejich porovnání s normální populací z nedávné rozsáhlé populační studie (zdroj: National Centre for Biotechnology Information) - (HBOC Society, 2013)

TYP RAKOVINY	OBEČNÉ RIZIKO V POPULACI	NOSITELÉ MUTACE V <i>BRCA1</i>	NOSITELÉ MUTACE V <i>BRCA2</i>
Rakovina prsu - ženy	12 %	50-80 %	40-70 %
Rakovina vaječníků	1-2 %	24-40 %	11-18 %
Rakovina prsu - muži	0,1 %	1-2 %	5-10 %
Rakovina prostaty	15-18 %	do 30 %	do 39 %
Ostatní typy rakoviny	0,5 %	1-3 %	2-7 %

Rozmezí rizik u jednotlivých genů jsou dána množstvím různých mutací s různým rizikem. Nejvyšší riziko rakoviny je u rakoviny prsu.

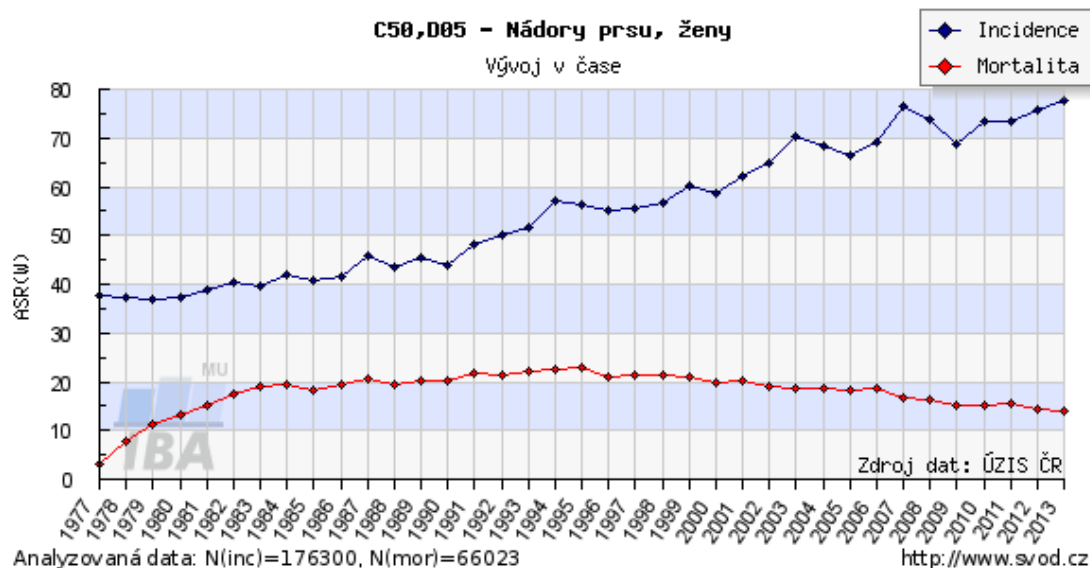
K dalším typům rakoviny, u nichž se může zvýšit riziko vzniku, patří například rakovina slinivky, kůže, prostaty, kolorekta, slinivky, žaludku nebo vejcovodů (Plevová *et al.*, 2009).

U některých populací se vyskytuje zvýšené riziko k HBOC. Jsou to zejména askénázští Židé, jejichž předkové pocházejí ze střední a východní Evropy. Této etnické skupině je připisováno riziko 2,5 % k mutacím v genu *BRCA* (HBOC Society, 2013). K typickým mutacím pro tuto skupinu lidí patří 185delAG v *BRCA1*, 5382insC v *BRCA1* a 6174delT v *BRCA2* (Cancer.Net, 2014). K dalším populacím se zvýšeným rizikem k HBOC patří kanadští Francouzi, Holanďané, Islandané a Norové (HBOC Society, 2013).

Méně častým genem, který podléhá mutacím a zvyšuje tak riziko k rakovině prsu 2–4krát, je gen se střední penetrancí *CHEK2*. I u mutací tohoto genu se může objevit zvýšená náchylnost k dalším nádorům (např. plic, vaječníku, prostaty a mozku) - (Plevová *et al.*, 2009).

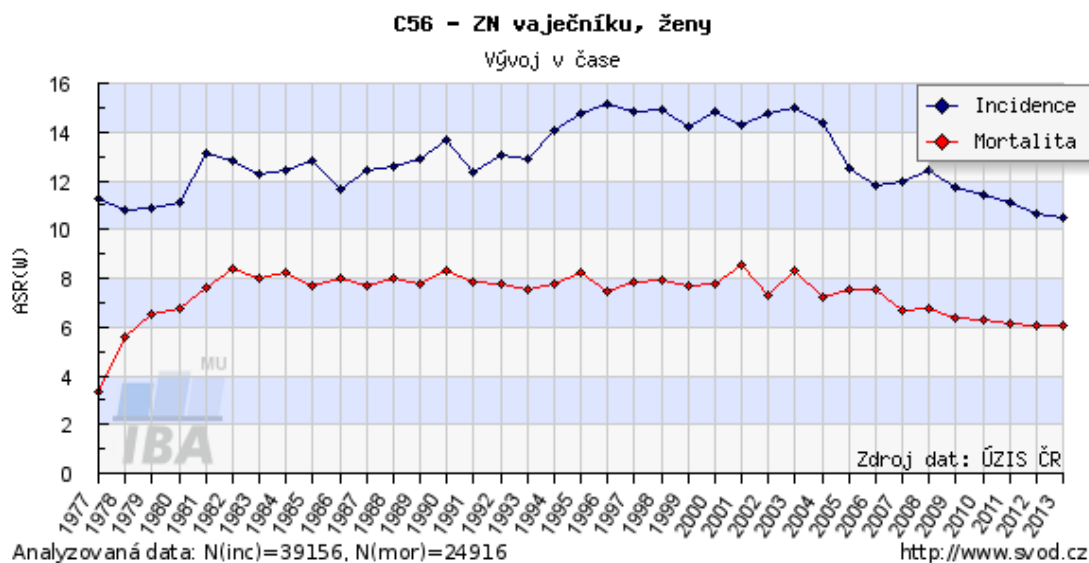
Celkově v České Republice přibývá případů s rakovinou prsu, naopak úmrtnost se během posledních let pomalu snižuje (Graf 1). Incidence u rakoviny prsu neustále stoupá na rozdíl od rakoviny vaječníků, kde incidence neustále kolísá. Celková incidence u rakoviny vaječníků se snižuje od roku 2008 a úmrtnost mírně klesá od roku 2006 (Graf 2).

Graf 1 Celková incidence a mortalita rakoviny prsu v ČR (Dušek *et al.*)



Incidence u rakoviny prsu má vzestupnou tendenci (na rozdíl od incidence rakoviny vaječníků, která v průběhu let kolísá.) Mortalita se v průběhu let jeví konstantně a klesá od roku 1996.

Graf 2 Celková incidence a mortalita rakoviny vaječnicků v ČR (Dušek et al.)



Mortalita u rakoviny vaječnicků byla v minulosti relativně konstantní, avšak od roku 2009 dochází k poklesu jak mortality, tak i incidence tohoto onemocnění.

5.1 Indikace k vyšetření genů *BRCA1/2*

Klinická diagnóza familiární rakoviny prsu nebo vaječnicků nemusí být nutně vhodnou indikací pro genetické testování mutací v genech *BRCA1* a *BRCA2*, protože velká část žen s familiární karcinomem prsu nemá identifikovatelnou mutaci ve známém genu. Analýza genů *BRCA1* a *BRCA2* je totiž složitá a nákladná, a často není odůvodněná u mnoha žen s familiárním typem rakoviny. Například v Austrálii se odborníci shodují, že žena by měla být testována na mutace v *BRCA1* a *BRCA2* pouze v případě, že odhadovaná pravděpodobnost nalezení mutace je vyšší než 10 % (Lau and Suthers, 2011).

V České republice není prenatální diagnostika indikována. Prediktivní vyšetření je stanoveno po dosažení plnoletosti. Genetické testování genů *BRCA1* a *BRCA2* je doporučeno u familiárního typu onemocnění po genetické konzultaci, pokud byla zjištěna následující fakta:

- V rodině se vyskytují alespoň 3 přímí příbuzní (včetně probanda) s karcinomem prsu a/nebo vaječnicků.

- V rodině se vyskytují 2 příbuzní (včetně probanda) prvního stupně (nebo druhého stupně paternálně) s karcinomem prsu a/nebo vaječnicků, z nichž alespoň jeden byl diagnostikován pod 50 let věku (Plevová *et al.*, 2009).

Ve Spojených státech amerických se provádí screening, ke kterému jsou dostupné různé nástroje, jako je například Ontario Family History Assessment Tool (Tab. 3), Manchester Scoring Systém, Referral Screening Tool, Pedigree Assessment Tool a další.

Screening sleduje tyto faktory (Moyer, 2013):

- diagnostika rakoviny prsu před dosažením věku 50 let
- bilaterální rakovina prsu
- přítomnost rakoviny prsu a vaječnicků
- rakovina prsu u 1 nebo více mužských členů rodiny
- více případů rakoviny prsu v rodině
- 1 nebo více členů rodiny se 2 primárními typy s *BRCA*-související rakoviny
- aškenázský původ

Tab. 3 Ontario Family History Assessment Tool, screeningový test pro indikaci genetického testování (Moyer, 2013)

Rizikový faktor	Body
Rakovina prsu a vaječníků	
Matka	10
Sourozenec	7
Příbuzný ze druhé/třetí generace	5
Příbuzný s rakovinou prsu	
Rodič	4
Sourozenec	3
Příbuzný ze druhé/třetí generace	2
	2
Charakteristika rakoviny prsu	
Nástup mezi 20-29 lety	6
Nástup mezi 30-39 lety	4
Nástup mezi 40-49 lety	2
Premenopauzální/perimenopauzální	2
Bilaterální/multifokální	3
Příbuzný s rakovinou vaječniku	
Matka	7
Sourozenec	4
Příbuzný ze druhé/třetí generace	3
Věk při nástupu rakoviny vaječniku	
do 40 let	6
mezi 40-60 lety	4
do 60 let	2
Věk při nástupu rakoviny prostaty	
do 50 let	1
Věk při nástupu rakoviny tlustého střeva	
do 50 let	1
Celkem	
Doporučení *	≥10
* Doporučení se skóre ≥10 odpovídá zdvojnásobení celoživotního rizika k rakovině prsu.	

5.2 Testování genů *BRCA 1/2*

Výběr testu a testované oblasti závisí na rodinné historii. Například u rodin se známou mutací nebo u etnické skupiny, pro níž je nějaká mutace typická, se

testování zaměřuje jen na určité oblasti a mutace. Tam, kde je mutace neznámá, jsou zapotřebí komplexnější testy (Moyer, 2013).

Testování začíná odběrem krve, z níž je izolována DNA. Následně jsou namnoženy všechny exony obou genů pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR; Polymerase Chain Reaction). Produkty PCR jsou pak oboustranně sekvenovány. Jednotlivé odchylky od normální sekvence pak musí být posouzeny. Zjišťuje se, zda se jedná o patogenní mutaci, neznámou mutaci či mutaci benigní (Lau and Suthers, 2011). MLPA (Multiple-Ligation Probe Amplification) analýza se provádí pro odhalení mutací velkého rozsahu (amplifikace / delece), které není možné zachytit sekvenováním (Biopstická laboratoř s.r.o.).

Společnost GHC GENETICS sídlící v České republice nabízí celogenovou sekvenaci genů *BRCA 1/2* a také detekci duplikací a delecí metodou PLEXAMP (Kvantitativní multiplex amplifikace fragmentů genomu pomocí PCR). Oba tyto testy jsou indikovány klinickým genetikem a prováděny osobám starším 18 ti let (GHC GENETIC, 2016). PLEXAMP metoda je založena na simultánní amplifikaci krátkých úseků DNA. Amplifikační produkty jsou analyzovány kapilární elektroforézou, která umožňuje překrytí PCR profilů a srovnání fluorescence získané pro každý amplikon ze dvou vzorků DNA. Tato metoda umožňuje kvantitativní analýzu srovnáním profilu pacientovy genomové DNA s profilem referenční genomové DNA po normalizaci pomocí kontrolních amplikonů (PrestaGen, 2016).

5.3 Doporučení ke sledování a léčba

Jednotlivá vyšetření a doporučení se stanovují v závislosti na výši rizika vzniku rakoviny. Liší se také u mužů a žen a dle věku.

Příklad dispenzarizace ženy dle doporučení pro Českou republiku:

Součástí preventivních opatření je měsíční samovyšetření prsů od věku 18 let. Od 25 let by se mělo provádět celkové vyšetření onkologem, pacientka by měla také každý rok docházet na ultrazvuk prsů, a na nukleární magnetickou rezonanci prsů, a to do věku 60 let. Od 30 let je doporučeno chodit ročně na mamografii a ultrazvukové vyšetření břicha. V rámci sledování vaječnicků je doporučeno sledovat hladinu proteinu CA125 (Cancer antigen125; Tumorový antigen 125), jehož zvýšená hladina je pozorována u těchto nádorů. Gynekologické vyšetření je nutné podstoupit 2krát

ročně od 18 let, přičemž od 21 let je součástí i transvaginální ultrazvuk. Od 40. roku se ročně provádí test na okultní krvácení do stolice. V intervalu 3 let se dochází na kolonoskopii a gastroskopii, a to od věku 45 let. Navíc u jedince s mutací v genu *BRCA2* se provádí od 30 let roční vyšetření očí a kůže. Další alternativou léčby je chemoprevence tamoxifenem, který je možné podávat od 40 let věku po dobu 5 let, a to zejména nositelkám mutace v genu *BRCA2* (Plevová, 2009).

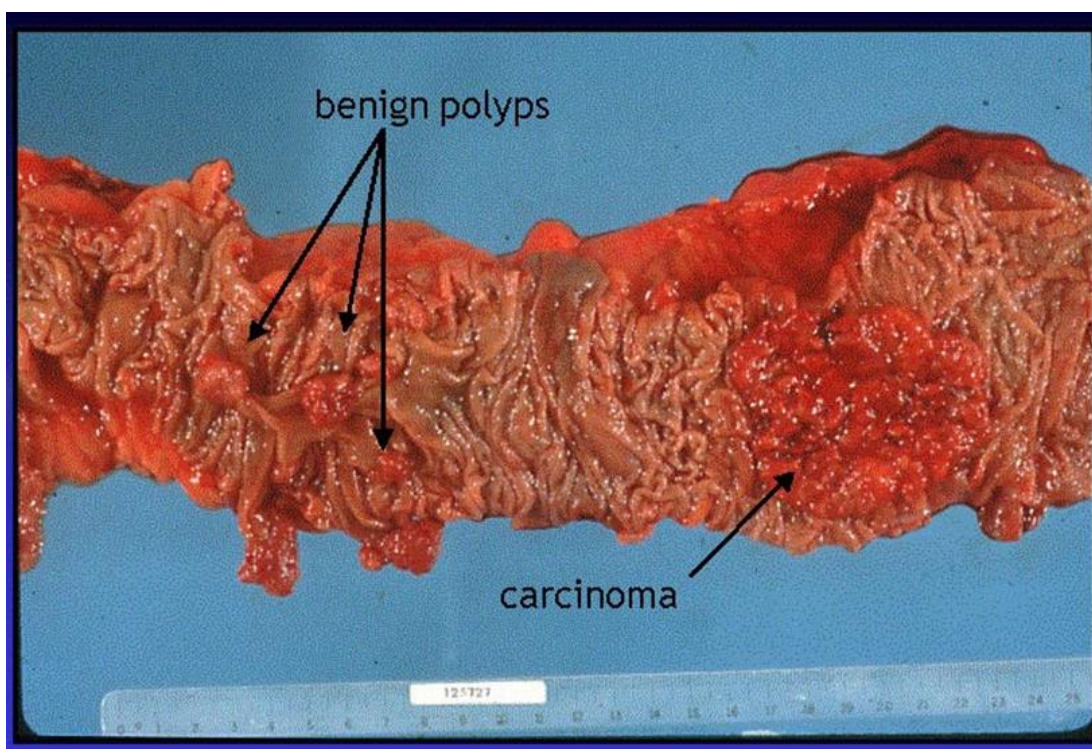
Existuje zde také možnost chirurgických zákroků, které spočívají v odstranění orgánů (prsa, vaječníky, děloha), kde je velká pravděpodobnost vzniku rakoviny. Preventivní mastektomie (odstranění prsů) snižuje riziko rakoviny prsu o 90 % (Cancer.Net, 2014).

6. FAMILIÁRNÍ ADENOMATÓZNÍ POLYPÓZA

Familiární adenomatózní polypóza (FAP, Familial Adenomatous Polyposis), je autozomálně dominantně dědičné onemocnění, při kterém časně vzniká mnoho adenomatózních polypů v tlustém střevě a rektu (Obr. 20), které postupně přecházejí do maligního karcinomu (Altaner, 2008).

Okolo 15 % kolorektálních nádorů je dědičných, z čehož jen 1 % je způsobeno FAP. Tato nemoc se projevuje u 100 % nositelů mutace a vykazuje značnou fenotypovou variabilitu. Příčinou onemocnění jsou zárodečné mutace, a to v genu *APC* (Half, Bercovich, Rozen, 2009).

Frekvence výskytu tohoto onemocnění v České republice je odhadována na 1/5000–7500 jedinců. Onemocnění se v populaci objevuje kvůli častým mutacím, vznikajícím *de novo*, což znamená, že nemoc propukne bez výskytu onemocnění v rodinné anamnéze (Štekrová *et al.*, 2007). Takto vzniklé mutace se objevují až u 25 % nemocných. Pacientům trpícím FAP se mezi 10. a 25. rokem života začne postupně rozvíjet přes 100 polypů kolorekta (Trna *et al.*, 2010). Ve věku 35 let pak má polypy 95 % osob (Plevová *et al.*, 2009).



Obr. 20 Ukázka tlustého střeva s nezhoubnými polypy a karcinomem u pacienta s FAP (Fodde, 2016)

Existuje také varianta nemoci, která je známá jako atenuovaná forma FAP. Tato forma postižení je mírnější, rozvíjí se při ní menší množství polypů a nemoc se projevuje až v pozdějším věku. Kolorektální karcinom se objevuje v průměru až v 56 letech (Trna *et al.*, 2010).

Dalšími klinickými projevy mohou být osteomy, zubní abnormality, vrozená kongenitální hypertrofie pigmentového epitelu sítnice (CHRPE, congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium), desmoidní nádory, nebo další typy rakoviny (štítné žlázy, jater, žlučových cest, centrálního nervového systému aj.) - (Half, Bercovich, Rozen, 2009).

Závažnou formu polypózy, která odpovídá více než 5000 kolorektálních karcinomů, můžeme obvykle najít u pacientů se zárodečnou mutací v *APC* genu lokalizovanou mezi kodony 486–499, 1249–1464 a v kodonu 233. Nejagresivnější forma s nástupem ve velmi mladém věku je spojena s mutací v oblasti mezi kodony 1249–1330. I u lehčí formy nemoci se jedná o poškození genu *APC*. Atenuovaná forma FAP se obvykle váže k zárodečné mutaci na 5' konci (mezi kodony 1–163)

nebo na 3' konci (mezi kodony 1860–1987) nebo v exonu 9, který podléhá alternativnímu sestřihu. Kongenitální hypertrofie pigmentového epitelu sítnice neboli CHRPE může být zjištěna pouze u jedinců s mutací v témže genu mezi kodony 463–1387. Mutace mezi kodony 1445–1578 mají většinou za následek vznik desmoidních nádorů. Hepatoblastom se objevuje u jedinců s mutací, která je umístěna mezi kodony 457–1309, avšak nejčastější příčinou dědičných hepatoblastomů jsou mutace v jiných genech. Projevy FAP, které jsou mimo kolorektum, jako například desmoidní nádory, osteomy, epidermoidní cysty a polypy v horním gastrointestinálním traktu se objevují u jedinců se zárodečnou mutací lokalizovanou mezi kodony 1395–1578 (Plevová *et al.*, 2009).

6.1 Indikace k vyšetření genu *APC*

Pokud se vyskytne podezření na FAP, měla by být provedena koloskopie příbuzným prvního stupně již při klinické diagnostice (rodiče, sourozenci, děti od 10 do 15 let sigmoideoskopie). Následovat by mělo genetické poradenství a posléze genetické testování. Prediktivní vyšetření je možno provádět v jakémkoli věku. Je zde možnost i prenatální diagnostiky, avšak jen v závažných případech po konzultaci s klinickým genetikem (Plevová *et al.*, 2009). Podle jedné studie bylo nejčastější indikací presymptomatické testování rizikových členů rodokmenů s FAP. Dalším důvodem k testování byl výskyt více adenomů tlustého střeva a historie rakoviny tlustého střeva (Giardiello *et al.*, 1997).

6.2 Genetické testování

Podobně jako u genů *BRCA* i u *APC* se využívá nejprve amplifikace DNA polymerázovou řetězovou reakcí (PCR), která je následovaná přímým sekvenováním. Využívá se sekvenace kódující sekvence a exon-intronových spojů. K odhalení větších mutací, jako jsou delece a duplikace exonů se využívá metoda MLPA – CE/FDA (Bioptická laboratoř s.r.o., 2016). K mutační analýze se také běžně používá metoda elektroforézy v gradientovém denaturačním gelu (DGGE, Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) a Protein truncation test (PTT). U DGGE

se využívá toho, že rychlost denaturace DNA závisí na počtu vodíkových můstků. Řetězce DNA se od sebe snáze oddělují v místech bohatých na AT páry, zatímco úseky bohaté na CG jsou stabilnější. Sekvenační analýzou DGGE vzorků se obvykle zjistí buď frameshift nebo nesmyslná mutace (nonsense mutation), které předpovídají zkrácení proteinového produktu. PTT je jednoduchý test, ve kterém je PCR-amplifikovaná cDNA (complementary DNA) nebo genomová DNA přeložena do proteinu v přítomnosti značené aminokyseliny. Vzorek je potom spuštěn na SDS polyakrylamidovém gelu, a výsledné proteinové produkty, a to buď v plné délce, nebo zkrácené, jsou detekovány autoradiografií. Zkrácené proteiny jsou indikativní pro přítomnost mutace, kterou způsobuje předčasný stop kodon (Drábek *et al.*, 2012).

6.3 Doporučení ke sledování a léčba

Na kontrole nemoci se podílí tým odborníků, který se skládá z onkologa, gastroenterologa, chirurga a dalších specialistů. Lékařská péče je založena především na pravidelných endoskopických vyšetřeních, kdy je sledován nástup, množství a rozvoj polypů. Mezi tato vyšetření patří kolonoskopie, flexibilní sigmoideoskopie, ezofagogastroduodenoskopie či duodenoskopie. Pro tato vyšetření jsou stanoveny různé intervaly opakování (Wehbi, 2015). Ošetření polypů je možné polypektomií nebo argonovým laserem (Plevová *et al.*, 2009). Dalším častým zákrokem bývá odstranění tlustého střeva nebo tlustého střeva a konečníku, čímž se podstatně sníží riziko rakoviny tlustého střeva. Tyto orgány je proto nutné sledovat a provádět operaci, než se rakovina rozvine (Tudyka and Clark, 2012).

Dalšími vyšetřeními jsou například ultrazvuk břicha, vyšetření štítné žlázy a očí, neurologické vyšetření nebo urologická kontrola. Chemoprevence se většinou využívá jen v některých případech, např. pokud je operace nemožná, nebo je-li ji třeba odložit. Při odhalení polypů v žaludku se zvažuje také podávání léků. Mezi nejvyužívanější léky patří hlavně Celecoxib a Sulindac. Avšak tyto léky mohou vykazovat vedlejší účinky na gastrointestinální a kardiovaskulární systém. K regresi či stabilizaci desmoidů se podává většinou Tamoxifen v rámci hormonální prevence (Plevová *et al.*, 2009; Kim and Giardiello, 2011; Tudyka and Clark, 2012).

7. SYNDROM LI-FRAUMENI

Li-Fraumeni syndrom je velmi vzácné onemocnění s autozomálně dominantní dědičností. Název této nemoci je odvozen od amerických lékařů Fredericka Pei Li a Josepha F. Fraumeni, kteří tento syndrom jako první popsali. Toto onemocnění způsobují mutace tumor supresorového genu *TP53*, které se dědí, nebo mohou vznikat i *de novo*. U některých jedinců s tímto syndromem se také mohou vyskytovat mutace v již zmiňovaném genu *CHEK2* (Ruijs *et al.*, 2009).

Tento syndrom je charakteristický tím, že se již v mladém věku tvoří mnohočetné nádory, jako jsou sarkomy kostí i měkkých tkání, karcinomy nadledvin, nádory mozku, časný nádory prsu, leukemie a lymfomy. Riziko rakoviny u této nemoci bylo odhadnuto na 73 % u mužů a téměř 100 % u žen. Existují dvě formy nemoci, u závažnějšího průběhu se nádory objevují v mladším věku u více členů rodiny. Druhá mírnější varianta se nazývá Li-Fraumeni-like syndrom, vyskytují se zde jen dva z typických nádorů, a to u příbuzných prvního či druhého stupně (Plevová *et al.*, 2009; Malkin, 2011).

K této nemoci existuje několik podobných typů kritérií, následující seznam obsahuje klasická kritéria (Plevová *et al.*, 2009):

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

7.1 Genetické testování

V roce 2011 bylo vyšetření akreditováno dle ČSN EN ISO 15189:2007 jako SOP-3: Hereditární syndrom Li-Fraumeni: mutační analýza genu *TP53* metodou přímého sekvenování a MLPA (Svoboda and Vorlíček, 2012).

8. SYNDROMY SPOJENÉ S RIZIKEM NÁDORŮ DĚTSKÉHO VĚKU

8.1 BLOOMŮV SYNDROM

Bloomův syndrom se řadí mezi autozomálně recesivní choroby, vyskytuje se velmi vzácně, a proto se v České republice neprovádí analýza genu *BLM*, jehož mutací nemoc vzniká (Krutílková and Eckschlager 2009). Onemocnění lze diagnostikovat již v prvních měsících života (Elbendary, 2015). U tohoto syndromu bylo nalezeno více než 60 mutací genu *BLM*, přičemž nejběžnější mutací je nahrazení 6 nukleotidů 7 jinými, a to v poloze 2281. Tato mutace se nejčastěji vyskytuje u aškenázských Židů (Risch, 2003).

Mezi symptomy tohoto syndromu patří malý vzrůst, malý a úzký obličej, fotosenzitivita, faciální teleangiektazie, hypo- a hyperpigmentace, diabetes mellitus, malá varlata u mužů a u žen poruchy menstruační, imunodeficience snížené hladiny IgM. Před 20. rokem věku se začínají objevovat lymfomy a akutní leukémie. V dospělosti tento syndrom zahrnuje velkou škálu nádorů, jako jsou karcinomy jazyka, laryngu, plic, jícnu, střeva, kůže, prsu a děložního čípku (Krutílková and Eckschlager, 2009). Riziko k rakovině je u tohoto onemocnění až 150–300krát vyšší než u běžné populace. Rakovina je také nejčastější příčinou smrti a není zaznamenán případ, kdy se člověk s touto nemocí dožil 50 let (Elbendary, 2015).

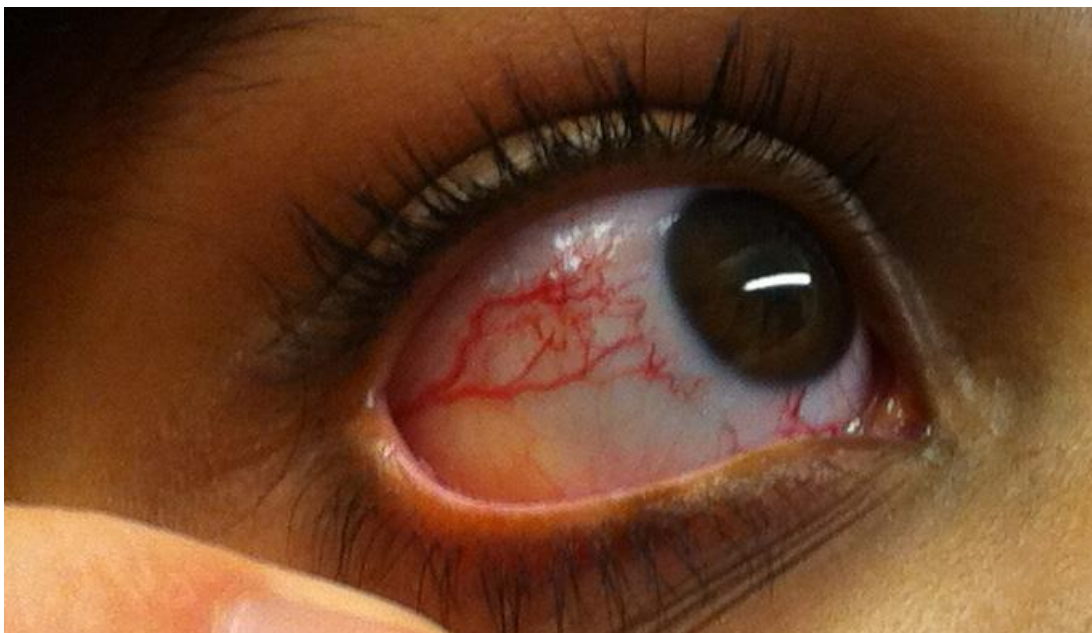
8.1.1 Doporučení ke sledování a léčba

U této nemoci by měly děti docházet na onkologickou kontrolu 4krát ročně. Od 20 let se provádí screening solidních nádorů. Nedílnou součástí jsou také gynekologické a mamologické kontroly po půl roce a screening dalších nádorů (Krutílková and Eckschlager, 2009).

8.2 ATAXIA - TELANGIEKTASIA

Podobně jako u Bloomova syndromu je i u onemocnění ataxia-telangiectasia (A-T) dědičnost autozomálně recesivní. Mutujícím genem u této neurodegenerativní nemoci je gen *ATM*, který je možné podrobit analýze v Praze (Ústav biologie a lékařské genetiky VFN a 1. LF UK Praha). Frekvence výskytu je jeden nemocný na 40 000–300 000 porodů (Krutílková and Eckschlager, 2009).

Abychom mohli potvrdit anamnézu, musí se u nemocného vyskytnout dva zásadní symptomy, jedná se o neschopnost koordinace pohybů (cerebelární ataxie, způsobená disfunkcí mozečku) a rozšíření malých cév (teleangiectazie) - (ATCP, 2013) - (Obr. 21).



Obr. 21 Rozšíření malých cév v oku u pacienta s A-T (Crawford, 2011).

Ataxie se projevuje již v prvních letech života a je tak prvním diagnostickým ukazatelem nemoci. Postupně se potíže zhoršují a většinou kolem 11. roku věku jsou děti upoutány na invalidní vozík (Janniger, 2015). K dalším častým neurologickým příznakům patří chorea, nystagmus, svalová slabost a elasticita. Teleangiectazie začíná být viditelná kolem 7. roku a postihuje zejména oční bulvy a oblasti vystavené slunečnímu záření. Dalšími viditelnými symptomy jsou výpadky kožního pigmentu (vitiligo), skvrny café-au-lait, předčasné šedivění. Dochází také

k defektu buněčné i protilátkové imunity (Krutílková and Eckschlager, 2009). A-T pacienti většinou umírají na respirační selhání nebo na rakovinu a jen málo z nich se dožije 40 let (ATCP, 2013).

Co se týče nádorů, ty se vyskytují u 40 % nemocných. Většinou se jedná o leukémie a lymfomy, které se mohou vyskytovat již v dětství a zaujímají až 85 % rakoviny u A-T pacientů. V pozdějším věku se mohou objevit nádory žaludku, prsu, vaječníků, kůže nebo pojivových tkání (Cancer.Net, 2014). U heterozygotních přenašečů mutace v genu *ATM* je riziko k rakovině zvýšené 2–3krát, přičemž u žen je 50% šance vzniku karcinomu prsu (Krutílková and Eckschlager, 2009).

8.2.1 Genetické testování

Společnost BIOGEN (2016) nabízí kit k detekci delecí / duplikací genu *ATM* pro analýzu MLPA. Ostatní metody jsou prováděny v závislosti na pravděpodobného typu mutace.

8.2.2 Doporučení ke sledování a léčba

Sledování probíhá 4krát ročně a důraz je kladen hlavně na příznaky hematologických malignit, při gastrointestinálních obtížích se provádí i gastroskopie. V dospělosti je doporučeno navštěvovat mamologickou poradnu. Při léčbě se nesmějí využívat konvenční dávky radioterapie (Krutílková and Eckschlager, 2009). K zachování alespoň částečného pohybu jsou nutná fyzická cvičení a návštěvy logopedie. Pro povzbuzení imunitního systému je možno podávat gama–globulinové injekce (ATCP, 2013).

9. GENETICKÉ PORADENSTVÍ A DIAGNOSTIKA

Genetické poradenství je založeno především na genealogii, kdy dochází k sestavení rodokmenu se zaměřením na nádorová onemocnění. Sleduje se věk při nástupu nemoci a typická kombinace nádorů. Od těchto zjištění se pak dále odvíjí

doporučení k molekulárně genetickému vyšetření a následné zajištění prevence a sledování pro rizikové osoby dle rodokmenu. Ke genetickému testování je zapotřebí informovaný souhlas pacienta a jeho DNA (Altaner, 2008).

Přínosem genetického testování je následné stanovení diagnózy a rizik s ní spojených, které vede k nastavení preventivní péče a různých doporučení a sledování, aby se nemoc pokud možno vůbec neprojevila. Důležité je také určit další rodinné příslušníky, kteří jsou přenašeči a měli by dodržovat zdravý životní styl. Toto vyšetření je většinou předepsáno po dosažení plnoletosti, kromě některých nemocí, kde je nutná prevence již od dětství (Altaner, 2008; Koubková, Vojtěšek, Vyzula, 2014; MOÚ, 2015).

U dědičných nádorových syndromů se ke zjištění konkrétní mutace nejvíce využívá sekvenování (Altaner, 2008; Koubková, Vojtěšek, Vyzula, 2014; MOÚ, 2015).

Pro detekci neznámých bodových mutací u velkých genů (*BRCA1/2*) dominantních syndromů lze využít screeningové metody, které vytipují oblasti pro sekvenování. Mezi tyto metody patří DGGE (denaturační gradientová gelová elektroforéza), DHPLC (denaturační vysokorozlišovací kapalinová chromatografie) nebo HRM (vysokorozlišovací analýza křivek tání, high resolution melting). U malých genů (*TP53*, *CDKN2A*) vzácnějších syndromů se přistupuje rovnou k přímé sekvenaci. Známé bodové mutace mohou být identifikovány pomocí mnoha molekulárních metod, jako jsou například specifické hybridizační metody, real-time PCR nebo čipové technologie. K vyšetření rozsáhlých delecí/duplikací exonů či alel genu se využívá Southern blot analýza či semikvantitativní metody, mezi něž patří například MLPA (Multiplex Ligation dependent Probe Amplification). Výsledky těchto metod je pak vhodné ještě ověřit dalšími metodami (Slabý *et al.*, 2014).

Metoda MLPA, která umožňuje detekci velkých intragenových delecí/duplikací, zahrnujících celé exony genů byla v roce 2011 akreditována dle ČSN EN ISO 15189:2007 (SOP-1: Hereditární syndrom nádoru prsu a/nebo ovaria: mutační analýza genů *BRCA1* a *BRCA2* metodou HRM, sekvenováním, MLPA a LR PCR analýza genu *BRCA1*) i jako součást vyšetření dalších genů u jiných hereditárních nádorových syndromů (Svoboda and Vorlíček, 2012).

V roce 2011 byla akreditována metoda HRM dle ČSN EN ISO 15189:2007 jako součást vyšetření u hereditárních nádorových syndromů (Dědičný syndrom nádoru

prsu a Lynchův syndrom). Metoda MRM je založená na principu heteroduplexní analýzy, za použití fluorescenčního barviva, které se během PCR reakce včleňuje do dsDNA. Během postupného zahřívání dochází k meltingu DNA a barvivo se z jednořetězců uvolňuje, což se projevuje poklesem fluorescence. Přítomnost heteroduplexu v analyzovaném fragmentu DNA výrazně mění profil křivky tání. Tato metoda je využívána k detekci bodových mutací (Svoboda and Vorlíček, 2012).

9.1 Sekvenování

Abychom odhalili mutace způsobující rakovinu, je nutné zjistit DNA sekvenci. Na začátku 70. let 20. století se přistupovalo k sekvenování nepřímo sekvenací molekuly RNA. Následovaly další dvě účinnější metody. Na první chemické metodě se podílely Maxam a Gilbert, avšak až Sangerovo biochemické sekvenování se rozšířilo do laboratoří po celém světě a začalo se používat komerčně (Koubková, Vojtěšek, Vyzula, 2014).

9.1.1 Sangerovo sekvenování

U této metody je díky polymeráze syntetizován úsek DNA k jednovláknovému templátu, přičemž na určitých místech dochází k terminaci a vznikají tak různé dlouhé jednovláknové úseky. Terminace je pak závislá na dosažení určitého nukleotidu, kdy je možné stanovit délku nasyntetizovaného úseku od začátku až k danému nukleotidu díky elektroforéze. Tato metoda sekvenování byla velmi pracná a časově náročná, proto se začalo pracovat na její automatizaci a došlo k vývoji automatických sekvenátorů, které výrazně snížily dobu sekvenace (Koubková, Vojtěšek, Vyzula, 2014). V současné době dochází k rozvoji sekvenování nové generace (NGS; Next Generation Sequencing), u kterého jsou zaváděny panely pro vyšetření vybraných genů. Například Cancer gene panel zajišťuje souběžnou analýzu 25 rizikových genů (*BRCA1/2*, *PALB2*, *ATM*, *RAD51C/D*, *CHEK2*, *APC*, *TP53* a další). Výstup z této metody by měl být také ověřen dalšími metodami (Slabý *et al.*, 2014).

9.1.2 Sekvenování nové generace

K velkému pokroku v této oblasti došlo díky sekvenátorům nové generace. Tyto sekvenátory umožňují masivní paralelní sekvenování až tisíců molekul DNA současně. Zároveň díky použití tohoto přístroje došlo k výraznému snížení nákladů a času potřebného k sekvenaci dlouhých DNA úseků (Koubková, Vojtěšek, Vyzula, 2014). V současné době jsou komerčně dostupné 4 technologie. Zásadním rozdílem mezi Sangerovo sekvenováním a NGS je to, že místo dlouhých sekvencí DNA jsou vygenerovány miliony krátkých úseků. Také není nutná amplifikace a k sekvenaci stačí jednotlivé DNA molekuly. Tyto metody také umožňují sekvenaci obou konců DNA, což napomáhá k detekci somatických přestaveb (Reis-Filho, 2009).

9.1.3 NGS platformy

Obecně lze postup sekvenování nové generace rozdělit do tří kroků, které provádí každá platforma. Jednotlivé platformy se pak liší ve způsobu realizace těchto tří kroků (Berglund, Kiialainen, Syvänen, 2011). Rozdíly lze najít i v typu a množství výstupních dat jednotlivých technologií (Koubková, Vojtěšek, Vyzula, 2014). Prvním krokem je vytvoření knihovny nukleových kyselin a jejich následná amplifikace. Knihovna je tvořena sestřížením vzorku DNA na malé fragmenty, na jejichž konce jsou ligovány adaptéry, což jsou syntetické oligonukleotidy o známé sekvenci. Na adaptéry pak nasedají komplementární primery a dochází k amplifikaci pomocí PCR (Berglund, Kiialainen, Syvänen, 2011).

Následuje další krok, který zahrnuje samotné sekvenování a následné zobrazování. Některé technologie využívají sekvenování syntézou, kdy je z knihovny fragmentů syntetizován nový DNA fragment. Následuje promývání mnoha fragmentů o známé nukleotidové sekvenci. Nukleotidy se začleňují do rostoucího DNA řetězce a dochází k detekci nukleotidové sekvence (Quail *et al.*, 2012).

Posledním krokem je analýza dat. Nejprve je nutné odstranit data týkající se adaptérů a nekvalitně přečtených sekvencí. Poté se může přistoupit k mapování dat k referenčnímu genomu, nebo ke sladění získaných sekvencí a jejich následné analýze. Skrze různé softwary dle našich preferencí pak získáváme data například o SNPs, mutacích či o úrovni exprese transkriptomu (Gogol-Döring and Chen,

2012). K nejpoužívanějším platformám patří Roche454, Illumina, SOLID, Ion Torrent, PacBio, Oxford Nanopore.

9.1.4 Využití NGS technologií v nádorové diagnostice

Přestože ke zjištění, že některé typy rakoviny mohou být dědičné, došlo teprve na začátku 20. století, s přispěním NGS metod již bylo prozkoumáno mnoho nádorů a objeven nespočet pro ně typických mutovaných genů a jejich variant (Boveri, 2008). S těmito metodami jsou spojeny výzkumné projekty jako je The Cancer Genome Atlas a International Cancer Genome Consortium, kde je možné najít informace o tisících tumorů různých typů rakovin (TCGA, 2015) - (International Cancer Genome Consortium, 2012).

V rámci sekvenování existuje několik přístupů podle toho, který úsek DNA chceme osekvenovat. V onkologické praxi pak dochází k porovnání sekvencí zdravé a nádorové DNA (Koubková, Vojtěšek, Vyzula, 2014).

Jednou z variant je celogenomové sekvenování, které slouží k získání informace o celkové chromozomální DNA. Tato metoda je využívána hlavně ve výzkumech a jsou na ní založené různé populační studie. Jsou zde zastoupeny jak kódující sekvence, tak ty nekódující, které zahrnují například promotorové a regulační oblasti. Tento přístup zkoumání DNA je zásadní při objevování nových a vzácných mutací a také chromozomálních přestaveb. Další možností je exomové sekvenování, které se zaměřuje jen na kódující oblast a je tak o něco rychlejší a méně nákladné než celogenomové sekvenování. Díky exomovému sekvenování byly objeveny například mutace odpovědné za familiární nádory pankreatu, dědičného feochromocytomu či familiárního melanomu. K charakterizaci nádoru přispívá hlavně sekvenování transkriptomu, kde jsou sekvenovány všechny molekuly RNA. Tento přístup je využíván zejména k detekci mezigenových fúzí, které jsou u nádorů velmi časté. Tato metoda také přispívá k odhalení somatických mutací a alternativních sestřihových variant. Poslední možností je sekvenování vybraných oblastí, přičemž se většinou jedná o vybrané geny. Tato metoda je využívána zejména k sekvenování velkého počtu vzorků při screeningu, validaci genetických variant v populaci a k identifikaci vzácných variant (Koubková, Vojtěšek, Vyzula, 2014).

Pro klinickou praxi vědci sestavili sekvenační panely se zaměřením na určité regiony genomu, kde často vznikají mutace charakteristické pro rakovinu či další nemoci (Rehm, 2013). Na rozdíl od celogenomového sekvenování spočívá výhoda sekvenování vybraných oblastí v nižších nákladech a ve snížených nárocích na čas. Důležitou roli při výběru tohoto přístupu hraje také to, že získáváme menší množství dat (Xuan *et al.*, 2012).

10. PREVENCE HEREDITÁRNÍCH NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ

Primární prevence závisí hlavně na pacientovi a jeho životním stylu. V rámci primární prevence by se měl jedinec vyvarovat kouření a alkoholu. Dále je doporučeno omezit tuky, maso, uzeniny a zařadit do jídelníčku více vlákniny, ovoce a zeleniny. Důležitá je také pravidelná fyzická aktivita a člověk by se měl rovněž vyhnout nadměrnému stresu a slunění (Altaner, 2008).

11. LÉČBA HEREDITÁRNÍCH NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ

Základem léčby je sledování pacienta, který dochází v různých intervalech na preventivní vyšetření. Přitom u nádorových onemocnění je důležitá spolupráce onkologa, chirurga a specialisty pro postiženou část těla. U některých syndromů lze také aplikovat chemoprevenci. Tyto léky se podávají jen po určitou dobu a jejich užívání má i negativní účinky. Alternativou pak také mohou být chirurgické operace, které vedou k odstranění problematických oblastí, jako jsou vaječníky, děloha, mléčné žlázy či část zažívacího traktu (Altaner, 2008; ČLS JEP, 2009).

12. ZÁVĚR

Geny s mutacemi způsobujícími nádorové syndromy jsou většinou zapojeny v signalizaci nebo opravě poškozené DNA. Aby se mohlo přistoupit k odhalení mutace, je zapotřebí mít informace o kooperaci mezi jednotlivými proteiny, které jsou zásadní pro opravné mechanismy buňky. V těchto mechanismech je často zastoupeno mnoho proteinů, které vzájemně interagují a u kterých dosud nejsou známy jejich funkce.

Čím více budeme vědět o rakovině a jejím genetickém podkladu, tím lépe budeme moci nastavit léčbu a prevenci. Je proto důležitá kooperace genetických institucí po celém světě, aby se poznatky u vzácnějších nemocí daly globalizovat a aplikovat na jakoukoliv populaci. Je důležité mít kompletní informace z výzkumů o jednotlivých mutacích, aby se mohlo předpovídat riziko, průběh nemoci a jednotlivé symptomy, což je předpokladem k sestavení jednotlivých pilířů léčby. U dědičných nádorových systémů je totiž léčba závislá na prevenci a sledování jednotlivých částí těla, kde by se mohla později rakovina projevit. I když jsou dnes dostupné různé metody detekce mutovaných genů, i přesto existuje spousta škodlivých mutací, které dosud nebyly odhaleny a je třeba je dále zkoumat.

Diagnostika dědičných nádorových syndromů je velmi nákladná a přistupuje se k ní jen za určitých okolností. Sledováno je mnoho parametrů, z nichž nejdůležitějším je rodinné zatížení.

13. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK:

- APC* - adenomatous polyposis coli, adematózní polypóza
- A-T - Ataxia-Telangiectasia
- ATM* - Ataxia-Telangiectasia mutated
- BARD1* - *BRCA1* Associated RING Domain 1
- BASC komplex - *BRCA1*-associated genome surveillance complex
- BNC2*- Basonuclin 2
- BRC repetice - *BRCA* C-terminal repeats
- BRCA1* - Breast cancer 1
- BRCA2* - Breast cancer 2
- BRCT - *BRCA1* C- terminal
- BRIP1* - *BRCA1* interacting protein C-terminal helicase 1
- BLM* - Bloom syndrome
- CA125 - Cancer antigen125, Tumorový antigen 125
- CDK4* - Cyclin-dependent kinase 4
- CDKN2* - Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A
- cDNA - complementary DNA, komplementární DNA
- CI - confidence interval, konfidenční interval
- DGGE - denaturing gradient gel electrophoresis, elektroforéza v gradientovém
- DHPLC - denaturační vysokorozlišovací kapalinová chromatografie
- DMC1* - DNA meiotic recombinase 1
- DNA - deoxyribonukleová kyselina
- dsDNA - double strand DNA, dvouřetězcová DNA
- FANCD2 - Fanconi anemia complementation group D2
- FAP - familial adenomatous polyposis , familiární adematózní polypóza
- FHA - Fork head-associated domain
- HBC - hereditary breast cancer, hereditární karcinom prsu
- HBOC - hereditary breast and ovarian cancer, hereditární karcinom prsu a ovárií
- HNPCC - hereditary nonpolyposis colorectal cancer, hereditární nepolypózní kolorektální karcinom
- HRM - high resolution melting, Vysokorozlišovací analýza křivek tání
- CHK2* - Checkpoint kinase 2

CHRPE - congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium, Vrozená kongenitální hypertrofie pigmentového epitelu sítnice

KD - Catalytic kinase domain

LOH - loss of heterozygosity, pokles heterozygotnosti

LR PCR - long - range PCR, amplifikace dlouhých úseků genomické DNA

MLH1 - mutL homolog 1.

MLPA - Multiple - Ligation Probe Amplification

MMR - mismatch repair

MRE11 - Meiotic recombination 11

MSH - MutS homolog

MSH2 - mutS homolog 2.

MutLa - heterodimer MLH1 s PMS2

MutS alpha - heterodimer MSH2 s MSH6

MutS beta - heterodimer MSH2 s MSH3

MutSa - heterodimer MSH2 s MSH6

MutSb - heterodimer MSH2 s MSH3

NHEJ - non - homologous end joining, nehomologní spojování konců

NLS - Nuclear Localisation Signal, jaderný lokalizační signál

NGS - Next generation sequencing, Sekvenování nové generace

PALB2 - Partner and localizer of *BRCA2*

PCR – Polymerase chain reaction, Polymerázová řetězová reakce

PLEXAMP – MultiPLEX AMPlification PCR, System Kvantitativní multiplex amplifikace fragmentů genomu pomocí PCR denaturačním gelu

PTT – protein truncation test

RAD51B - *RAD51* Paralog B

RAD51C - *RAD51* paralog C

RAD51D - *RAD51* Paralog D

Rb1 - Retinoblastoma 1

RNA - ribonucleic acid, ribonukleová kyselina

SNP - single nucleotide polymorphism, jednonukleotidový polymorfismus

TP53 - Tumor protein p53

UADT - upper aerodigestive tract, horní aerodigestivní trakt

UTR- untranslated region, nepřekládaná oblast

XRCC3 - X - ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 3

14. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

Agarwal, P., Kabir, F. M. L., DeInnocentes, P., Bird, R. C., 2012. Tumor Suppressor Gene p16/INK4A/CDKN2A and Its Role in Cell Cycle Exit, Differentiation, and Determination of Cell Fate, *Vet Sci*, 21 s.

Akbari, M., R., Tonin, P., Foulkes, W., D., Ghadirian, P., G., Tischkowitz, M., Narod, S., A., 2010. RAD51C germline mutations in breast and ovarian cancer patients, *Breast Cancer Res*, 12:404.

Altaner, Č., 2008. Buněčná a molekulární biologie rakoviny, *Liga proti rakovině*, 127 s., ISBN: 978-80-86031-85-9.

AmbryGenetics, 2016. CDKN2A and CDK4 Testing, *AmbryGenetics* [online]. [cit. 2016-03-19]. Dostupné z: <http://www.ambrygen.com/tests/cdkn2a-and-cdk4-testing>

American Cancer Society, 2015. What are the risk factors for ovarian cancer?, *American Cancer Society* [online]. [cit. 2015-07-19]. Dostupné z: <http://www.cancer.org/cancer/ovariancancer/detailedguide/ovarian-cancer-risk-factors>

At-children's project, 2013. About Ataxia-telangiectasia, *At-children's project* [online]. [cit. 2015-09-04]. Dostupné z: <http://www.atcp.org/WhatIsAT>

Apostolou, P., Fostira, F., 2013. Hereditary breast cancer: the era of new susceptibility genes, *Biomed Res Int*, 747318.

Bartek, J., Falck, J., Lukas, J., 2001. Chk2 kinase — a busy messenger, *Nat. Rev. Mol Cell Biol*, 2: 877-886.

Bell, D., W., Varley, J., M., Szydlo, T., E., Kang, D., H., Wahrer, D., C., Shannon, K., E., et al., 1999. Heterozygous Germ Line hCHK2 Mutations in Li-Fraumeni Syndrome, *Science*, 286: 2528-2531.

BIOGEN, Kity standardně v prodeji. *BIOGEN* [online]. [cit. 2016-03-15]. Dostupné z: <http://www.biogen.cz/kity-standardne-v-prodeji>

Bogdanova, N., Helbig, S., Dörk, T., 2013. Hereditary breast cancer: ever more pieces to the polygenic puzzle, *Hered Cancer Clin Pract*, 11(1): 12.

Boveri, T., 2008. Concerning the origin of malignant tumours by Theodor Boveri. Translated and annotated by Henry Harris, *J Cell Sci*, 121, 1-84.

Byrnes, G., B., Southey, M., C., Hopper, J., L., 2008. Are the so-called low penetrance breast cancer genes, ATM, BRIP1, PALB2 and CHEK2, high risk for women with strong family histories?, *Breast Cancer Res*, 10:208.

Calvez-Kelm, F., L., Oliver, J., Damiola, F., Forey, N., Robinot, N., Durand, G., Voegelé, C., Vallée, M., P., Byrnes, G., Hopper, J., L., Southey, M., C., Andrulis, I., L., 2012. RAD51 and Breast Cancer Susceptibility: No Evidence for Rare Variant Association in the Breast Cancer Family Registry Study, *PLoS ONE*, 7(12): e52374.

Cancer.Net Editorial Board, 2014. Hereditary Breast and Ovarian Cancer, *Cancer.Net* [online]. [cit. 2016-09-07]. Dostupné z: <http://www.cancer.net/cancer-types/hereditary-breast-and-ovarian-cancer>

Cancr.Net, 2014. Ataxia-Telangiectasia, *Cancer.Net* [online]. [cit. 2016-11-11]. Dostupné z: <http://www.cancer.net/cancer-types/ataxia-telangiectasia>

Casadei S., Norquist B., M., Walsh T., et al., 2011. Contribution to familial breast cancer of inherited mutations in the *brca2*-interacting protein *palb2*, *Cancer Res*, 71(6):2222-2229.

Clague, J., Wilhoite, G., Adamson, A., Bailis, A., Weitzel, J., Neuhausen, S., 2011. RAD51C Germline Mutations in Breast and Ovarian Cancer Cases from High-Risk Families. *PLoS ONE*, 6(9):1-6.

Cleary, S., P., Zhang, W., Di Nicola, N., Aronson, M., Aube, J., Steinman, A., Haddad, R., Redston, M., Gallinger, S., Narod, S., A., Gryfe, R., 2003. Heterozygosity for the BLM(Ash) mutation and cancer risk, *Cancer Res*, 63(8):1769-71.

Crawford, T., O., 2011. Photo Ocular telangiectasia in a person with A-T, *Wikipedia* [online]. [cit. 2016-03-05], Dostupné z: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Photo_Ocular_telangiectasia_in_a_person_with_A-T.jpg

Cybulski, C. et al. 2004. CHEK2 is a multiorgan cancer susceptibility gene, *Am J Hum Genet*, 75:1131-1135.

Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně (ČLS JEP), 2009. Dispenzarizace dědičných nádorových syndromů. *Klin Onkol*, č. 22.

Domingo, E., Schwartz, S., 2005. MLH1 (human mutL homolog 1), *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology* [online]. [cit. 2016-03-21], Dostupné z: <http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/MLH1ID149ch3p21.html>

Drábek, J., et al., 2012. Detekce nádorových biomarkerů v molekulárně biologické laboratoři, Univerzita Palackého v Olomouci, 148 s.

Dušek, L., Mužík, J., Kubásek, M., Koptíková J., Žaloudík J., Vyzula, R., 2005. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice, Masarykova univerzita, nestránkováno.

Elbendary A., M., 2015. Bloom Syndrome (Congenital Telangiectatic Erythema), *Medscape* [online]. [cit. 2015-09-12]. Dostupné z: <http://emedicine.medscape.com/article/1110271-overview>

Fodde, R., 2016. Colorectal cancer, *ESGM* [online]. [cit. 2016-03-12]. Dostupné z: http://streaming.cineca.it/sestri/courses/cancgen/Fodde2_frameset.htm

Foretová L., Machácková E., 2011. Molekulární analýza BRCA1 a BRCA2, Masarykův onkologický ústav, 6 s.

Futaki, M., Liu, J., M., 2001. Chromosomal breakage syndromes and the BRCA1 genome surveillance complex, *Trends Mol Med*, 6, 560-565.

GeneCards, 2016. *CDK4* Gene, *GeneCards: Human gene database* [online]. [cit. 2016-03-19], Dostupné z: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CDK4&keywords=CDK4>

GHR, 2015. Genes: *APC*, *GHR* [online]. [cit. 2015-07-30], Dostupné z: <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/APC>

GHR, 2015. Genes: *BRCA1*, *GHR* [online]. [cit. 2015-07-10], Dostupné z: <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/BRCA1>

GHR, 2015. Genes: *BLM*, *GHR* [online]. [cit. 2015-07-10], Dostupné z: <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/BLM>

GHR, 2015. Genes: *BRCA2*, *GHR* [online]. [cit. 2015-07-10], Dostupné z: <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/BRCA2>

GHR, 2015. Genes: *CHEK2*, *GHR* [online]. [cit. 2015-07-04], Dostupné z: <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/CHEK2>

GHR, 2016. Genes: *CDKN2A*, *GHR* [online]. [cit. 2016-03-19], Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/CDKN2A>

GHR, 2016. Genes: *MLH1*, *GHR* [online]. [cit. 2016-03-21], Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MLH1>

GHR, 2016. Genes: *MSH2*, *GHR* [online]. [cit. 2016-03-21], Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MSH2>

GHR, 2015. Genes: *RAD51*, *GHR* [online]. [cit. 2015-07-10], Dostupné z: <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/RAD51>

GHR, 2016. Genes: *Rb1*, *GHR* [online]. [cit. 2016-03-20], Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/RB1>

GHR, 2016. Genes: *TP53*, *GHR* [online]. [cit. 2016-03-18], Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/TP53>

German, J., 1995. Bloom's syndrome. *Dermatol Clin*, 13: 7-18.

GHC GENETICS, Onkogenetika: BRCA 1,2, *GHC GENETIC* [online]. [cit. 2016-03-15], Dostupné z: <http://www.ghcgenetics.cz/geneticke-testy-hrazenezdravotni-pojistovnou/onkogenetika>

Giardiello, F., M., Brensinger, J., D., Petersen, G., M. *et al.*, 1997. The use and interpretation of commercial APC gene testing for familial adenomatous polyposis. *N Engl J Med*, 336(12): 823-827.

Gille, J., J., P., Hogervorst F., B., L., Pals, G., Wijnen, J., Th., van Schooten, R., J., Dommering D., J., Meijer G., A., Craanen, M., E., Nederlof, P., M., de Jong, D., McElgunn, C., J., Schouten, J., P., Menko, F., H., 2002. Genomic deletions of MSH2 and MLH1 in colorectal cancer families detected by a novel mutation detection approach, *Br J Cancer*, 892-897.

Gogol-Döring, A., Chen, W., 2012. An overview of the analysis of next generation sequencing data, *Methods Mol Biol*, 802:249–57.

Golmard, L., Caux-Moncoutier, V., Stoppa-Lyonnet, D., *et al.* 2013. Germline mutation in the RAD51B gene confers predisposition to breast cancer, *BMC Cancer*, 13(1):1-19.

Gruber, S., B., Ellis N., A., Rennert, G., Offit, K., Scott, K., K., Almog, R., Kolachana, P., Bonner, J., D., Kirchhoff, T., Tomsho, L., P., Nafa, K., Pierce, H., Low, M., Satagopan, J., Rennert, H., Huang, H., Greenson, J. K., Groden, J., Rapaport, B., Shia, J., Johnson, S., Gregersen, P., K., Harris, C., C., Boyd, J., 2002. BLM heterozygosity and the risk of colorectal cancer, *Science*, 297.

Guénard, F., Durocher, F., 2010. BRCA2 (breast cancer 2, early onset), *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology* [online]. [cit. 2016-02-26], Dostupné z: <http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/BRCA2ID164ch13q13.html#LINKS>

Guénard, F., Durocher, F., 2010. BRCA2 (breast cancer 2, early onset), *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology* [online]. [cit. 2015-11-15], Dostupné z: <http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/BRCA2ID164ch13q13.html>

Half, E., Bercovich, D., Rozen, P., 2009. Familial adenomatous polyposis, *Orphanet J Rare Dis*, 4: 22.

HBOC Society, 2016. About HBOC Syndrome, *HBOC Society* [online]. [cit. 2016-02-25], Dostupné z: http://hbocsociety.org/?page_id=2

He, Y., Zhang, Y., Jin, C., Deng, X., Wei, M., Wu, Q., Yang, T., Zhou, Y., Wang, Z., 2014. Impact of XRCC2 Arg188His polymorphism on cancer susceptibility: a meta-analysis, *PLoS One*, 9(3):e91202.

Hofstatter, E., W., Domchek, S., M., Miron, A., Garber, J., Wang, M., Componeschi, K., Boghossian, L., Miron, P., L., Nathanson, K., L., Tung, N., 2011. PALB2 mutations in familial breast and pancreatic cancer, *Fam Cancer*, 10(2):225-31.

Chen, J., Silver, D., Cantor, S., Livingston, D., M., Scully, R., 1999. *BRCA1*, *BRCA2*, and *Rad51* Operate in a Common DNA Damage Response Pathway, *Cancer Res*, 1752 pp.

IBA MU, 2014. Česká onkologie v číslech: stručné shrnutí, *IBA MU* [online]. [cit. 2016-02-26], Dostupné z: <http://www.onconet.cz/index.php?pg=aktuality&aid=981>

International Cancer Genome Consortium, 2012. Cancer Genome Projects, *International Cancer Genome Consortium* [online]. [cit. 2015-09-09], Dostupné z: <https://icgc.org/>

Janniger, C., K., 2015. Ataxia-Telangiectasia, *Medscape*, nestránkováno

Johnson, J., Healey, S., Khanna, K., K., Chenevix-Trench, G., 2011. Mutation analysis of RAD51L1 (RAD51B/REC2) in multiple-case, non-BRCA1/2 breast cancer families, *Breast Cancer Res Treat*, 129:255-263.

Jones, S., Hruban, R., H., Kamiyama, M., et al. 2009. Exomic sequencing identifies PALB2 as a pancreatic cancer susceptibility gene. *Science*, 324:217.

Kacerovská, D., Kazakov, D., Černá, K., Michal M., 2010. Muir-Torre syndrom: molekulární biologie, *Bioptická laboratoř s.r.o.* [online]. [cit. 2016-03-21], Dostupné z: <http://www.lynch.cz/Muir-Torre-syndrom/slovník/tabulka-1.php>

Kacerovská, D., Kazakov, D., Černá, K., Michal, M., 2010. Muir-Torre syndrom: Úvod, *Bioptická laboratoř s.r.o.* [online]. [cit. 2016-03-21], Dostupné z: <http://www.lynch.cz/Muir-Torre-syndrom/uvod.php>

Karow, J., K., Constantinou, A., Li, J., L., West, S., C., Hickson, I., D., The Bloom's syndrome gene product promotes branch migration of holliday junctions, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97(12):6504-8.

Katiyar, P., Ma, Fan, Y., S., Pestell, R., G., Furth, P., A., Rosen, E., M., 2006. Regulation of progesterone receptor signaling by BRCA1 in mammary cancer, *Nucl Recept Signal*, 4: e006.

- Klener, P., 2013. Principy systémové protinádorové léčby, *Grada*, 200 s.
- Ken, K., 2014. Structural mechanisms of human RecQ helicases WRN and BLM, *Front Genet.*, 5:1-11.
- Kepák, T., Kratochvílová, A., Valášková, I., Zajíčková, V., Autrata, R., Gaillyová, R., Štěřba, J., 2007. Dětská onkologie: Molekulární diagnostika Rb1 genu u dětí s retinoblastomem: od DNA k RNA diagnostice, *ČOS ČLS JEP* [online]. [cit. 2016-03-21], Dostupné z: http://www.linkos.cz/files/abstrakta/BOD2007_99.pdf
- Kim, B., Giardiello, F., M., 2011. Chemoprevention in familial adenomatous polyposis, *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 607-22.
- Kleibl, Z., Novotny, J., Bezdickova, D., Malik, R., Kleiblova, P., Foretova, L., *et al.* 2005. The CHEK2 c.1100delC germline mutation rarely contributes to breast cancer development in the Czech Republic, *Breast Cancer Res Treat*, 90: 165-167.
- Kniffin , C., L., 2003. Ataxia-telangiectasia mutated gene; *ATM*, *OMIM*, [online]. [cit. 2015-09-21], Dostupné z:<http://www.omim.org/entry/607585?search=Kniffin%20%2C%20C.%20L.%2C%20%282003%29.%20Ataxia-telangiectasia%20mutated%20gene&highlight=ataxy%20c%202003%20kniffin%20atactic%20telangiectasia%201%20mutated%20ataxiatelangiectasia%20ataxia%20ataxic%20gene>
- Koubková, L., Vojtěšek, B., Vyzula, R., 2014. Sekvenování nové generace a možnosti jeho využití v onkologické praxi. *Klin Onkol*, 27: 61-68.
- Krutílková, V., Eckschlager, T., 2009. Dispenzarizace dědičných nádorových syndromů: Přehled syndromů spojených s rizikem nádorů dětského věku, *Klin Onkol*, č. 22.
- Lau, CH., Suthers, G., 2011. BRCA testing for familial breast cancer, *Aust Prescr*, 34:49-51.

Li, X., *et al.*, 2014. XRCC2 gene polymorphisms and its protein are associated with colorectal cancer susceptibility in Chinese Han population, *Med Oncol*, 31, 11, 245.

Li, J., Williams, B., L., Haire, L., F., Goldberg, M., Wilker, E., Durocher, D., *et al.*, 2002. Structural and functional versatility of the FHA domain in DNA-damage signaling by the tumor suppressor kinase Chk2, *Mol Cell*, 9: 1045-1054.

Lin, W., Y., Camp, N., J., Cannon-Albright, L., A., Allen-Brady, K., Balasubramanian, S., Reed, M., W., Hopper, J., L., Apicella, C., Giles, G., G., Southey, M., C., Milne, R., L., Perez, J., I., A., Rodríguez, P., M., Benítez, J., Grundmann, M., Dubrowinskaja, N., Park-Simon, T., W., Dörk, T., Garcia-Closas, M., Figueroa, J., Sherman, M., Lissowska, J., Easton, D., F., Dunning, A., M., Rajaraman, P., Sigurdson, A., J., Doody, M., M., Linet, M., S., Pharoah, P., D., Schmidt, M., K., Cox, A., 2011. A role for XRCC2 gene polymorphisms in breast cancer risk and survival, *J Med Genet*, 48(7): 477-484.

Lohmann, D., R., 1999-09. Rb1, *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology* [online]. [cit. 2016-03-20], Dostupné z: http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/GC_RB1.html

Lowy, A., M., Kordich, J., J., Gismondi, V., Varesco, L., Blough, R., I., Groden, J., 2001. Numerous colonic adenomas in an individual with Bloom's syndrome, *Gastroenterology*, 121: 435-439.

Malkin, D., 2011. Li-Fraumeni Syndrome, *Genes Cancer*, 475-484.

Masarykův onkologický ústav, 2015. Genetické poradenství u rizikových nádorových rodin, *Masarykův onkologický ústav* [online]. [cit. 2016-03-20], Dostupné z: <https://www.mou.cz/geneticke-poradenstvi-u-rizikovych-nadorovych-rodin/t2044>

Meindl, A., Hellebrand, H., Wiek, C., Erven, V., Wappenschmidt, B., Niederacher, D., Freund, M., Lichtner, P., Hartmann, L., Schaal, H., Ramser, J., Honisch, E., and 12 others, 2010. Germline mutations in breast and ovarian cancer pedigrees establish RAD51C as a human cancer susceptibility gene, *Nature Genet*, 42: 410-414.

Moyer, A., V., 2014. Risk Assessment, Genetic Counseling, and Genetic Testing for BRCA-Related Cancer in Women: U. S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement, *Ann Intern Med*, 160(4):271-281.

NCI, Li-Fraumeni Syndrome Study, *NCI: The Division of Cancer Epidemiology and Genetics* [online]. [cit. 2016-02-14], Dostupné z: <http://lfs.cancer.gov/about.html>

NCBI, 2015. *RAD51* *RAD51* recombinase [Homo sapiens (human)], *NCBI* [online]. [cit. 2016-01-25], Dostupné z: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?cmd=Retrieve&dopt=full_report&list_uids=5888

Nevanlinna, H., Bartek, J., 2006. The CHEK2 gene and inherited breast cancer susceptibility, *Oncogene*, 25, 5912-5919.

O'Donovan P., J., Livingston, D., M., 2010. BRCA1 and BRCA2: breast/ovarian cancer susceptibility gene products and participants in DNA double-strand break repair, *Carcinogenesis*, 31:961-967.

Pandita, T., K., 2002. ATM function and telomere stability, *Oncogene*, 21, 611-618.

Plevová, P., Krutílková, V., Petráková, K., Palácová, M., Foretová, L., Novotný, J., 2009. Dispenzarizace dědičných nádorových syndromů: Syndrom Li-Fraumeni, *Klin Onkol*, č. 22, 77 s.

Plevová, P., Novotný, J., Šachlová, M., Křepelová, A., Foretová L., 2009. Dispenzarizace dědičných nádorových syndromů: Hereditární nepolypózní kolorektální karcinom (HNPCC, Lynchův syndrom), *Klin Onkol*, č. 22, 77 s.

Plevová, P., Novotný, J., Petráková, K., Palácová, M., Kalábová, R., Schneiderová, M., Foretová, L., 2009. Dispenzarizace dědičných nádorových syndromů: Syndrom hereditárního karcinomu prsu a ovarií, *Klin Onkol*, č. 22, 77 s.

Plevová P., Štekrová J., Kohoutová M., Novotný J., Šachlová M., Petráková K., Foretová L., 2009. Dispenzarizace dědičných nádorových syndromů: Familiární adenomatózní polypóza, *Klin Onkol*, č. 22, 77 s.

Poumpouridou, N., Kroupis, Ch., 2012. Hereditary breast cancer: beyond BRCA genetic analysis; PALB2 emerges, *Clin Chem Lab Med*, 50(3):423-434.

Prestagen, 2016. Systém pro kvantitativní multiplex amplifikaci DNA, *Prestagen* [online]. [cit. 2016-03-15], Dostupné z: http://www.pentagen.cz/files/download/prestagen/Manual_PXT5_BRCA2.pdf

Quail, M., A., Smith, M., Coupland, P., et al., 2012. A tale of three next generation sequencing platforms: comparison of Ion Torrent, Pacific Biosciences and Illumina MiSeq sequencers, *BMC Genom*, 24;13:341.

JNCI, 2010. Rare ATM Gene Mutations, Plus Radiation, May Increase Risk of a Second Breast Cancer. *JNCI*, 102(7).

Rehm, H., L., 2013. Disease-targeted sequencing: a cornerstone in the clinic, *Nat Rev Genet*, 14:295-300.

Reid, S., Schindler, D., Hanenberg, H., et al., 2007. Biallelic mutations in PALB2 cause Fanconi anemia subtype FA-N and predispose to childhood cancer, *Nat Genet*, 39:162-164.

Reis-Filho, J., S., 2009. Next-generation sequencing, *Breast Cancer Res*, 11: 1-7.

Rivlin, N., Brosh, R., Oren, M., Rotter, V., 2011. Mutations in the p53 Tumor Suppressor Gene: Important Milestones at the Various Steps of Tumorigenesis, *Genes & Cancer*, 2(4):466-474.

Rowan, A., J., Lamlum, H., 2000. APC mutations in sporadic colorectal tumors: A mutational 'hotspot' and interdependence of the 'two hits', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97, 7, 3352.

Ruijs, M., W., Broeks, A., Menko, F., H., *et al.*, 2009. The contribution of ChEK2 to the TP53-negative Li-Fraumeni phenotype, *Hered Cancer Clin Pract*, 7(1): 4.

Scully, R., Chen, J., Plug A., Xiao, Y., Weaver, D., Feunteun, J., Ashley, T., Livingston, D., M., 1997. Association of BRCA1 with Rad51 in mitotic and meiotic cells, *Cell*, 88(2):265-75.

Schwarz, J., K., Lovly, C., M., Piwnica-Worms, H., 2003. Regulation of the Chk2 protein kinase by oligomerization-mediated cis- and trans-phosphorylation , *Mol Cancer Res*, 1:598-609.

Slabý, O. *et al.*, 2014. Molekulární medicína, *Galén*, 598 s.

Slater, E., P., Langer, P., Niemczyk, E., Strauch, K., Butler, J., Habbe, N., Neoptolemos, J., P., Greenhalf, W., Bartsch, D., K., 2010. PALB2 mutations in European familial pancreatic cancer families, *Clin Genet*, 78(5):490-4.

Sreeparna, B., 2007. BRCA1 (breast cancer 1, early onset), *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology* [online]. [cit. 2015-11-15], Dostupné z: <http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/BRCA1ID163ch17q21.html#LINKS>

Svoboda, M., Vorlíček, J., 2012. Závěrečná zpráva o řešení výzkumného záměru „Funkční diagnostika zhoubných nádorů“, Masarykův onkologický ústav [online]. [cit. 2016-03-15], Dostupné z: <https://www.mou.cz/zaverecna-zprava-o-reseni-vz-fundin-2005-2011-cast-vedecka/f1354>.

Štekrová, J., *et al.*, 2007. Familiární adenomatózní polypóza a její genetické vyšetření, *Okologická péče*, 13-15 s.

NCI, 2006. Ataxia Telangiectasia, *NCI* [online]. [cit. 2015-07-10], Dostupné z: <http://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/genetics/ataxia-fact-sheet>

Teo, Z., L., Park, D., J., Provenzano, E., Chatfield, C., A., Odefrey, F., A., Nguyen-Dumont, T., Dowty, J., G., Hopper, J., G., Winship, I., Goldgar, D., E., Southey, M., C., 2013. Prevalence of PALB2 mutations in Australasian multiple-case breast cancer families, *Breast Cancer Res*, 15(1): R17.

The Cancer Genome Atlas, 2015. Program Overview, *TCGA* [online]. [cit. 2015-12-18], Dostupné z: <http://cancergenome.nih.gov/>

The CHEK2 Breast Cancer Case-Control Consortium, 2004. CHEK2*1100delC and Susceptibility to Breast Cancer: A Collaborative Analysis Involving 10,860 Breast Cancer Cases and 9,065 Controls from 10 Studies, *Am J Hum Genet*, 74(6), 1175-1182.

Thompson, D., Duedal, S., Kirner, J., Micguffock, L., Last, J., Reiman, A., Byrd, P., Taylor, M., Easton, D., F., 2005. Cancer Risks and Mortality in Heterozygous ATM Mutation Carriers. *JNCI*, 97(11): 813-822.

Tischkowitz, M., 2014. PALB2, BRCA2 Gene Mutations Confer Similar Breast Cancer Risk, *OncLive*, nestránkováno.

Tischkowitz, M., Xia, B., 2010. PALB2/FANCN - recombining cancer and Fanconi anemia, *Cancer Res*, 70(19): 7353-7359.

Trna, J., Stibůrek, O., Klímová, K., Mišejková, M., Šlapák, J., Robek, O., 2010. Familiární adenomatózní polypóza – doporučení pro screening a dispenzarizaci, *Interní Med*, 12(3): 145-147.

Tsuda, H., Fukutomi, T., Hirohashi, S., 1995. Pattern of gene alterations in intraductal breast neoplasms associated with histological type and grade, *Clin Cancer Res*, 1:261-267.

UniProt, 2014. UniProtKB - P43246 (MSH2_HUMAN), *UniProt* [online]. [cit. 2016-03-21], Dostupné z: <http://www.uniprot.org/uniprot/P43246>

UniProt, 2014. UniProtKB - Q06609 (RAD51_HUMAN), *UniProt*, Dostupné z: http://www.uniprot.org/uniprot/Q06609#section_comments

Voer, R., M., Hahn, M., M., Mensenkamp, A., R., Hoischen, A., Gilissen, Ch., Henkes, A., Spruijt, L., Zelst-Stams, W., A., Kets, C., M., Verwiel, E., T., Nagtegaal, I., D., Schackert, H., K., Kessel, A., G., Hoogerbrugge, N., Ligtenberg, M., J., L., Kuiper, R., P., 2015. Deleterious Germline BLM Mutations and the Risk for Early-onset Colorectal Cancer, *Sci Rep*, 14060.

Walsh, T., Casadei, S., Coats, K., *et al.*, 2006. Spectrum of Mutations in BRCA1, BRCA2, CHEK2, and TP53 in Families at High Risk of Breast Cancer, *JAMA*, 295(12):1379-1388.

Wang, Y., Cortez, D., Yazdi, P., Neff, N., Elledge, S., J., Qin, J., 2000. BASC, a super complex of BRCA1-associated proteins involved in the recognition and repair of aberrant DNA structures, *Genes Dev*, 14, 8, 927-939.

Wang, Y., Xiao, R., Ma, H., *et al.* 2014. The Arabidopsis RAD51 paralogs RAD51B, RAD51D and XRCC2 play partially redundant roles in somatic DNA repair and gene regulation, *New Phytol*, 201 (1):292-304.

Wehbi, M., 2015. Familial Adenomatous Polyposis Treatment & Management, *Medscape*, nestránkováno.

Wu, L., Davies, S., L., Levitt, N., C., Hickson, I., D., 2001. Potential role for the BLM helicase in recombinational repair via a conserved interaction with RAD51, *J Biol Chem*, 276(22):19375-81.

Xia, B., Sheng, Q., Nakanishi, K., *et al.* 2006., Control of BRCA2 cellular and clinical functions by a nuclear partner, *PALB2*, *Mol Cell*, 22:719-729.

Xuan, J., Yu, Y., Qing, T., *et al.* 2012. Next-generation sequencing in the clinic: promises and challenges, *Cancer Lett*, 340(2):284-95.

Zhong, Q., *et al.*, 1999. Association of BRCA1 with the hRad50 - hMre11 - p95 complex and the DNA damage response, *Science*, 285:747-750.