

# Dedičné nádorové syndrómy

RNDr. Katarína Závodná, PhD.<sup>1</sup>, RNDr. Miriam Milly, PhD.<sup>1</sup>, Ing. Ľudmila Vavrová, PhD.<sup>1</sup>,  
Mgr. Lenka Dolešová<sup>2</sup>, MUDr. Olívia Hamidová<sup>1</sup>, RNDr. Michal Konečný, PhD.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Oddelenie lekárskej genetiky, Onkologický ústav sv. Alžbety, Bratislava

<sup>2</sup>Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UN Bratislava

Dedičné nádorové ochorenia sú genetické ochorenia spôsobené zárodočnou mutáciou v určitom géne (génoch), ktoré u jedinca s mutáciou spôsobujú predispozíciu na vznik rôznych typov nádorov v mladom veku. Jedinci s mutáciou v určitom géne asociovanom s nádorovým ochorením majú nielen zvýšené riziko vzniku nádorov, ale v mnohých prípadoch u jedného jedinca vzniká aj viac typov nádorov. Dedičné nádorové ochorenia sú spôsobené mutáciami v tumor-supresorových génoch, onkogénoch alebo mutátorových génoch.

**Kľúčové slová:** hereditárne onkogenetické syndrómy, dedičnosť, DNA, hereditárny karcinóm prsníka a vaječníkov, hereditárny nepolypózny karcinóm hrubého čreva (Lynchov syndróm), hereditárny difúzny karcinóm žalúdka, mnohopočetná endokrinná neoplázia typu 2.

## Hereditary cancer syndromes

Hereditary cancer syndromes are genetic disorders caused by inherited mutations in one or more genes. These mutations predispose the affected individuals to the development of cancers, often early in life. Besides the high lifetime risk of developing cancer, mutation-carrying individuals are often at-risk to develop multiple independent primary tumors. Hereditary cancer syndromes are caused by mutations in tumor suppressor genes, oncogenes, and mutator genes.

**Key words:** hereditary cancer syndromes, heredity, DNA, hereditary breast and ovarian cancer, hereditary non-polyposis colon cancer (Lynch syndrom), hereditary diffuse gastric cancer, multiple endocrine neoplasia type 2.

Onkológia (Bratisl.), 2015; roč. 10(2): 84–89

## Úvod

V posledných dvoch desaťročiach pokrok v technikách molekulárnej biológie viedol k poznaniu, že okrem sporadických foriem (náhodne sa vyskytujúcich) nádorových ochorení existujú aj takzvané hereditárne (dedičné) typy nádorových ochorení. Hereditárne nádorové ochorenia predstavujú zhruba 5 – 10 % zo všetkých diagnostikovaných nádorov. Charakteristickým znakom hereditárnych nádorových ochorení je viacnásobný výskyt nádorov v rodine, viacpočetný výskyt nádorov u jedného jedinca

a výskyt nádorového ochorenia v mladom veku (pod 50 rokov). Medzi najznámejšie hereditárne nádorové ochorenia patria: dedičný karcinóm prsníka a vaječníkov, dedičný nepolypózny karcinóm hrubého čreva, dedičný medulárny karcinóm štítnej žľazy a mnohé ďalšie. Väčšina dedičných nádorových ochorení je spojená s pomerne veľkými gémi, bez jednoznačných hot-spot miest (miesta, kde sa preferenčne nachádzajú mutácie), čo spôsobuje, že ich testovanie je náročné na čas, prístrojové vybavenie a kvalifikovaný personál. V nasledujúcej práci sú

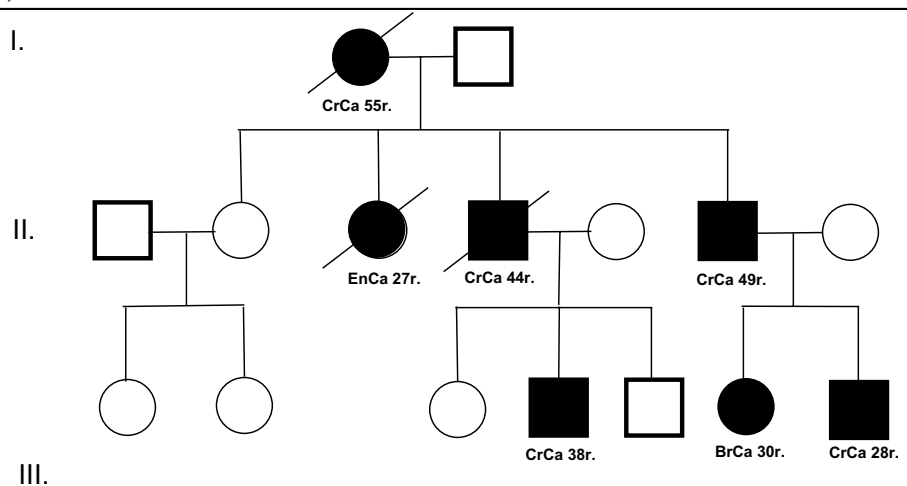
spomenuté vybrané dedičné nádorové ochorenia, ktorých komplexná diagnostika prebieha na Oddelení lekárskej genetiky Onkologického ústavu sv. Alžbety v Bratislave.

## Základné princípy dedičnosti predispozície k nádorovému ochoreniu

V rodine, v ktorej sa vyskytlo viac nádorových ochorení, je potrebné sledovať, či sa nádory vyskytujú u viacerých priamych pokrvných príbuzných (v línii rodičia – deti – vnuci – pravnuci alebo súrodenci navzájom) a vek diagnostikovania nádoru (nižší vek diagnózy, zvyčajne pod 50 rokov zvyšuje pravdepodobnosť, že môže íť o dedičné typy nádorov, ale nie je to pravidlo) (obrázok 1).

Princípom dedičnosti predispozície k nádorovému ochoreniu je prenos zárodočnej mutácie (zmeny v DNA) v konkrétnom géne z rodičov na potomstvo. Zárodočná mutácia je prítomná už v zárodočných bunkách a nachádza sa v každej bunke jedinca už od oplodnenia. Každý jedinec má vo svojich bunkách 46 chromozómov (23 párov), pričom každý chromozóm obsahuje jednu molekulu DNA nesúcu mnoho génov. Pohlavné bunky sa vyznačujú redukovaným počtom chromozómov (23 nespárovaných chromozómov), a práve spojenie dvoch pohlavných buniek umožňuje párovanie chromozómov. Následne sa

**Obrázok 1.** Príklad rodiny (rodokmeň) s výskytom dedičného nádorového ochorenia – Lynchovho syndrómu



Vysvetlivky: štvorec – muž, kruh – žena, čierna farba štvorca/kruhu – u danej osoby bol diagnostikovaný nádor, prečiarknutie štvorca/kruhu – úmrtie, CrCa – karcinóm kolorekta, EnCa – karcinóm endometria, BrCa – karcinóm prsníka, r – vek, v ktorom bol diagnostikovaný nádor

v dôsledku prítomnosti párových chromozómov u jedinca nachádzajú dve kópie (alely) určitého génu. Z uvedeného je zrejmé, že jedna kópia (alela) génu sa dedí od matky a druhá kópia (alela) od otca. Jedinec z rodiny, v ktorej sa dedí predispozícia k nádorovému ochoreniu, môže zdediť mutovanú alelu génu súvisiacu s nádorovým ochorením, pričom riziko, že zdedí práve mutovanú alelu, je 50 %. Ako príklad možno uviesť pacientku s karcinómom prsníka so zárodočnou mutáciou v géne *BRCA1*, pričom pre jej potomstvo platí, že majú až 50 % riziko, že túto mutáciu zdedia.

### Zárodočné mutácie a vznik dedičných nádorových ochorení

Zárodočnú mutáciu v génoch možno charakterizovať ako zmenu DNA, ktorá spôsobí tvorbu zmeneného alebo nefunkčného proteínu, ktorý následne nie je schopný plniť svoju funkciu. Gény, ktoré sú asociované s hereditárnymi onkologickými syndrómami, väčšinou tvoria proteíny, ktoré sa zúčastňujú na DNA reparačných (opravných) procesoch v bunkách, prípadne tvoria bunkové receptory, ktoré prenášajú signál do jadra bunky. Vzhľadom na fakt, že sa zúčastňujú na základných procesoch v bunke, ich nedostatočná funkcia má pre bunku fatálne následky.

Dedičné nádorové syndrómy môžu byť spôsobené zárodočnými mutáciami v 1.) onkogénoch, 2.) tumor-supresorových génoch a 3.) mutátorových génoch. Z pohľadu vzniku nádoru je hlavný rozdiel medzi onkogénmi a skupinou tumor-supresorových génov a mutátorových génov v počte inaktivovaných (vyradených) alel potrebných na vznik nádoru. Platí, že ak jedinec zdedil zárodočnú mutáciu v onkogéne, na vznik nádoru stačí jedna nefunkčná alela (napríklad mnohopočetná endokrinná neoplázia typu 2 a gén *RET*). Pri tumor-supresorových génoch a mutátorových génoch je situácia odlišná. Na vznik nádoru musí u jedinca so zárodočnou mutáciou dôjsť k vyradeniu (inaktivácii) aj druhej funkčnej alely príslušného génu (napríklad hereditárny karcinóm prsníka a ovárií a gény *BRCA1/2*, hereditárny nepolypózny karcinóm kolorekta a gény *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*).

### Význam a úloha genetickej ambulancie

V prípade, ak lekár prvého kontaktu alebo lekár špecialista (gynekológ, mamológ, gastroenterológ, chirurg, atď.) zaznamená v ambulancii pacienta s viacnásobným výskytom nádorových ochorení v rodine alebo viacná-

**Tabuľka 1.** Príklady hereditárných nádorových syndrémov s asociovanými génmi

Hereditárny syndróm	Skratka	Asociovaný gén/gény	Typické nádory
Hereditárny karcinóm prsníka a ovárií	HBOC	<i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i>	karcinóm: prsníka, ovárií, prostaty, nádor prsníka u muža
Hereditárny nepolypózny karcinóm kolorekta (Lynchov syndróm)	HNPCC (LS)	<i>MLH1</i> , <i>MSH2</i> , <i>MSH6</i> , <i>PMS2</i>	karcinóm: hrubého čreva, žalúdka, maternice, močových ciest, atď
Hereditárny difúzny karcinóm žalúdka	HDGC	<i>CDH1</i>	karcinóm: žalúdka, hrubého čreva, lobulárny karcinóm prsníka
Mnohopočetná endokrinná neoplázia typu 2	MEN2	<i>RET</i>	Medulárny karcinóm štítnej žľazy, feochromocytóm
Familiárna adenomatózna polypóza	FAP	<i>APC</i>	Polypy a karcinómy hrubého čreva, polypy žalúdka, dezmoidy
Malígný melanóm	MM	<i>CDKN2A</i>	Malígný melanóm, karcinóm pankreasu

**Tabuľka 2.** Indikačné kritériá na molekulárno-genetické testovanie pri suspektom hereditárnom karcinóme prsníka a ovárií

#### Do testovania sa zaraďuje jedinec s verifikovaným karcinómom prsníka a/alebo ovárií, ak spĺňa aspoň jedno z uvedených kritérií a pochádza z rodiny, kde sa vyskytujú:

- traja a viac príbuzných s karcinómom prsníka a/alebo ovárií v jednej príbuzenskej línii (bilaterálny karcinóm je považovaný za dva prípady)
- dvaja príbuzní prvého stupňa (v otcovskej línii aj II. stupňa) s karcinómom prsníka a/alebo ovárií, a ak aspoň u jedného bol diagnostikovaný do dovŕšenia 50. roku veku
- jeden príbuzný s karcinómom prsníka a/alebo ovárií a ďalší príbuzný I. stupňa s HBOC asociovaným tumorom (karcinóm hrubého čreva a konečníka, pankreasu, prostaty, maternice, malígný melanóm), pričom aspoň jeden bol diagnostikovaný do dovŕšenia 50. roku veku

#### Do DNA testovania sa zaraďujú jedinci s verifikovaným karcinómom prsníka a/alebo ovárií bez rodinnej anamnézy, ak spĺňajú aspoň jedno z uvedených kritérií a bol u nich zistený:

- obojstranný karcinóm prsníka a/alebo ovárií alebo ich kombinácia, prvé ochorenie do dovŕšenia 50. roku veku
- karcinóm prsníka a/alebo ovárií do dovŕšenia 40. roku veku
- medulárny a atypický medulárny karcinóm prsníka do dovŕšenia 50. roku veku
- karcinóm prsníka s triple negatívnou [negatívnosť receptorov ER, PR a HER2] do dovŕšenia 50. roku veku
- karcinóm prsníka u muža

#### Do DNA testovania sa zaraďujú asymptomatickí jedinci, ak pochádzajú z rodiny:

- s viacnásobným výskytom karcinómu prsníka (Clausove riziko nad 25 %)
- s I-stupňovou príbuznou s duplexným výskytom karcinómu prsníka a/alebo ovárií
- s dvomi príbuznými I. stupňa (v paternálnej línii) aj II. stupňa s karcinómom ovárií
- otec, brat alebo ďalší príbuzný I. či II. stupňa má karcinóm prsníka a zároveň ak v rodine nie je možné vyšetriť postihnutého člena (t. j. buď je mŕtvy, alebo nedostupný)

sobným výskytom nádorov u pacienta a tieto ochorenia sú diagnostikované v mladom veku (pod 50 rokov), je vhodné uvedeného pacienta odporučiť ku klinickému genetikovi na genetickú konzultáciu. Klinický genetik v ambulancii zhodnotí osobnú a rodinnú anamnézu a zväži, o ktorý hereditárny onkologický syndróm sa pravdepodobne ide. Dôležitý fakt je, že podľa aktuálnych poznatkov nie je u každého nádorového ochorenia známy gén, ktorý sa spája s jeho predispozíciou. V prípade ak je známy gén asociovaný s predispozíciou k určitému typu nádorového ochorenia (tabuľka 1) a zároveň pacient spĺňa medzinárodné indikačné kritériá (tabuľka 2, tabuľka 3, tabuľka 4, tabuľka 5, tabuľka 6), klinický genetik žiada molekulárne vyšetrenie DNA príslušného génu. Dôležitou skutočnosťou genetickej konzultácie je podpis

**Tabuľka 3.** Indikačné kritériá na molekulárno-genetické testovanie pri suspektom Lynchovom syndróme

#### Na molekulárno-genetické testovanie génov *MLH1*, *MSH2* a *MSH6* sú zaradení:

- pacienti s potvrdenou MSI (MSI-H a MSI-L) alebo imunohistochemicky identifikovanou stratou expresie niektorého z MMR proteínov
- pacienti spĺňajúci tzv. Amsterdamské kritériá I a II (ACI, ACII), alebo Bethesda kritériá (BG) a revidované Bethesda kritériá (RBG)
- asymptomatickí jedinci z rodiny, v ktorej nie je možné vyšetriť postihnutého člena (je mŕtvy, nedostupný), pričom rodina spĺňa ACII (tzv. 3-2-1 kritériá)

informovaného súhlasu pacienta s vyšetrením po dôkladnej informácii o všetkých klinických aspektoch vyšetrenia a možných výsledkoch laboratórných testov. Nasleduje samotná molekulárna DNA analýza v genetickom laboratóriu.

**Tabuľka 4.** Medzinárodné klinické kritériá na testovanie pacientov so suspektným Lynchovým syndrómom

Názov	Kritériá
<b>Amsterdamské kritériá I (AC I)</b>	Najmenej traja príbuzní s kolorektálnym karcinómom, pričom všetky tieto kritériá musia byť splnené: <ul style="list-style-type: none"> <li>■ jeden z nich je prvostupňový príbuzný ostatných dvoch</li> <li>■ sú postihnutí najmenej dve po sebe idúce generácie</li> <li>■ minimálne jedna postihnutá osoba má menej ako 50 rokov</li> <li>■ musí byť vylúčená FAP</li> </ul>
<b>Amsterdamské kritériá II (AC II)</b>	Najmenej traja príbuzní s HNPCC-asociovaným nádorom (črevo, endometrium, tenké črevo, močovod, obličky) Musia byť splnené všetky Amsterdamské kritériá I <ul style="list-style-type: none"> <li>■ pacienti s nádormi z rodiny, ktorá spĺňa Amsterdamské kritériá</li> <li>■ pacienti s dvoma HNPCC-asociovanými nádormi, zahrnujúce synchronne aj metachronne kolorektálne tumory alebo asociované extrakolonické nádory (v endometriu, vaječníkoch, žalúdku, hepatobiliárnom systéme, tenkom čreve alebo karcinóm obličkovej panvičky z prechodného epitelu, resp. močovodu)</li> <li>■ pacienti s kolorektálnym nádorom, ktorí majú prvostupňového príbuzného s kolorektálnym nádorom a/alebo s HNPCC-asociovaným extrakolonickým nádorom a/alebo s kolorektálnym adenómom; jeden z nádorov je diagnostikovaný vo veku &lt; 45 rokov a adenóm diagnostikovaný vo veku &lt; 40 rokov</li> <li>■ pacienti s kolorektálnym alebo endometriálnym nádorom diagnostikovaným vo veku &lt; 45 rokov</li> <li>■ pacienti s pravostranným kolorektálnym karcinómom s nediferencovaným histopatologickým vzorom (solídny/kribriformný), ktorý je diagnostikovaný vo veku &lt; 45 rokov</li> <li>■ pacienti s kolorektálnym karcinómom s prstencovitými bunkami, ktorý je diagnostikovaný vo veku &lt; 45 rokov (&gt; 50 % prstencovitých buniek)</li> <li>■ pacienti s kolorektálnymi adenómami, ktoré sú diagnostikované vo veku &lt; 40 rokov</li> </ul>
<b>Bethesda kritériá (BG)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ pacient má menej ako 50 rokov</li> <li>■ pacient má viaceré synchronne alebo metachronne HNPCC-asociované tumory</li> <li>■ pacient má menej ako 60 rokov a má kolorektálny nádor s mikroskopickými charakteristikami nádorov s mikrosatelitovou instabilitou (MSI)</li> <li>■ pacient má jedného alebo viacerých prvostupňových príbuzných vo veku ≤ 50 rokov s HNPCC-asociovanými tumormi</li> <li>■ pacient má dvoch alebo viac prvostupňových alebo druhostupňových príbuzných, ktorí mali HNPCC-asociovaný tumor v akomkoľvek veku</li> </ul>
<b>Revidované Bethesda kritériá (RBG)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ pacient má menej ako 50 rokov</li> <li>■ pacient má viaceré synchronne alebo metachronne HNPCC-asociované tumory</li> <li>■ pacient má menej ako 60 rokov a má kolorektálny nádor s mikroskopickými charakteristikami nádorov s mikrosatelitovou instabilitou (MSI)</li> <li>■ pacient má jedného alebo viacerých prvostupňových príbuzných vo veku ≤ 50 rokov s HNPCC-asociovanými tumormi</li> <li>■ pacient má dvoch alebo viac prvostupňových alebo druhostupňových príbuzných, ktorí mali HNPCC-asociovaný tumor v akomkoľvek veku</li> </ul>

Po ukončení analýzy DNA je pacient opäť pozvaný na konzultáciu ku klinickému genetikovi, a tu sa mu interpretuje výsledok molekulárnej analýzy.

V rodinách, v ktorých sa identifikuje zárodočná mutácia u jedného člena rodiny (spravidla už postihnutého nádorovým ochorením), je možné vykonávať cieleň hľadanie tej istej mutácie aj u ostatných príbuzných (väčšinou asymptomatickí jedinci). Jedinci, u ktorých sa zistí zárodočná mutácia, sú zaradení do preventívneho programu včasného záchytu (skriningu) potenciálneho nádoru, ktorý absolvujú v odporučených časových intervaloch na príslušných zdravotníckych pracoviskách. Známý fakt je, že nie všetci jedinci s mutáciou musia aj ochoreť na nádorové ochorenie (ide o penetranciu nádorového ochorenia). Na druhej strane členovia rodiny, ktorí nie sú nositeľmi mutácie, sa nemusia zúčastňovať na takýchto špeciálnych skriningových vyšetreniach a nie sú vystavení strachu z nádorového ochorenia (1, 2, 3, 4). Netreba zabúdať, že aj keď nezdedili predispozíciu k nádorovému ochoreniu, stále

majú riziko vzniku sporadických typov nádorových ochorení minimálne vo výške rizika bežnej populácie. Úlohou klinického genetika je v spolupráci s odbornými lekármi, ktorí sa starajú o pacientov s predispozíciou k nádorovým ochoreniam, navrhnúť program preventívnych prehliadok.

Vo väčšine prípadov (70 – 80 %) sa u pacienta nezistí zárodočná mutácia vo vyšetrovaných génoch. Práve v prípadoch rodín s viacnásobným výskytom nádorov v rodine diagnostikovaných v nižšom veku stojí pred nami otázka, ako sa postaviť k interpretácii úlohy iných génov na vznik daného nádorového ochorenia, významu DNA polymorfizmov v rôznych génoch, citlivosti používaných metód a epigenetických vplyvov. Podľa aktuálnych odporúčaní je aj pacientom bez zistenej zárodočnej mutácie z rodín s viacnásobným výskytom nádorov navrhnutý program preventívnych vyšetrení, ktorý zohľadňuje spektrum nádorov v osobnej aj rodinnej anamnéze. Netreba zabúdať, že rozvoj metód sekvenovania novej generácie, ktoré ponúka sekvenovanie širokého spektra panelov génov u jedného pa-

**Tabuľka 5.** Indikačné kritériá na molekulárno-genetické testovanie pri suspektnom hereditárnom difúznom karcinóme žalúdka

**Do testovanie sa zaraďuje jedinec s verifikovaným karcinómom žalúdka, ak spĺňa aspoň jedno z uvedených kritérií a pochádza z rodiny, kde sa vyskytujú:**

- traja I- alebo II-stupňoví príbuzní s ca žalúdka, aspoň jeden difúzny typ ca bez ohľadu na vek
- dvaja I- alebo II-stupňoví príbuzní s ca žalúdka, aspoň jeden difúzny typ ca do 50 rokov
- sporadický výskyt difúzneho ca žalúdka pod 40 rokov
- duplex difúzneho ca žalúdka a lobulárneho ca prsníka, aspoň jeden ca diagnostikovaný do 50 rokov
- sporadický prípad difúzneho ca žalúdka alebo duplexného ca kolonu a histologicky dokázanými bunkami pečatného prsteňa
- mnohopočetný lobulárny ca prsníka u jednej pacientky vo veku do 50 rokov

**Tabuľka 6.** Indikačné kritériá na molekulárno-genetické testovanie pri suspektnéj mnohopočetnej endokrinnéj neoplázii typu 2

**Do testovanie sa zaraďuje jedinec postihnutý:**

- medulárnym karcinómom štítnej žľazy
- bilaterálnym alebo multifokálnym feochromocytómom

cienta, možno prinesie v budúcnosti odpoveď aspoň pre niektoré rodiny so silnou rodinnou anamnézou, ktoré dnes ostávajú z hľadiska genetickej predispozície k nádorovému ochoreniu nedoriešené. Zohľadnenie všetkých týchto otázok pravdepodobne v budúcnosti prinesie ďalšie odpovede pre lekárov aj pre samotného pacienta.

## Molekulárno-genetická analýza zárodočných mutácií

V minulosti molekulárno-genetická analýza génov a mutácií prebiehala predovšetkým na výskumných pracoviskách, avšak pokrok a automatizácia v technikách molekulárnej biológie viedli k presunu týchto metód na klinické pracoviská do nemocníc, kde uvedenú analýzu vykonávajú špecialisti – molekulárni biológovia, respektíve laboratórni diagnostici.

Optimálne riešenie je, ak molekulárno-genetická analýza mutácií sa začína od pacienta, ktorý je postihnutý nádorovým ochorením. Z periférnej krvi pacienta sa vyizoluje DNA a cieľové úseky sa amplifikujú (namnožia) pomocou metódy PCR. Na vyhľadávanie zárodočných mutácií je najvhodnejšie použiť sekvenčnú analýzu, ktorá sa vykonáva na genetickom analyzátoře (sekvenátore). Pomocou uvedenej metódy je možné presne určiť poradie nukleotidov v DNA v sledovanom úseku. Príklad zárodočnej mutácie je na obrázku 2.

## Hereditárny karcinóm prsníka a vaječníkov

Incidenca výskytu karcinómu prsníka celosvetovo vzrastá a vo väčšine krajín ide o najčastejšiu malignitu u žien. Priemerné riziko vzniku karcinómu prsníka v bežnej populácii je okolo 8 – 12 %, riziko vzniku karcinómu ovárií je 2 – 5 %.

Hereditárny karcinóm prsníka a ovárií (HBOC) patrí medzi autozomálne dominantné dedičné ochorenie s predispozíciou na vznik karcinómu prsníka a ovárií, prípadne nádorov prsníka u muža či asociovaných nádorov: prostaty, pankreasu, gastrointestinálneho traktu a melanómov. Podľa aktuálnych vedomostí približne 5 – 10 % nádorov zo všetkých karcinómov prsníka a ovárií možno pripísať dedičnej forme (1).

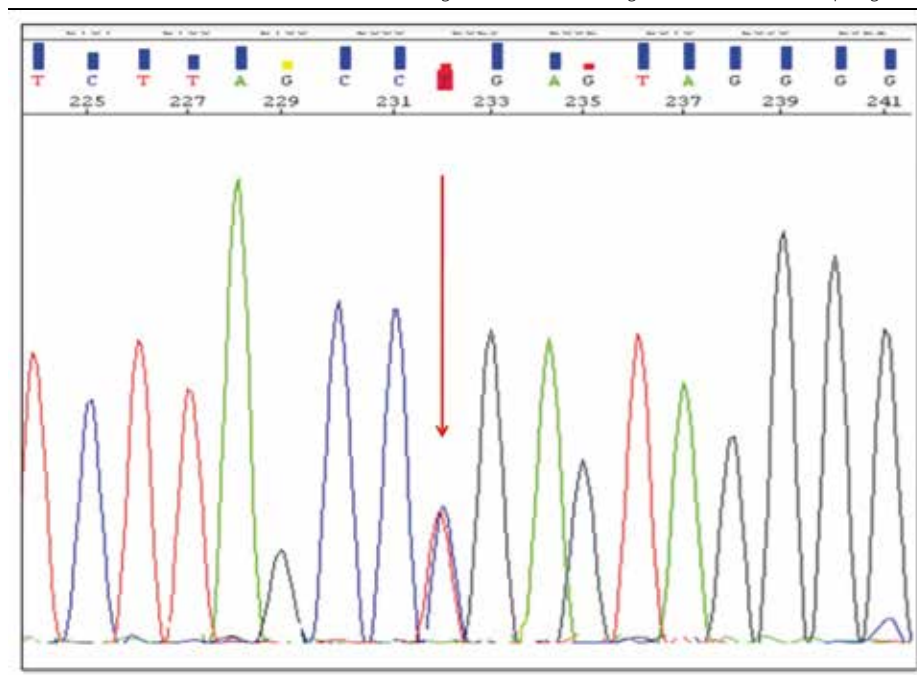
Spôčiatku sa predpokladalo, že hereditárny karcinóm prsníka a ovárií je spôsobený zárodočnými mutáciami iba v génoch *BRCA1* a *BRCA2*. Novšie štúdie poukazujú na úlohu ďalších asociovaných génov, ako sú: *TP53*, *CDH1*, *PTEN*, *STK11*, *RAD51*, *ATM*, *CHEK2*, *BRIP1* pri vzniku karcinómu prsníka (5). Jedinci s patologickou mutáciou v niektorom z asociovaných génov majú zvýšené riziko vzniku karcinómu prsníka na 65 – 80 % a karcinómu ovárií na 30 – 40 %.

Úlohou tumor supresorových génov *BRCA1* a *BRCA2* je udržiavať stabilitu genómu prostredníctvom ich účasti v procesoch DNA opravy a signalizácie porúch DNA. Proteíny *BRCA1* a *BRCA2* sa zúčastňujú na oprave dvojlákových zlomov pomocou homologickej rekombinácie, kontrole bunkového cyklu, značení proteínov pre degradáciu ako aj transkripcii DNA. Deficiencia *BRCA1/2* proteínov vedie k neschopnosti bunky opraviť dvojlákové zlomy, čo vedie k nehomologickému spájaniu voľných koncov DNA a následne k chromozomálnej instabilite (6, 7). Aj ostatné HBOC asociované gény sú zahrnuté v procesoch udržania genomickej integrity a DNA opravných procesoch.

*BRCA1/2* tumor supresorové gény sa v dôsledku zárodočnej mutácie v bunkách HBOC pacientov nachádzajú v heterozygotnom stave a na vyradenie ich funkcie je nevyhnutné, aby prišlo k znefunkčneniu aj druhej alely génu. Prioritou pre HBOC suspektnú rodinu je identifikovať kauzálnu mutáciu zodpovednú za vznik ochorenia v rodine.

V medzinárodnej databáze „Breast Cancer Information Core“ (BIC database) (22) predstavujú väčšinu doteraz identifikovaných zárodočných mutácií varianty v génoch

**Obrázok 2.** Príklad sekvenačného elektroforetogramu s mutáciou v géne *MSH2*: c.2131C>T, p.Arg711\*



*BRCA1* a *BRCA2*. To však môže byť spôsobené aj skutočnosťou, že ďalšie zo spomínaných génov sa vyšetrujú iba v niektorých laboratóriách a len posledných pár rokov. Väčšinu mutácií v génoch *BRCA1* a *BRCA2* možno zaradiť medzi substitúcie a krátke inzercia/delécie, avšak štúdie poslednej dekády poukazujú na fakt, že aj dlhé delécie v *BRCA1* géne sa významnou mierou podieľajú na vzniku nádorov prsníka a ovárií. V súčasnosti sa vo svete na detekciu zárodočných mutácií v molekulárno-genetických laboratóriách používa predovšetkým priame sekvenovanie DNA, ktoré možno označiť aj ako „zlatý štandard“ v testovaní zárodočných mutácií. Na diagnostiku dlhých delécií sa zasa používa metóda Multiplex Ligation-dependent probe amplification (MLPA), ktorá sa už stala bežnou súčasťou pri diagnostike HBOC rodín. Skúsenosti s detekciou prvých zárodočných mutácií v Slovenských HBOC suspektných rodinách boli zosumarizované v mnohých prácach (8, 9, 10, 11).

## Hereditárny nepolypózny karcinóm hrubého čreva (Lynchov syndróm)

Incidenca výskytu karcinómu kolorekta (CRC) celosvetovo vzrastá a v krajinách strednej Európy ide o najčastejšiu malignitu. Priemerné riziko vzniku karcinómu kolorekta v našej populácii je na úrovni viac ako 6 % s určitými rozdielmi medzi pohlaviami, čím sa radíme medzi päť krajín s najvyšším výskytom tohto ochorenia na svete.

Hereditárny nepolypózny karcinóm kolorekta (HNPCC, Lynchov syndróm) patrí medzi autozomálne dominantné dedičné ochorenie s predispozíciou na vznik kolorektálneho karcinómu (CRC) alebo ďalších extrakolonických nádorov (adenokarcinómy endometria, žalúdka, karcinómy vaječníkov, močového traktu, tenkého čreva, nádory mozgu a kože) a predstavuje približne 2 – 5 % zo všetkých CRC (2).

Lynchov syndróm je spôsobený zárodočnými mutáciami v génoch „mismatch“ reparačného systému (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS1*, *PMS2*, *MLH3*, *MSH3*), ktorý sa zúčastňuje na oprave chybné spárovaných báz, tzv. „mismatchov“. Podľa databázy Mismatch Repair Genes Variant Database a InSight Database väčšinu doteraz identifikovaných zárodočných mutácií (viac ako 80 % z 1 500 rôznych zmien) predstavujú mutácie v génoch *MLH1* a *MSH2*. O mutáciách v génoch *MSH6* a *PMS2* možno povedať, že boli zistené v menej ako 20 % prípadoch a úloha génov *MLH3*, *MSH3* a *PMS1* v genetickej predispozícii na vznik HNPCC je doteraz pomerne málo preštudovaná (12). Nositelia patologických mutácií v uvedených génoch majú zvýšené riziko vzniku karcinómu kolorekta (muži o 36 – 80 %, ženy o 18 – 76 %) a ďalších asociovaných nádorov ako endometria (o 20 – 60 %), ovárií, žalúdka, hepatobiliárneho traktu, tenkého čreva, karcinómu obličkovej panvičky, mozgu a kože.

Proteíny „mismatch“ reparačného systému (MMR) vo forme multiproteínových kom-



plexov rozpoznávajú a opravujú chyby (tzv. „mismatch“) vznikajúce pri replikácii DNA. Deficiencia v MMR systéme spôsobí mutátorový efekt, v ktorého dôsledku dochádza k zvyšovaniu mutácií v iných génoch celého genómu, čo následne vedie ku karcinogéze. Neschopnosť buniek odstraňovať genetické zmeny, ktoré vznikli po replikácii DNA, sa dá pozorovať najmä v mikrosatelitových repetitívnych sekvenciách DNA. Poruchy v génoch „mismatch“ reparačného systému vedú k zmenám v počte opakovaní týchto sekvencií (100 – 1 000-krát), čo sa označuje ako mikrosatelitová instabilita (MSI) (13). MSI je často sprievodným javom HNPCC asociovaných nádorov a práve z tohto dôvodu sa DNA vyšetovanie HNPCC suspektných jedincov začína skríninovým vyšetrením MSI. Ďalším krokom na selekciu jedincov, ktorí sú pravdepodobne nositeľmi zárodočnej mutácie v MMR génoch, je imunohistochemická analýza (IHC) expresie MMR proteínov. Použitím špecifických protilátok sa môže zistiť absencia expresie niektorého proteínu v tumore v porovnaní so zdravým tkanivom (13), čo indikuje prítomnosť mutácie v danom géne.

MMR gény sú mutátorové gény, ktoré sa v princípe správajú ako tumor supresorové gény. V dôsledku zárodočnej mutácie sa v bunkách HNPCC pacientov nachádzajú v heterozygotnom stave a na vyradenie ich funkcie je nevyhnutné, aby prišlo k znefunkčneniu druhej alely. Pri HNPCC suspektných rodinách je dôležité určiť kauzálnu mutáciu zodpovednú za vznik HNPCC ochorenia v rodine.

V medzinárodných databázach „InSight Database“ (23) a „Mismatch Repair Genes Variant Database“ (24) doteraz väčšinu zárodočných mutácií predstavujú podobne ako v prípade HBOC syndrómu substitúcie a krátke inzercia/delécie, ale aj veľké genómové prestavby. Z uvedených faktov vyplýva, že aj molekulárno-genetické metódy, ktoré sa používajú v diagnostike Lynchovho syndrómu, sú podobné ako pri HBOC syndróme. Skúsenosti s detekciou zárodočných mutácií v Slovenských HNPCC suspektných rodinách boli v posledom desaťročí publikované v mnohých prácach (14, 15, 16, 17).

### Hereditárny difúzny karcinóm žalúdka

V priebehu posledných 50 – 70 rokov došlo vo vyspelých a aj v rozvojových krajinách k výraznému poklesu nádorov žalúdka. Geografická distribúcia zhubných nádorov žalúdka veľmi varíuje, pričom prvé miesto a najvyššie riziko

vzniku týchto nádorov si zachováva naďalej Japonsko. Priemerné riziko vzniku karcinómu žalúdka v našej populácii je na úrovni 3 – 5 % s určitými rozdielmi medzi pohlaviami.

Hereditárny difúzny karcinóm žalúdka (HDGC) patrí medzi zriedkavé autozomálne dominantné dedičné ochorenia s predispozíciou na vznik difúzneho karcinómu žalúdka, prípadne kolorektálneho karcinómu a lobulárneho karcinómu prsníka u žien. HDGC predstavuje približne 2 % zo všetkých nádorov žalúdka (3).

Hereditárny difúzny karcinóm žalúdka je spôsobený zárodočnými mutáciami v tumor supresorovom géne *CDH1*, ktorý kóduje E-kadherín. E-kadherín je kalcium dependentný transmembránový proteín, ktorý zabezpečuje adhéziu medzi bunkami a má úlohu pri diferenciácii buniek a tvorbe tkanív. Mutácie v *CDH1* géne vedú k zníženej expresii a strate funkcie E-kadherínu, čo vedie k poruchám tvorby tkanív, strate bunkovej polarity a kontaktnej inhibície, neregulovanému rastu, invazivite buniek a tvorbe metastáz (18).

Diagnostika zárodočných mutácií v géne *CDH1* pri suspektných HDGC rodinách nie je natoľko rozšírená ako testovanie mutácií v géne *BRCA1/2*. Uvedený fakt spôsobuje, že aj evidencia *CDH1* mutácií v mutačných databázach je pomerne málo prepracovaná. Určenie kauzálnej mutácie zodpovednej za vznik ochorenia v rodine je veľmi dôležité, keďže prevencia vzniku ochorenia je nedostatočná, prognóza zlá a vhodná liečba otázná (19). Nositelia patologických mutácií v *CDH1* géne majú zvýšené riziko vzniku karcinómu žalúdka na 80 %, ženy majú 60 % riziko vzniku lobulárneho karcinómu žalúdka.

Informácie v dostupnej literatúre poukazujú, že doteraz väčšinu zárodočných mutácií v *CDH1* géne tvoria substitúcie a krátke inzercia/delécie (3). Jednou z metód, ktoré možno použiť na detekciu uvedených typov mutácií, je priame sekvenovanie DNA.

### Mnohopočetná endokrinná neoplázia typu 2

Mnohopočetná endokrinná neoplázia typu II (MEN2) je zriedkavé nádorové ochorenie sprevádzané výskytom medulárneho karcinómu štítnej žľazy, unilaterálneho a bilaterálneho feochromocytómu (PHEO) a ďalších hyperplázií alebo neoplázií rôznych endokrinných tkanív. Rozoznávame sporadickú a familiárnu formu uvedeného syndrómu. Syndróm MEN2 zahŕňa tri podtypy: MEN2A, MEN2B

a familiárny medulárny karcinóm štítnej žľazy (FMTC), pričom dedičnosť MEN2 syndrómu je autozomálne dominantná (4).

MEN2 syndróm je spôsobený aktivačnými zárodočnými mutáciami v géne *RET*, ktorý kóduje transmembránový tyrozínkinázový receptor RET s kľúčovou úlohou v regulácii bunkovej proliferácie, migrácie, diferenciácie a embryogenéze. Mutácie lokalizované v tej časti génu, ktorá tvorí extracelulárnu časť proteínu RET (exón 10 a 11) umožňujú dimerizáciu receptora aj bez väzby ligandu, pričom dochádza k trvalej aktivácii tyrozínkinázy (trvalá aktivácia receptora). Ak sú mutácie lokalizované v tyrozínkinázovej doméne receptora (najmä exón 15 a 16), indukuje sa fosforylácia alternatívnych substrátov. Možno konštatovať, že zárodočná mutácia v géne *RET* vedie k trvalej aktivácii receptora, čo spôsobí hyperpláziu C-buniek a následne ich malignu transformáciu. Jedinci so zárodočnou mutáciou v géne *RET* majú takmer 100 % riziko, že počas života sa u nich vyvinie medulárny karcinóm štítnej žľazy. Na základe podrobného sledovania *fenotypovo-genotypových korelácií* sa určili rôzne skupiny závažnosti mutácií vo vzťahu k vzniku karcinómu. Na podklade uvedených zistení sa vypracovali odporúčania, ako čo najvhodnejšie načasovať tyreoidektómiu pacientov s presne identifikovanou mutáciou v géne *RET* (4, 20).

Doterajšie štúdie a databázy („ARUP Database“ (25) ) uvádzajú, že takmer 98 % pacientov s MEN2 je nositeľom zárodočnej mutácie v géne *RET*, pričom mutácie sú lokalizované preferenčne v exónoch: 8, 10, 11, 13, 14, 15, 16. Práve z tohto dôvodu je DNA testovanie zárodočných mutácií zamerané na uvedené exóny. Vzhľadom na to, že väčšinu mutácií tvoria substitúcie, prípadne krátke inzercia/delécie, v súčasnosti sa vo svete na detekciu zárodočných mutácií v molekulárno-genetických laboratóriách používa predovšetkým priame sekvenovanie DNA. Prvé skúsenosti s detekciou zárodočných mutácií na Slovensku boli zhrnuté v práci Poturnajova et al. (21).

### Záver

Molekulárno-genetická DNA diagnostika dedičných nádorových syndrómov sa v posledných dvoch desaťročiach výrazne posunula dopredu, z čoho profituje nielen samotný pacient, ale predovšetkým jeho asymptomatickí príbuzní so zdedenou mutáciou, ktorým sú ponúknuté špeciálne preventívne programy zamerané na včasný záchyt nádorov.

## Literatúra

1. Larsen MJ, Thomassen M, Gerdes AM, et al. Hereditary breast cancer: Clinical, pathological and molecular characteristics. *Breast Cancer. Basic and Clinical Research*. 2014;8:145–155.
2. Cohen SA, Leininger A. The genetic basis of Lynch syndrome and its implication for clinical practice and risk management. *The Application of Clinical Genetics*. 2014;7:147–158.
3. Corso G, Marrelli D, Pascale V, et al. Frequency of CDH1 germline mutations in gastric carcinoma coming from high- and low-risk areas: metanalysis and systematic review of the literature. *BMC Cancer*. 2012;12:8.
4. Machens A, Dralle H. genotype-phenotype based surgical concept of hereditary medullary thyroid carcinoma. *World Journal of Surgery*. 2007;31:957–968.
5. Vargas AC, Reis-Filho JS, Lakhani SR. Phenotype-genotype correlation in familial breast cancer. *Journal of Mammary Gland Bio Neoplasia*. 2011;16(1):27–40.
6. Yuan S-SF, Lee S-Y, Chen G, et al. BRCA2 is required for ionizing radiation-induced assembly of Rad51 complex in vivo. *Cancer Research*. 1999;159(15):3547–3551.
7. Zhong Q, Chen CF, Li S, et al. Association of BRCA1 with the hRad50-hMre11-p95 complex and the DNA damage response. *Science*. 1999;285(5428):747–750.
8. Ciernikova S, Tomka M, Kovac M, et al. Ashkenazi founder BRCA1/BRCA2 mutations in Slovak hereditary breast and/or ovarian cancer families. *Neoplasma*. 2006; 53(2):97–102.
9. Konecny M, Vizvaryova M, Weismanova E, et al. The spectrum and incidence of BRCA1 pathogenic mutations in Slovak breast/ovarian cancer families. *Neoplasma*. 2007;54(2):137–42.
10. Konecny M, Vizvaryova M, Zavodna K, et al. Identification of novel mutations BRCA1\*c.80 + 3del4 and BRCA2\*c.6589delA in Slovak HBOC families. *Breast Cancer Research Treatment*. 2010;119(1):233–237.
11. Konecny M, Milly M, Zavodna K, et al. Comprehensive genetic characterization of hereditary breast/ovarian cancer families from Slovakia. *Breast Cancer Research Treatment*. 2011;126(1):119–130.
12. Peltomäki P, Vasen H. Mutation associated with HNPCC predisposition – Update of ICG-HNPCC/INSight mutation database. *Dis Markers*. 2004;20(4-5):269–276.
13. Geiersbach KB, Samowitz MD. Microsatellite Instability and Colorectal Cancer. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. 2011;135:1269–1277.
14. Bartsova Z, Fridrichova I, Bujalkova M, et al. Novel MLH1 and MSH2 germline mutations in the first HNPCC families identified in Slovakia. *Human Mutation*. 2003;21(4):449.
15. Zavodna K, Bujalkova M, Krivulcik T, et al. Novel and recurrent germline alterations in the MLH1 and MSH2 genes identified in hereditary nonpolyposis colorectal cancer patients in Slovakia. *Neoplasma*. 2006;53(4):269–276.
16. Bujalkova M, Zavodna K, Krivulcik T, et al., Multiplex SNaPshot genotyping for detecting loss of heterozygosity in the mismatch-repair genes MLH1 and MSH2 in microsatellite-unstable tumors. *Clinical Chemistry*. 2008;54(11):1844–1854.
17. Zavodna K, Krivulcik T, Bujalkova M, et al. Partial loss of heterozygosity events at the mutated gene in tumors from MLH1/MSH2 large genomic rearrangement carriers. *BMC Cancer*. 2009;9:405.
18. Graziano F, Humar B, Guilford P, et al. The role of the E-cadherin gene (CDH1) in diffuse gastric cancer susceptibility: from the laboratory to clinical practice. *Annals of Oncology*. 2003;14:1705–1713.
19. Onitilo AA, Aryal G, Engel JM. Hereditary Diffuse gastric Cancer: A Family Diagnosis and Treatment. *Clinical medicine & Research*. 2013;1:36–41.
20. De Groot, JWB, Links TP, Plukker JTM, et al. RET as a Diagnostic therapeutic Target in Sporadic and hereditary Endocrine Tumors. *Endocrine Reviews*. 2006. 27(5):535–560.
21. Poturnajova M, Altanerova V, Kostalova L, et al. Novel germline mutation in the transmembrane region of RET gene close to Cys634Ser mutation associated with MEN2A syndrome. *Journal Molecular Medicine*. 2005; 83(4):287–295.
22. Breast Cancer Information Core (BIC Database): Available from: <http://research.nhgri.nih.gov/bic/>. Accessed February 27, 2015.
23. InSight database: Available from: <http://insight-group.org/variants/database/> Accessed February 27, 2015.
24. Mismatch Repair Genes variant Database: <http://www.med.mun.ca/MMRvariants/>. Accessed February 27, 2015.
25. ARUP Database: <www.arup.utah.edu/database/men2/MEN2\_display.php>. Accessed February 27, 2015.

### RNDr. Katarína Závodná, PhD.

Oddelenie lekárskej genetiky  
Onkologický ústav sv. Alžbety  
Heydukova 10, Bratislava  
katarina.zavodna@ousa.sk

